

ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-12-27-31

РОЛЬ УРСОСАНА И РЕМАКСОЛА В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ГЕПАТОЦИТОВ, ИНДУЦИРОВАННОГО ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ ПЕРВОГО РЯДА

Е. Д. Бажанова^{1, 3, 4}, Д. С. Суханов², Д. Л. Теплый³

Изучен механизм апоптоза гепатоцитов на модели экспериментального поражения печени противотуберкулезными препаратами (ПТП) 1 ряда и возможности гепатопротектора урсосана предупреждать апоптоз гепатоцитов, в сравнении с ремаксолом, у крыс. Определяли уровень апоптоза (TUNEL), экспрессию белков апоптоза (иммуногистохимия, Western blotting). Противотуберкулезные препараты вызывали токсическую гепатодистрофию с очагами некроза и высоким уровнем апоптоза гепатоцитов (увеличение в среднем на 566 %, $p \leq 0,05$) с характерной динамикой маркеров апоптоза. Ремаксол предупреждал развитие дистрофии, нормализуя микроструктурное состояние гепатоцитов, что выявлено при морфологической оценке действия препаратов, хотя уровень апоптоза при его введении одновременно с противотуберкулезными средствами повышается в среднем на 57,14 %, $p \leq 0,05$, по сравнению с уровнем апоптоза гепатоцитов крыс, получавших только химиотерапевтические средства. При этом сохранялась активация TNF-зависимого каскада, каспазы-3, вызванная введением ПТП (повышение уровня CD95 в среднем на 9,52 %, каспазы-3 — на 29,5 %, $p \leq 0,05$). Урсосан на модели экспериментального поражения печени обладал высокой гепатопротективной активностью, связанной со снижением уровня апоптоза гепатоцитов вследствие повышения синтеза Bcl-2, по сравнению с уровнем данного белка в гепатоцитах крыс, получавших только лекарственные средства, в среднем на 135 %, $p \leq 0,05$, и блокирования проапоптотических путей (CD95, p53).

Ключевые слова: урсосан; ремаксол; противотуберкулезные препараты; маркеры апоптоза; апоптоз; гепатоциты; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Значительное распространение в последнее время лекарственно устойчивых микобактерий туберкулеза обуславливает поиск новой терапевтической стратегии лечения туберкулеза, поскольку при долговременном применении изониазида и рифампицина в высоких дозах возрастает риск поражения печени. В доступной литературе практически нет данных по изучению эффективности каких-либо гепатопротекторов при поражении печени, связанном с применением изониазида, рифампицина и пиразинамида. Это связано с тем, что основной стратегией в настоящее время является по-

лихимиотерапия, т.е. одновременное назначение нескольких противотуберкулезных препаратов [5]. Гепатотоксичность противотуберкулезных препаратов (ПТП) связана, в первую очередь, с развитием окислительного стресса [8, 20], индуцирующего апоптоз гепатоцитов [16, 20]. Практически обязательным при лечении туберкулеза является назначение гепатопротекторов [7].

Одним из препаратов, широко используемых в клинической практике с этой целью, является препарат урсодезоксихолевой кислоты — урсосан. Урсосан применяется как средство патогенетической терапии при гепатитах различной этиологии, циррозе, токсических поражениях, первичном билиарном циррозе и гепатоцеллюлярной карциноме [11]. Механизм действия препарата основан на том, что урсодезоксихолевая кислота, относящаяся к классу шаперонов [14], встраивается в мембрану гепатоцита, холангиоцита и эпителиоцита желудочно-кишечного тракта, стабилизирует ее структуру и защищает клетку от повреждающего действия солей токсичных желчных кислот, снижая их цитотоксический эффект [3]. К гепатопротекторам относится и ремаксол, являющийся сукцинатсодержа-

¹ ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова Российской академии наук» Санкт-Петербург, Россия, 194223, пр. Тореза, 44.

² Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14.

³ Астраханский государственный университет, Россия, 414040, Астрахань, ул. Татищева, 20а.

