

УДК 159.938.363.8

Якупова Татьяна Георгиевна

Младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных, Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека

tanya.kutlina.92@mail.ru

Tatyana G. Yakupova

Junior Researcher of the Department of Toxicology and Genetics with the experimental Clinic of Laboratory Animals,

Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology

tanya.kutlina.92@mail.ru

Экспрессионная активность генов *HMOX* и *GCLC* при токсическом повреждении печени и почек акриламидом

Expression activity of *HMOX* and *GCLC* genes in toxic damage to the liver and kidneys by acrylamide

Аннотация. Токсическое поражение организма в условиях роста загрязнения окружающей среды и продуктов питания ксенобиотиками становится все более актуальным. Сохранение здоровья трудоспособного населения, как экономической основы общества — важнейшая задача профилактической медицины. Акриламид токсичен, он поражает нервную систему, печень и почки, раздражает слизистые оболочки. В статье показано изучение патогенетических механизмов токсического действия акриламида на лабораторных животных и протекторной эффективности комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой.

Ключевые слова: гены, токсический гепатит, экспрессия, лабораторные животные, акриламид, печень, почки, гепатопротектор, гепатотоксикант.

Annotation. Toxic damage to the body in conditions of increasing environmental and food pollution with xenobiotics is becoming more and more relevant. Preserving the health of the able-bodied population as the economic basis of society is the most important task of preventive medicine. Acrylamide is toxic, it affects the nervous system, liver and kidneys, irritates the mucous membranes. The article shows the study of the pathogenetic mechanisms of the toxic effect of acrylamide on laboratory animals and the protective effectiveness of the complex compound of oxymethyluracil with ascorbic acid.

Keywords: genes, toxic hepatitis, expression, laboratory animals, acrylamide, liver, kidneys, hepatoprotector, hepatotoxicant.

Акриламид включен в список промышленных химических веществ с потенциальным канцерогенным риском для человека [1]. Однако на

сегодняшний день акриламид широко используется для производства полиакриламидного полимера, который используется в качестве коагулянта при очистке воды, добавок при производстве бумаги, тампонажного материала для плотин, туннелей и других подземных строительных конструкций и в качестве гелей для электрофореза [2]. В настоящее время акриламид известен не только как синтетический материал, используемый в промышленности, но и как канцерогенное соединение, которое образуется в процессе нагревания, в основном в пищевых продуктах, где его образование зависело от температуры [3]. Основное внимание в исследованиях *in vivo* уделялось токсическим эффектам акриламида в высоких дозах. Однако, некоторые токсические эффекты запускаются в более низких дозах без клинических признаков токсичности. Научная новизна данной работы заключается в том, что впервые проведено изучение функционального состояния органов экспериментальных животных в условиях подострого воздействия акриламида. Произведено уточнение патогенетических механизмов развития токсического процесса, поиск эффективных средств защиты человека от воздействия химических веществ. Оценена эффективность профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметилурацила токсического действия акриламида.

Исследование выполнено на белых аутбредных крысах-самках с массой тела 190 - 200 г. В каждой группе было по 6 особей. К- – интактная группа; 2 группа К+ – акриламид без коррекции; МГ-1 – группа, получавшая комплексное соединение оксиметилурацила и аскорбиновую кислоту; МГ-2 – группа, получавшая комплексное соединение оксиметилурацила и сукцинат натрия; МГ-10 – группа, получавшая комплексное соединение оксиметилурацила и ацетилцистеин. Данные соединения были синтезированы в Уфимском Институте химии УФИЦ РАН. Растворы полученных соединений (на дистиллированной воде) вводили животным внутрижелудочно за 1 час до токсиканта с целью профилактической коррекции токсических повреждений: МГ-1 и МГ-2 – 0,5 % водный раствор в дозе 50 мг/кг массы тела; МГ-10 – 5 % водный раствор в дозе 500 мг/кг массы тела. В качестве токсиканта был использован 0,2 % водный раствор акриламида. Интактным животным в качестве отрицательного контроля вводилась дистиллированная вода. Через 1 час после комплексных соединений внутрижелудочно вводили акриламид в дозе 20 мг/кг массы тела. По описанной выше схеме эксперимент осуществляли на протяжении 28 дней.

Уход за животными, условия проведения и вывода животных из эксперимента осуществлялся с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным. Корм и вода находились для животных в неограниченном доступе.

