



## Aloperine Alleviates Ethanol Acute Exposure-Evoked Hepatocyte Injury by Restraining Oxidative Stress through the Nrf2-HO-1 Axis

Li-ping WANG<sup>1</sup> #, Jia-cong LIN<sup>2</sup> #, Qiang LIU<sup>3</sup> #, Bo-xiong WU<sup>3</sup>, Ri-xing WANG<sup>2</sup> & Ye-ting HOU<sup>1</sup> \*

<sup>1</sup> Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, China, 010050.

<sup>2</sup> The Emergency Department of the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College 570311, China.

<sup>3</sup> Department of Critical Care Medicine, The Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University, Zhangzhou, Fujian 36300, P.R. China

**SUMMARY.** Alcoholic liver injury caused by acute or chronic alcohol consumption constitutes the second largest liver disorder after viral hepatitis. Emerging evidence confirms the therapeutic potential of aloperine in several injury-related diseases. Nevertheless, its function in acute alcoholic liver injury remains ill-defined. In this research, aloperine treatment exhibited little cytotoxicity in mouse hepatocytes. Importantly, aloperine afforded cytoprotective effects against acute ethanol exposure-induced cell injury by enhancing cell viability, proliferation-related marker PCNA expression and suppressing cell apoptosis and caspase-3 activity. Moreover, aloperine restrained the oxidative stress response evoked by ethanol in hepatocytes by decreasing ethanol-increased ROS generation, lactate dehydrogenase (LDH) and malondialdehyde (MDA) leakages, but elevating antioxidant stress superoxide dismutase (SOD) and glutathione (GSH) levels. Additionally, the activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate transaminase (AST) induced by acute ethanol exposure were reduced following aloperine treatment. Mechanistically, aloperine enhanced activation of the Nrf2-HO-1 signaling by increasing protein expression of Nrf2, HO-1, Bcl-2 and decreasing pro-apoptotic Bax protein levels. Noticeably, blocking this pathway offset aloperine-mediated hepatoprotective efficacy and anti-oxidative stress response. Together, these findings highlight that aloperine may protect against acute ethanol-induced cytotoxic injury in hepatocytes by inhibiting oxidative stress via activation of the Nrf2-HO-1 axis, implying a promising potential for aloperine against ethanol-induced acute liver disease.

**RESUMEN.** La lesión hepática alcohólica causada por el consumo agudo o crónico de alcohol constituye el segundo trastorno hepático más importante después de la hepatitis viral. La evidencia emergente confirma el potencial terapéutico de la aloperina en varias enfermedades relacionadas con lesiones. Sin embargo, su función en la lesión alcohólica aguda sigue estando mal definida. En esta investigación, el tratamiento con aloperina mostró poca citotoxicidad en los hepatocitos de ratón. Es importante destacar que la aloperina proporcionó efectos citoprotectores contra la lesión celular inducida por exposición aguda al etanol al mejorar la viabilidad celular, la expresión del marcador PCNA relacionado con la proliferación y la supresión de la apoptosis celular y la actividad de la caspasa-3. Además, la aloperina restringió la respuesta al estrés oxidativo provocada por el etanol en los hepatocitos al disminuir la generación de ROS aumentada por etanol, las fugas de lactato deshidrogenasa (LDH) y malondialdehído (MDA), pero elevando los niveles de superóxido dismutasa (SOD) y glutatión (GSH) del estrés antioxidante. Además, las actividades de la alanina aminotransferasa (ALT) y la aspartato transaminasa (AST) inducidas por la exposición aguda al etanol se redujeron después del tratamiento con aloperina. Mecánicamente, la aloperina mejoró la activación de la señalización de Nrf2-HO-1 al aumentar la expresión proteica de Nrf2, HO-1, Bcl-2 y disminuir los niveles de proteína Bax proapoptótica. Notablemente, el bloqueo de esta vía contrasta la eficacia hepatoprotectora mediada por aloperina y la respuesta al estrés antioxidante. Juntos, estos hallazgos destacan que la aloperina puede proteger contra la lesión citotóxica aguda inducida por etanol en los hepatocitos al inhibir el estrés oxidativo mediante la activación del eje Nrf2-HO-1, lo que implica un potencial promisorio de la aloperina contra la enfermedad hepática aguda inducida por etanol.

**KEY WORDS:** acute ethanol exposure; hepatocyte injury; aloperine; oxidative stress; Nrf2 signaling

# Both of these authors contribute equally and are defined as the co-first authors.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: 820838553@qq.com