⁴ ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», Россия, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1.

ским препаратом, он способствует увеличению синтеза макроэргов, повышает устойчивость мембран гепатоцитов к перекисному окислению липидов, восстанавливается активность ферментов антиоксидантной защиты [3].

Последними исследованиями на культуре клеток гепатоцитов показано влияние урсодезоксихолевой кислоты на экспрессию генов, регулирующих апоптоз и окислительный стресс [11]. Однако до сих пор практически нет работ, показывающих тонкие механизмы развития апоптоза гепатоцитов при гепатотоксичности, вызванной приемом ПТП, в том числе изменения экспрессии наиболее характерных маркеров апоптоза — онкосупрессора p53, члена семейства рецепторов TNF (tumor necrosis factor, фактор некроза опухоли) CD95, каспазы-8 и эффекторной каспазы-3, а также антиапоптотических белков Mcl-1 и Bcl-2. Кроме того, не исследована роль данных гепатопротекторов в регуляции апоптоза гепатоцитов *in vivo* при различных патологических состояниях. В связи с этим целью работы было изучение механизма апоптоза гепатоцитов на модели 14-дневного экспериментального поражения печени ПТП 1 ряда у крыс, а также эффекта урсосана на апоптоз гепатоцитов, в сравнении с ремаксолом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на 22 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г (питомник Рапполово, Санкт-Петербург). Поражение печени моделировали по методике Ю. И. Сливки введением крысам ПТП в течение 14 сут в следующих дозах: изониазид 50 мг/кг подкожно (ПАО “Биосинтез”, Россия) + рифампицин 250 мг/кг внутривентрикулярно (ОАО “Фармасинтез”, Россия) + пиперазинид 45 мг/кг внутривентрикулярно (ОАО “Фармасинтез”, Россия) [6]. Препараты в данных дозах используются для создания стандартной модели поражения печени [6, 7]. В качестве гепатопротекторов оценивали урсосан (капсулы PRO. MED. CS Praha a.s., Чехия) в сравнении с ремаксолом (раствор для инфузий производства ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”), которые вводили ежедневно 1 раз в сутки в течение 14 дней за 1,5 ч до введения ПТП. Крысы были разделены на группы по 5–6 животных: 1 группа — интактные крысы — контроль; 2 группа — крысы, получавшие ПТП; 3 группа — крысы, получавшие ПТП + ремаксол раствор внутривентрикулярно 25 мл/кг; 4 группа — крысы, получавшие ПТП + урсосан внутривентрикулярно 100 мг/кг. Применяемые дозы сопоставимы с дозами, в которых ПТП применяют в терапевтической практике. В конце эксперимента под золетиловым наркозом (золетил 4 мг/кг) крыс декапитировали. Эксперименты были проведены в соответствии с правилами обращения с животными (протокол заседания № 8 комиссии по биоэтике от 11.02.2014, утвержденной Приказом Директора ИЭФБ РАН № 375-к-а от 10.12.2010). Материал для исследования (печень) после фиксации в 4% формалине замораживали для по-

