

УДК: 616-092.9:577.21:547.42

***ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ CASP7, RIPK1, GCLC И NFE2L2 В  
ПЕЧЕНИ САМОК КРЫС ПРИ ПОДОСТРОМ ПЕРОРАЛЬНОМ  
ВОЗДЕЙСТВИИ АКРИЛАМИДА***

***Якупова Т.Г.***

*научный сотрудник лаборатории генетики*

*ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»,*

*Уфа, Россия*

***Лукашенко К.В.***

*преподаватель кафедры профессиональной подготовки*

*ФГКОУ ВО УЮИ МВД России*

*Уфа, Россия*

**Аннотация:** Акриламид является промышленно значимым токсикантом, способным вызывать оксидативные, метаболические и молекулярно-регуляторные нарушения. Цель исследования заключалась в оценке экспрессии генов *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc* и *Nfe2l2* в печени самок крыс при подостром пероральном воздействии акриламида и на фоне профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметилурацила. Эксперимент выполнен на 30 белых аутбредных крысах женского пола, разделенных на пять групп: интактный контроль, положительный контроль и группы МГ-1, МГ-2, МГ-10. Акриламид вводили внутривенно в дозе 20 мг/кг массы тела 5 раз в неделю в течение 28 дней. Корректирующие препараты вводили за 1 час до токсиканта. Уровень экспрессии генов оценивали методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Статистически значимых межгрупповых различий по *Casp7* ( $F=1,20$ ;  $p=0,3344$ ), *Ripk1* ( $F=0,16$ ;  $p=0,9206$ ), *Gclc* ( $F=2,57$ ;  $p=0,0001$ ) не выявлено. Дневник науки | [www.dnevniknauki.ru](http://www.dnevniknauki.ru) | СМН Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

$p=0,0830$ ) и *Nfe2l2* ( $F=0,73$ ;  $p=0,5475$ ) не выявлено. Вместе с тем отмечены разнонаправленные тенденции: снижение экспрессии *Gclc* в группах МГ-1 и МГ-2, увеличение *Casp7* и *Nfe2l2* в группе МГ-10, умеренное снижение *Ripk1* в группах коррекции. Полученные данные свидетельствуют, что в условиях подострого эксперимента указанные гены не являются наиболее чувствительными маркерами акриламид-индуцированного ответа в печени самок крыс.

**Ключевые слова:** акриламид, печень, экспрессия генов, *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc*, *Nfe2l2*, крысы

***FEATURES OF CASP7, RIPK1, GCLC AND NFE2L2 GENE EXPRESSION IN  
THE LIVER OF FEMALE RATS UNDER SUBACUTE ORAL ACRYLAMIDE  
EXPOSURE***

***Yakupova T.G.***

*Researcher, Genetics Laboratory*

*Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology*

*Ufa, Russia*

***Lukashenko K.V.***

*Lecturer, Department of Professional Training*

*Ufa Law Institute of the Ministry of Internal Affairs of Russia*

*Ufa, Russia*

**Abstract:** Acrylamide is an industrially relevant toxicant capable of inducing oxidative, metabolic, and molecular-regulatory disturbances. The aim of the study was to assess the expression of *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc*, and *Nfe2l2* genes in the liver of female rats under subacute oral acrylamide exposure and during preventive correction with  
Дневник науки | [www.dnevniknauki.ru](http://www.dnevniknauki.ru) | СМН ЭЛ № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

oxymethyluracil-based complexes. Thirty outbred female rats were divided into five groups: intact control, positive control, and MG-1, MG-2, and MG-10 groups. Acrylamide was administered intragastrically at a dose of 20 mg/kg body weight five times a week for 28 days. Correcting compounds were administered 1 hour before the toxicant. Gene expression was analyzed by real-time quantitative PCR. No statistically significant intergroup differences were found for *Casp7* ( $F=1,20$ ;  $p=0,3344$ ), *Ripk1* ( $F=0,16$ ;  $p=0,9206$ ), *Gclc* ( $F=2,57$ ;  $p=0,0830$ ), and *Nfe2l2* ( $F=0,73$ ;  $p=0,5475$ ). However, multidirectional trends were observed, including decreased *Gclc* expression in the MG-1 and MG-2 groups and increased *Casp7* and *Nfe2l2* expression in the MG-10 group. The findings indicate that under subacute conditions these genes are not the most sensitive markers of acrylamide-induced response in the liver of female rats.

**Keywords:** acrylamide, liver, gene expression, *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc*, *Nfe2l2*, rats

Акриламид относится к числу широко распространенных ксенобиотиков, имеющих существенное значение как для токсикологии, так и для медицины труда [1-3]. Данное соединение используется в различных промышленных процессах, в том числе при производстве полимерных материалов, а также может образовываться в пищевых продуктах при термической обработке углеводсодержащего сырья, что обуславливает многоканальность его поступления в организм человека и животных [4, 5]. В связи с этим акриламид представляет интерес не только как производственный токсикант, но и как фактор хронической внепроизводственной экспозиции, способный реализовывать неблагоприятные эффекты даже при относительно низких уровнях воздействия [6-8].