После эвтаназии и декапитации животных производилось вскрытие, и кусочки изучаемых органов сразу замораживали в жидком азоте и заливались реагентом Extract RNA (ЗАО Евроген) для дальнейшего выделения РНК. Из выделенного РНК производился синтез кДНК при использовании набора реактивов MMLV RT kit и праймеров олиго(dT)15 (“Евроген”, Россия).

Изучение транскрипционной активности генов в норме и при воздействии акриламида проводилось методом Real-Time ПЦР с использованием олигонуклеотидных специфичных праймеров и интеркалирующего красителя SYBR Green. В качестве «гена домашнего хозяйства» был использован *GAPDH*. Статистическую обработку результатов проведенного исследования выполняли с использованием программ «Statistica for Windows» с помощью Н-критерия Краскела–Уоллиса для попарного сравнения групп. Полученные результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Транскрипционная активность гена *HMOX* в печени лабораторных животных представлена на рисунке 1.

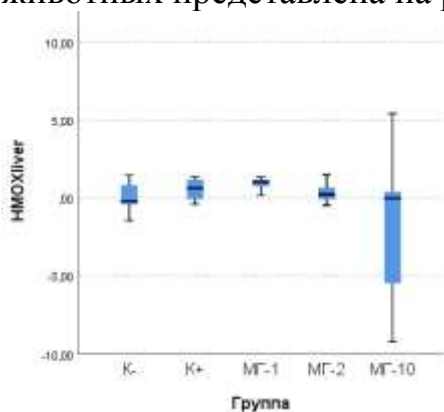


Рисунок 1. Экспрессия гена *HMOX* в печени крыс при подостром воздействии акриламида и профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметилурацила.

На данном рисунке видно, что экспрессия гена *HMOX* была практически одинаковой во всех исследуемых группах и имела свое минимальное значение - 0,22 [-0,67; 0,98] в группе отрицательного контроля. Максимального своего значения она достигала в группе коррекции МГ-1 1,03 [0,59; 1,22]. Однако, статистическая значимость не была достигнута ($p=0,280$; $\kappa=5,07$).

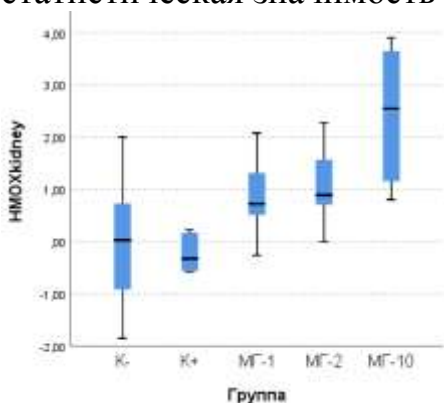


Рисунок 2. Экспрессия гена *HMOX* в почках крыс при подостром воздействии акриламида и профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметилурацила.

Анализ активности того же гена в почках крыс (рисунок 2) достиг статистической значимости ($p=0,003$; $\kappa=16,14$). Наименьшее значение данного гена наблюдалось в группе положительного контроля -1,24 [-1,63; -0,15], а наибольшее – в группе МГ-10 (2,74 [0,94; 3,67]). Попарные сравнения в данном эксперименте так же показали значимые результаты. Так, при сравнении

группы положительного контроля с группами МГ-2 и МГ-10, она была равна 0,022 и 0,001, соответственно. Сравнение группы отрицательного контроля с группой МГ-10 показала значимость, равную в 0,003.

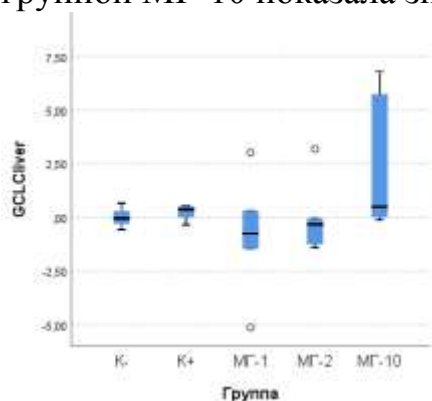


Рисунок 3. Экспрессия гена *GCLC* в печени крыс при подостром воздействии акриламида и профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметилурацила.

На рисунке 3 представлена транскрипционная активность гена *GCLC* ($p=0,100$; $\kappa=7,77$). Экспрессия данного гена имела минимальное значение в группе -0,75 [-2,38; 0,99] и возростала до 0,49 [-0,03; 6,01] в группе МГ-10.