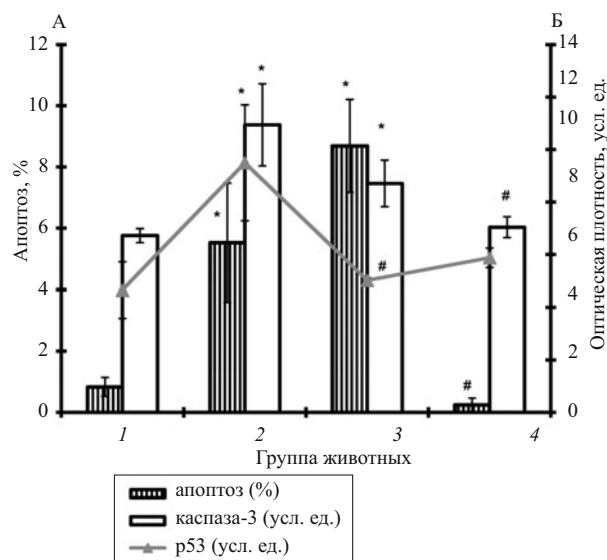


Рис. 1. Влияние ПТП (ежедневно 1 раз в сутки в течение 14 дней): изониазид 50 мг/кг подкожно + рифампицин 250 мг/кг внутривентрикулярно + пиперазинид 45 мг/кг внутривентрикулярно; ремаксол (ежедневно 1 раз в сутки внутривентрикулярно) 25 мл/кг в течение 14 дней за 1,5 ч до введения ПТП) и урсосан (ежедневно 1 раз в сутки внутривентрикулярно 100 мг/кг в течение 14 дней за 1,5 ч до введения ПТП), на уровень апоптоза гепатоцитов и на количество p53- и каспазы-3-иммунореактивного материала в гепатоцитах крыс исследуемых групп после окончания применения препаратов. По оси ординат А — уровень апоптоза (%), по оси ординат Б — количество каспазы-3- и p53-иммунореактивного материала, усл. ед., по оси абсцисс — группа животных.

Здесь и на рис. 2, 3: * $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой животных, # в сравнении с группой животных, получавших ПТП 1 ряда. Группы животных: 1 — контроль; 2 — крысы, получавшие ПТП; 3 — крысы, получавшие ПТП и ремаксол; 4 — крысы, получавшие ПТП и

лучения криостатных срезов (6 мкм) (Криостат Leica CM1900, Германия).

Оценивали уровень апоптоза гепатоцитов (TUNEL, нерадиоактивное мечение биотином, выявление диаминобензидином) с использованием терминальной дезоксирибонуклеотидил-трансферазы для выявления разрывов ДНК (Sileks, Россия) [15]. Для определения в гепатоцитах экспрессии CD95 на срезах печени проводили иммуногистохимические (ИГХ) реакции с использованием немеченных антител (Abcam) с последующей денситометрией (VideoTest) [18].

Изображения срезов печени после выполнения ИГХ реакций и TUNEL были получены с помощью микроскопа PFM (WPI, США) и цветных видеокамер DIC-E (WPI, США) и Leica DFC 300 FX (Германия) с разрешением 1392 × 1040 пикселей (увеличение ×40). Для оценки интенсивности экспрессии изучаемого белка и уровня апоптоза использовали программу VideoTest Software. Количество апоптотических клеток (TUNEL-позитивных гепатоцитов, абсолютные значения, т.е. количество темноокрашенных апоптотических клеток, взятое как среднее на 1 срез) подсчитывали на 4–5 срезах печени у каждой крысы с последующим определением среднего количества

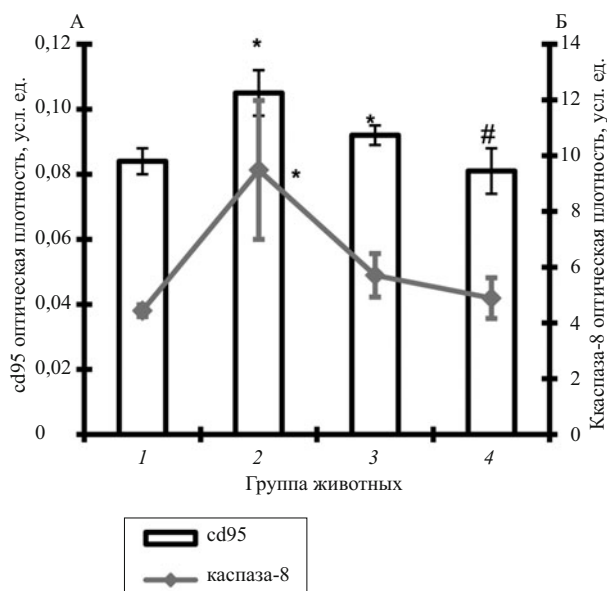


Рис. 2. Влияние ПТП, ремаксола и урсосана на количество CD95 (FAS)- и каспаза-8-иммунореактивного материала в гепатоцитах крыс исследуемых групп. По оси ординат А — количество cd95-иммунореактивного материала, усл. ед.; по оси ординат Б — количество каспаза-8-иммунореактивного материала, усл. ед.; по оси абсцисс — группа животных.