В экспериментальных исследованиях показано, что акриламид обладает нейротоксическим, гепатотоксическим, генотоксическим и метаболическим действием [9]. Существенная часть этих эффектов связывается с развитием

Дневник науки | [www.dnevniknauki.ru](http://www.dnevniknauki.ru) | СМН ЭЛ № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

окислительного стресса, нарушением редокс-гомеостаза, истощением антиоксидантных систем клетки и изменением экспрессии генов, регулирующих клеточный цикл, апоптоз и механизмы детоксикации [10]. При этом характер токсического ответа во многом зависит от дозы, длительности воздействия, условий эксперимента, а также от особенностей исследуемой ткани или органа-мишени [11].

Особый интерес в последние годы представляет оценка молекулярных маркеров раннего токсического ответа, поскольку именно они позволяют выявлять субклинические и доклинические сдвиги, предшествующие развитию более выраженных морфофункциональных нарушений [12]. Анализ экспрессии генов, вовлеченных в поддержание антиоксидантного статуса, регуляцию клеточной гибели и адаптационные механизмы, открывает дополнительные возможности для понимания патогенеза акриламид-индуцированного повреждения и для поиска информативных биомаркеров токсического воздействия.

Однако не все гены, потенциально вовлеченные в патогенез акриламид-индуцированного повреждения, демонстрируют одинаковую чувствительность в разных экспериментальных моделях и при различных режимах интоксикации [13, 14]. В этой связи анализ статистически недостоверных, но биологически значимых изменений также представляет научный интерес, поскольку позволяет уточнить спектр более и менее информативных молекулярных показателей, оценить устойчивость отдельных звеньев клеточного ответа и более точно определить направления последующих исследований [15]. Такой подход особенно важен на этапе первичного отбора маркеров, когда отсутствие статистической значимости не всегда означает отсутствие биологического эффекта, а может отражать сложность регуляторных процессов, ограниченность выборки или нелинейный характер ответа на токсическое воздействие.

**Цель исследования** заключалась в оценке экспрессии генов *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc* и *Nfe2l2* в печени самок крыс при подостром пероральном воздействии акриламида и на фоне профилактической коррекции комплексными соединениями оксиметилурацила.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на 30 белых аутбредных крысах женского пола. Животные содержались в стандартных условиях вивария при контролируемых температуре, влажности и световом режиме. Все процедуры выполнялись в соответствии с ГОСТ 33215-2014 и международными принципами гуманного обращения с лабораторными животными. Животные были распределены на пять групп по 6 особей: интактный контроль, положительный контроль, а также три группы профилактической коррекции – МГ-1, МГ-2 и МГ-10.

Подострая модель интоксикации предусматривала внутрижелудочное введение акриламида в дозе 20 мг/кг массы тела 5 раз в неделю в течение 4 недель. Животные контрольной интактной группы получали эквивалентное количество растворителя. Корректирующие соединения вводили внутрижелудочно за 1 час до акриламида: МГ-1 и МГ-2 в дозе 50 мг/кг, МГ-10 – 500 мг/кг массы тела. После завершения эксперимента в ткани печени определяли относительный уровень экспрессии генов *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc* и *Nfe2l2* методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с нормализацией по референсному гену *Gapdh*.

Статистическую обработку выполняли в среде Python с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Анализ показал отсутствие статистически значимых межгрупповых различий по экспрессии всех четырех исследованных генов. Дневник науки | [www.dnevniknauki.ru](http://www.dnevniknauki.ru) | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

Результаты количественной оценки экспрессии генов *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc* и *Nfe2l2* в печени самок крыс при подостром воздействии акриламида представлены в таблице 1.

**Таблица 1. Экспрессия генов *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc* и *Nfe2l2* в печени самок крыс при подостром воздействии акриламида (M±SD)**

Ген	К-	К+	МГ-1	МГ-2	МГ-10	F; p
<i>Casp7</i>	-0,02±0,37	0,65±0,16	-0,74±0,98	-0,30±0,12	2,88±1,40	1,20; 0,3344
<i>Ripk1</i>	0,02±0,29	-0,04±0,17	-0,24±0,63	-0,52±0,98	-0,42±0,85	0,16; 0,9206
<i>Gclc</i>	0,18±0,40	-0,29±0,23	-1,78±1,19	-1,85±0,20	0,97±1,02	2,57; 0,0830
<i>Nfe2l2</i>	-0,01±0,88	-0,23±0,27	0,64±0,26	0,61±0,36	1,03±0,84	0,73; 0,5475

Для *Casp7* в печени средние значения составили: К- – -0,02±0,37; К+ – 0,65±0,16; МГ-1 – -0,74±0,98; МГ-2 – -0,30±0,12; МГ-10 – 2,88±1,40; F=1,20; p=0,3344. Несмотря на заметное повышение показателя в группе МГ-10, вариабельность значений не позволила подтвердить различия статистически.