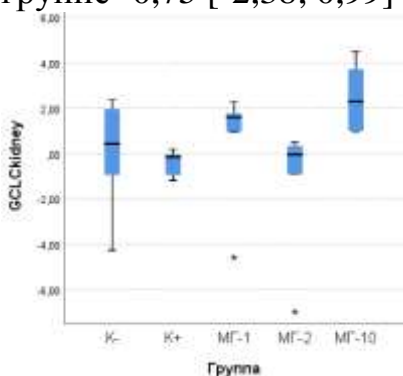


Рисунок 4. Экспрессия гена *GCLC* в почках крыс при подостром воздействии акриламида и профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметилурацила.

Транскрипционная активность того же гена в почках лабораторных животных представлена на рисунке 4. При проведении данного эксперимента статистическая значимость была достигнута ($p=0,019$; $\kappa=11,77$). Парные сравнения тоже показали значимые результаты. Сравнение группы положительного контроля и групп коррекции МГ-1 и МГ-10 ($p=0,049$ и $p=0,003$, соответственно). Сравнение двух групп коррекции МГ-2 и МГ-10 ($p=0,008$). Активность гена имела свое минимальное значение в группе положительного контроля -0,14 [-1; 0,01] и увеличивалась до значения 2,3 [0,99; 3,91] в группе МГ-10.

Анализ экспрессии генов детоксикации и защиты клетки от повреждений в результате окислительного стресса показал, что воздействие акриламида способствовало повышению их экспрессии в ткани изучаемых органов, что согласуется с данными литературы [4]. Профилактическое введение комплексных соединений оксиметилурацила оказали положительное действие,

снизив активность изучаемых генов. Таким образом, более эффективными при изучении гена *GCLC* оказались комплексные соединения МГ-1 и МГ-2, тогда как большее положительное влияние МГ-10 оказало на экспрессию гена *НМОХ*.

Литература

1. Бакиров А.Б. Результаты научно-исследовательских работ по оценке безопасности пищевых продуктов в рационе жителей промышленно развитого региона / А.Б. Бакиров, Р.А. Даукаев, Т.К. Ларионова, А.С. Фазлыева, М.В. Курилов, Г.Р. Аллаярова, С.Р. Афонькина, Е.Е. Зеленковская // *Медицина труда и экология человека*. - 2021. - № 4 (28). - С. 7-14.

2. Kim, K.H. Acrylamide induces senescence in mac-rophages through a process involving ATF3, ROS, p38/JNK, and a telomerase-independent pathway / K.H. Kim, B. Park, D.K. Rhee, S. Pyo // *Chemical Research in Toxicology*. – 2015. - № 28(1). – P. 71–86.

3. Gedik, S. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological altera-tions following acrylamide-induced liver injury in Wistar rat / S. Gedik, M.E. Erdemli, M. Gul, B. Yigitcan, B.H. Gozukara, Z. Aksungur // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. - 2017. – № 95. P. 764–768.

4. Ghorbel, I. Effects of acrylamide graded doses on metallothioneins I and II induction.n and DNA fragmentation: biochemical and histomorphological changes in the liver of adult rats / I.Ghorbel, A. Elwej, M. Chaabene, O. Boudawara, R. Marrakchi, K. Jamoussi // *Toxicology and Industrial Health*. - 2017. - № 33(8). P. 611–622.

Literature

1. Bakirov A.B. Results of scientific research on the assessment of food safety in the diet of residents of an industrially developed region / A.B. Bakirov, R.A. Daukaev, T.K. Larionova, A.S. Fazlyeva, M.V. Kurilov, G.R. Allayarova, S.R. Afonkina, E.E. Zelenkovskaya // *Occupational medicine and human ecology*. - 2021. - № 4 (28). - pp. 7-14.

2. Kim, K.H. Acrylamide induces senescence in mac-rophages through a process involving ATF3, ROS, p38/JNK, and a telomerase-independent pathway / K.H. Kim, B. Park, D.K. Rhee, S. Pyo // *Chemical Research in Toxicology*. – 2015. - № 28(1). – P. 71–86.

3. Gedik, S. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological altera-tions following acrylamide-induced liver injury in Wistar rat / S. Gedik, M.E. Erdemli, M. Gul, B. Yigitcan, B.H. Gozukara, Z. Aksungur // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. - 2017. – № 95. P. 764–768.

4. Ghorbel, I. Effects of acrylamide graded doses on metallothioneins I and II induction.n and DNA fragmentation: biochemical and histomorphological changes in the liver of adult rats / I.Ghorbel, A. Elwej, M. Chaabene, O. Boudawara, R. Marrakchi, K. Jamoussi // *Toxicology and Industrial Health*. - 2017. - № 33(8). P. 611–622.