TUNEL-позитивных гепатоцитов на группу с помощью светового микроскопа (20X) (Zeiss Axiolab, Carl Zeiss Inc., Германия). Оптическую плотность иммунореактивного вещества в CD95-иммунореактивных клетках определяли на 5 – 6 срезах печени для каждого животного. На основании этого рассчитывали среднюю оптическую плотность (в относительных единицах, представляющих отношение яркости фона к яркости объекта) изучаемого белка для группы крыс.

Для определения маркеров апоптоза проводили Western blotting с немечеными антителами к каспазе-8, -3, p53 (Cell Signaling), Bcl-2, Mcl-1 (Abcam), в качестве контроля количества белка сделан Western blotting с антителами к GAPDH (Abcam). Оптическую плотность полос (Western blotting) измеряли и определяли количественно. Кроме того, срезы печени окрашивали гематоксилином и эозином для морфологического описания наблюдаемых изменений, индуцируемых патологическими процессами, и эффективности препаратов (световая микроскопия (БИОЛАМ И)).

С учетом малого количества единиц наблюдения для проверки гипотезы нормальности распределения использовали W-тест Шапиро — Уилка для малых выборок [1]. Полученные результаты обрабатывали с помощью метода ANOVA для множественного сравнения выборочных данных. При опровержении нулевой гипотезы о равенстве средних использовали попарное сравнение с помощью теста Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (Statistica 8.0).

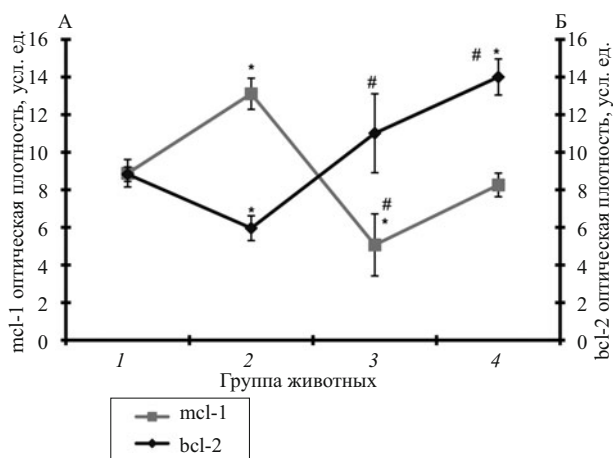


Рис. 3. Влияние ПТП, ремаксола и урсосана на количество Mcl-1- и Bcl-2-иммунореактивного материала в гепатоцитах крыс исследуемых групп. По оси ординат А — количество mcl-1-иммунореактивного материала, усл. ед.; по оси ординат Б — количество bcl-2-иммунореактивного материала, усл. ед.; по оси абсцисс — группа животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Применение ПТП 1 ряда в течение 2 недель приводит к значительным морфологическим изменениям, характеризующим тяжелое токсическое поражение печени у крыс с очагами некроза. При этом наблюдается повышение уровня апоптоза гепатоцитов (рис. 1). Как известно, основными каскадами апоптоза являются р53-зависимый и внешнерецепторный — (CD95 (TNF)-зависимый). По данным литературы, при апоптозе, индуцированном бета-адреноблокаторами (пропранолол), наблюдается активация Fas-рецепторов и каспазы-8 [13]. В наших экспериментах также показано, что апоптоз гепатоцитов при введении ПТП 1 ряда протекает с участием рецептора TNFR CD95 и инициаторной каспазы-8 (рис. 2), кроме того, индуцируется синтез проапоптотического белка р53 и каспазы-3 (рис. 1). Другими авторами также подтверждается активное участие р53 и каспаз, в том числе каспазы-3 и -9, в программированной клеточной гибели гепатоцитов [10]. В развитии апоптоза гепатоцитов играют важную роль члены семейства Bcl-2 [12]. Мы также показали снижение антиапоптотической защиты в печени при введении ПТП (уменьшение экспрессии Bcl-2), хотя синтез антиапоптотического белка Mcl-1 был повышен (рис. 3).