Для *Ripk1* экспрессия оставалась близкой по уровню между группами: К- – 0,02±0,29; К+ – -0,04±0,17; МГ-1 – -0,24±0,63; МГ-2 – -0,52±0,98; МГ-10 – -0,42±0,85; F=0,16; p=0,9206. Это позволяет говорить об отсутствии выраженного сдвига по данному регулятору некроптоза в условиях подострого воздействия.

Ген *Gclc*, кодирующий ключевой фермент синтеза глутатиона, также не продемонстрировал статистически значимых межгрупповых различий: К- –

0,18±0,40; K+ – -0,29±0,23; МГ-1 – -1,78±1,19; МГ-2 – -1,85±0,20; МГ-10 – 0,97±1,02; F=2,57; p=0,0830. Вместе с тем полученные значения отражают выраженную тенденцию к снижению экспрессии *Gclc* в группах МГ-1 и МГ-2 и к увеличению в группе МГ-10, что может быть предметом дальнейшего изучения на более крупных выборках.

По *Nfe2l2* статистически значимых различий также не установлено: K- – -0,01±0,88; K+ – -0,23±0,27; МГ-1 – 0,64±0,26; МГ-2 – 0,61±0,36; МГ-10 – 1,03±0,84; F=0,73; p=0,5475. Полученные данные указывают, что в рассматриваемой модели транскрипционный ответ по *Nfe2l2* в печени самок крыс не носил выраженного и устойчивого характера.

**Обсуждение.** Отсутствие статистически значимых различий по *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc* и *Nfe2l2* в условиях 28-дневного перорального воздействия акриламида позволяет предположить, что данные показатели в данной модели обладают ограниченной чувствительностью как маркеры подострого токсического ответа. Это не исключает их биологической значимости, но указывает на то, что на рассматриваемом сроке и при данном дизайне исследования более информативными могут быть другие молекулярно-генетические мишени.

Наличие разнонаправленных тенденций, особенно по *Gclc* и *Nfe2l2*, может отражать вариабельность адаптационно-компенсаторных реакций антиоксидантной системы. Повышение *Casp7* в группе МГ-10 также не получило статистического подтверждения, однако свидетельствует о возможности неоднородного молекулярного ответа на фоне профилактической коррекции. Подобные данные представляют интерес как отрицательный, но методически значимый результат, позволяющий точнее выбирать панели генов для последующих исследований.

**Заключение.** При подостром пероральном воздействии акриламида в дозе 20 мг/кг массы тела в течение 28 дней у самок крыс не выявлено статистически значимых межгрупповых различий по экспрессии генов *Casp7*, *Ripk1*, *Gclc* и *Nfe2l2* в печени. Полученные результаты позволяют рассматривать указанные гены как показатели с ограниченной чувствительностью в данной экспериментальной модели и подчеркивают необходимость дальнейшего поиска наиболее информативных молекулярно-генетических маркеров акриламид-индуцированного токсического ответа.

#### **Библиографический список:**

1. Friedman M. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *J Agric Food Chem.* 2003;51(16):4504–4526.
2. Shipp A., Lawrence G., Gentry R., et al. Acrylamide: review of toxicity data and dose-response analyses for cancer and noncancer effects. *Crit Rev Toxicol.* 2006;36(6-7):481–608.
3. Erkekoglu P., Baydar T. Acrylamide neurotoxicity. *Nutr Neurosci.* 2014;17(2):49–57.
4. Lopachin R.M., Gavin T. Molecular mechanisms of acrylamide neurotoxicity: lessons learned from organic chemistry. *Environ Health Perspect.* 2012;120(12):1650–1657.
5. Pennisi M., Malaguarnera G., Puglisi V., et al. Neurotoxicity of acrylamide in exposed workers. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10(9):3843–3854.
6. Dearfield K.L., Abernathy C.O., Ottley M.S., Brantner J.H., Hayes P.F. Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutat Res.* 1988;195(1):45–77.

7. Tareke E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Törnqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem.* 2002;50(17):4998–5006.
8. Besaratinia A., Pfeifer G.P. Genotoxicity of acrylamide and glycidamide. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(13):1023–1029.
9. Exon J.H. A review of the toxicology of acrylamide. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2006;9(5):397–412.
10. EFSA CONTAM Panel. Scientific opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal.* 2015;13(6):4104.
11. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Acrylamide. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.* 1994;60:389–433.
12. Klaunig J.E. Acrylamide carcinogenicity. *J Agric Food Chem.* 2008;56(15):5984–5988.
13. Pruser K.N., Flynn N.E. Acrylamide in health and disease. *Front Biosci (Schol Ed).* 2011;3:41–51.
14. Fennell T.R., Sumner S.C.J., Snyder R.W., et al. Metabolism and hemoglobin adduct formation of acrylamide in humans. *Toxicol Sci.* 2005;85(1):447–459.
15. Ghanayem B.I., McDaniel L.P., Churchwell M.I., et al. Role of CYP2E1 in acrylamide metabolism and disposition in mice. *Toxicol Sci.* 2005;88(2):311–318.