Ремаксол и урсосан оказывают позитивное действие на печень, предупреждая развитие дистрофии, нормализуя микроструктурное состояние, что выявлено при морфологической оценке действия препаратов. Клинические исследования, проведенные ранее другими авторами, показали выраженное улучшение, в том числе исчезновение симптомов билиарной патологии, однако не раскрыли механизм действия данных препаратов [2]. Применение урсосана в составе комбинированной терапии хронических неалкогольных заболева-

ний печени и желчевыводящих путей снижает выраженность региональной ишемии, улучшает реологические свойства крови, нормализует липидный метаболизм и уровень перекисного окисления липидов, влияет на продукцию провоспалительных цитокинов [3]. В доступной нам литературе не обнаружено данных, посвященных исследованию гепатопротекторов при монотерапии туберкулеза, очевидно, это связано с неэффективностью данной терапевтической стратегии при туберкулезе. По результатам наших экспериментов, урсосан также обладает антиапоптозным действием, применение его при введении ПТП 1 ряда возвращает уровень гибели гепатоцитов к контрольным значениям. Действующее вещество урсосана, урсодезоксихолевая кислота, снижает гепатотоксичность, индуцированную повышенным содержанием меди [14]. Подобные данные были получены на культуре клеток гепатоцитов, где урсодезоксихолевая кислота предупреждала развитие апоптоза, снижая активность каспаз-3/7, индуцированную введением различных желчных кислот или TNF-альфа [19]. Также урсосан предупреждал развитие апоптоза при неалкогольном стеатогепатите у крыс, подавляя miR-34a/sirtuin1 (SIRT1)/p53-путь [9].

С другой стороны, отдельные исследования показали апоптоз-стимулирующее действие урсосана на культуре клеток гепатоцеллюлярной карциномы. Индукция апоптоза урсосаном являлась дозо- и время-зависимой за счет регуляции отношения Bax/Bcl-2 и опосредована регуляцией экспрессии Smac, Livin, а также экспрессии и активности каспазы-3 [21]. По нашим данным, механизм действия урсосана при введении ПТП 1 ряда связан с подавлением внешнерцепторного (супрессия синтеза CD95 и каспаза-8) и p53-зависимого путей (p53, каспаза-3) апоптоза и стабилизацией системы антиапоптотической защиты (повышение экспрессии белков Bcl-2 и Mcl-1) (рис. 1 – 3). Другие авторы показали, что соединение урсодезоксихолевой кислоты с таурином оказывает антиапоптотический эффект через β 1-интегрин-опосредованное формирование цАМФ, которое предупреждает CD95 активацию гидрофобными желчными кислотами на уровне JNK-индукции и серин-треонин-фосфорилирования CD95 [17]. Возможно, этот путь задействован и в нашем эксперименте.

Ремаксол оказывал гепатопротекторное действие при применении ПТП 1 ряда, одновременно повышая уровень апоптоза гепатоцитов. Одной из возможных причин этого является подавление экспрессии антиапоптотического белка Mcl-1 (рис. 3). Индукция апоптоза гепатоцитов происходит по внешнему CD95 (TNF)-зависимому пути с активацией каспазы-3, экспрессия данных белков не отличается от таковой в группе животных, получавших только ПТП. Экспрессия p53 и каспазы-8 значительно снижается, по сравнению с уровнем данных белков в гепатоцитах крыс с экспериментальным поражением печени ПТП 1 ряда,

примерно до уровня контроля (рис. 1, 2). Поскольку процесс апоптоза протекает без воспалительных явлений, то даже некоторая стимуляция программированной клеточной гибели гепатоцитов не ухудшает состояния печени в случае, если дистрофия при приеме ПТП 1 ряда не развивается (эффект ремаксоло).

Таким образом, урсосан обладает выраженным антиапоптозным и гепатопротективным действием. Ремаксол, напротив, показал апоптозстимулирующий эффект в сочетании с гепатопротективным действием, что следует учитывать при его клиническом использовании.

ВЫВОДЫ

1. Введение крысам в течение 14 дней ПТП 1 ряда (изониазид, рифампицин, пиразинамид в дозах, соответствующих среднетерапевтическим: изониазид 50 мг/кг, подкожно, рифампицин 250 мг/кг внутривенно; пиразинамид 45 мг/кг внутривенно) приводит к тяжелому токсическому поражению печени, сопровождаемому дистрофией гепатоцитов и повышением уровня апоптоза гепатоцитов в среднем на 566 %, $p \leq 0,05$ с характерной динамикой маркеров апоптоза.

2. Уровень апоптоза гепатоцитов крыс, получавших ПТП 1 ряда и одновременно ремаксол, был достаточно высоким, при этом сохранялась активация TNF-зависимого каскада, каспазы-3, вызванная введением ПТП (повышение уровня CD95 в среднем на 9,52 %, каспаза-3 на 29,5 %, $p \leq 0,05$, по сравнению с контрольным уровнем) и снижение экспрессии антиапоптотического белка Mcl-1 (в среднем на 42,91 %, $p \leq 0,05$, по сравнению с контрольным уровнем). Однако гепатопротектор ремаксол оказывает позитивный эффект при повреждении гепатоцитов, обусловленном приемом ПТП 1 ряда, предупреждая развитие дистрофии и улучшая микроструктурное состояние печени, что показано при морфологической оценке срезов.

3. Урсосан на модели экспериментального поражения печени ПТП 1 ряда, в отличие от ремаксоло, обладал не только высокой гепатопротективной, но и антиапоптозной активностью, связанной, вероятно, с повышением антиапоптотической защиты (возрастание синтеза Bcl-2 в среднем на 135 %, $p \leq 0,05$, по сравнению с уровнем данного белка в гепатоцитах крыс, получавших только ПТП) и блокированием проапоптотических путей (CD95, p53).

Работа выполнена при поддержке Гос. задания по теме № АААА-А18-118012290371-3.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Банержи, *Медицинская статистика понятным языком: вводный курс. Практическая медицина*, Москва (2007).
2. Я. М. Вахрушев, А. Ю. Горбунов, *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.*, № 6, 7 – 10 (2013).
3. Видаль-2016, *Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России*, Видаль Рус, Москва (2016).

4. Н. В. Ефименко, А. С. Кайсинова, З. В. Мецаева и др., *Вопр. курортол., физиотер. и ЛФК*, № 1, 17 – 20 (2012).
5. О. Н. Минушкин, А. А. Фролова, Т. С. Шиндина и др., *Рус. мед. ж. "Медицинское обозрение"*, 1(1), 18 – 22 (2018).
6. Ю. И. Сливка, *Фармакол. и токсикол.*, № 4, 82 – 85 (1989).
7. Д. С. Суханов, Т. И. Виноградова, Н. В. Заболотных и др., *Архив патол.*, 2, 26 – 30 (2014).
8. C. Enriquez-Cortina, M. Almonte-Becerril, D. Clavijo-Cornejo, et al., *Toxicol. Sci.*, 135(1), 26 – 36 (2013).
9. D. M. Ferreira, M. B. Afonso, P. M. Rodrigues, et al., *Mol. Cell Biol.*, 34(6), 1100 – 1120 (2014).
10. X. L. Guo, B. Liang, X. W. Wang, et al., *World J. Gastroenterol.*, 19(24), 3781 – 3791 (2013).
11. C. Y. Hsiang, L. J. Lin, S. T. Kao, et al., *Phytomedicine*, 22(7 – 8), 768 – 777 (2015).
12. D. Lei, F. Li, H. Su, et al., *PLoS One.*, 8(7), e67793 (2013).
13. C. McKee, J. Soeda, E. Asilmaz, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 437(4), 597 – 602 (2013).
14. S. Oe, K. Miyagawa, Y. Honma, et al., *Exp. Cell Res.*, pii: S0014 – 4827(16), 30232 – 30234 (2016).
15. A. Sang, Y. Xu, N. Jin, et al., *J. Mol. Histol.*, 44(1), 11 – 18 (2013).
16. C. H. Shen, S. Y. Tung, W. S. Huang, et al., *Cell Physiol Biochem.*, 45(5), 1915 – 1926 (2018); doi: 10.1159/000487968.
17. A. Sommerfeld, R. Reinehr, D. Häussinger, *Cell Physiol Biochem.*, 36(3), 866 – 883 (2015).
18. L. A. Sternberger, S. A. Joseph, *J. Histochem. Cytochem.*, 27(12), 1424 – 1429 (1979).
19. E. M. Verhaag, M. Buist-Homan, M. Koehorst, et al., *PLoS One.*, 11(3), e0149782 (2016).
20. A. K. Verma 1, A. Yadav 1, S. V. Singh 1, et al., *Life Sci.*, pii: S0024-3205(18), 30093-30096 (2018); doi: 10.1016/j.lfs.2018.02.037.
21. L. Zhu, L. J. Shan, Y. J. Liu, et al., *J. Dig. Dis.*, 15(12), 684 – 693 (2014).

Поступила 16.08.19

THE ROLE OF URSOSAN AND REMAXOL IN HEPATOCYTE APOPTOSIS REGULATION INDUCED BY FIRST-LINE ANTITUBERCULOSIS DRUGS

E. D. Bazhanova^{1,3,4}, D. S. Sukhanov², and D. L. Teplyi³

¹ I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, M. Thorez prosp. 44, St. Petersburg, 194223 Russia

² Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, ul. Prof. Popovà 14, St. Petersburg, 197022 Russia

³ Department of Human and Animal Physiology and Morphology, Astrakhan State University, ul. Tatishcheva 20a, Astrakhan, 414040 Russia

⁴ Institute of Toxicology, Federal Biomedical Agency of the Russian Federation, ul. Bekhtereva 1, St. Petersburg, 192019 Russia

* e-mail: bazhanovae@mail.ru

This work was aimed at studying the mechanism of apoptosis of hepatocytes on the model of experimental liver injury caused by first-line antituberculosis drugs and the hepatoprotective and apoptosis-protective properties of ursosan as compared to remaxol. Wistar rats were used to determine the apoptosis level (TUNEL) and the expression of pro- and antiapoptotic proteins (immunohistochemistry, Western blotting). Administration of isoniazid, rifampicin, and pyrazinamide for 14 days causes hepatodystrophy toxicity and high levels of hepatocyte apoptosis (on average by 566%, $p < 0.05$) with characteristic dynamics of apoptotic markers. Remaxol gave positive effect, although the apoptosis level was increased. Activation of the TNF-dependent cascade, caspase-3, caused by the introduction of anti-tuberculosis drugs remained stable (increase in the CD95 level on average by 9.52% and caspase-3 by 29.5%, $p < 0.05$, as compared to the control level). Ursosan showed a high apoptosis- and hepatoprotective activity associated (i) with increase of Bcl-2 synthesis in comparison to the level of this protein in the hepatocytes of mice receiving only antituberculosis drugs (on average by 135%, $p < 0.05$) in comparison to the level of this protein in hepatocytes of mice receiving only antituberculosis drugs, and (ii) with the blocking of pro-apoptotic pathways (CD95, p53).

Keywords: ursosan, remaxol, anti-tuberculosis drugs, apoptosis, hepatocytes, rats.