

УДК 577.218:616.36

ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *SOD1* В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ

Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О., Бакиров А.Б., Валова Я.В., Зиятдинова М.М., Репина Э.Ф., Тимашева Г.В., Якупова Т.Г.

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», г. Уфа, Россия

*В статье представлен анализ экспрессии гена *Sod1* в печени крыс при воздействии тетрахлорметана, парацетамола и этанола. Работа выполнена на белых беспородных крысах-самцах массой 170–190 г. Всего было сформировано 4 группы животных (контрольная группа, тетрахлорметан, парацетамол и этанол). Спустя 24 и 72 ч после введения токсиканта животных декапитировали и исследовали уровень мРНК гена *Sod1* в гомогенате печени. Полученные результаты продемонстрировали различия профиля экспрессии исследуемого гена в зависимости от этиологии токсического гепатита. Изменения уровня экспрессии гена *Sod1* имели более выраженный характер при отравлении тетрахлорметаном и этанолом. При поражении печени парацетамолом статистически значимых различий профиля экспрессии изучаемого гена не наблюдалось. Проведенное нами исследование позволяет оценивать экспрессию гена *Sod1* как дополнительный маркер тяжести повреждения печени под воздействием различных токсикантов.*

Ключевые слова: токсическое поражение печени, тетрахлорметан, этанол, парацетамол, экспрессия гена

Для цитирования: Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О., Бакиров А.Б., Валова Я.В., Зиятдинова М.М., Репина Э.Ф., Тимашева Г.В., Якупова Т.Г. ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *SOD1* В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ. Медицина труда и экология человека. 2020; 3:108-113

Для корреспонденции: Мухаммадиева Гузель Фанисовна, старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», кандидат биологических наук, e-mail: ufniimt@mail.ru.

Финансирование: исследование выполнено при поддержке гранта Республики Башкортостан молодым ученым от 07.02.2020 № УГ-43 «О присуждении в 2020 году грантов Республики Башкортостан молодым ученым».

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10314>

CHANGES IN *SOD1* GENE EXPRESSION IN RAT LIVER EXPOSED TO TOXICANTS

Mukhammadieva G.F., Karimov D.O., Bakirov A.B., Valova Ya.V., Ziatdinova M.M., Repina E.F., Timasheva G.V., Yakupova T.G.

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia

An analysis of the Sod1 gene expression in rat liver exposed to carbon tetrachloride, paracetamol and ethanol is presented in the paper. The study was carried out on white mongrel male rats weighing 170-190 g. In total, all animals were assigned to four groups (control group, carbon tetrachloride, paracetamol and ethanol). After 24 and 72 h of the toxicant administration, the animals were decapitated and the level of mRNA of the Sod1 gene in the liver homogenate was examined. The results obtained demonstrated differences in the expression profile of the studied gene depending on the etiology of toxic hepatitis. Changes in the Sod1 gene expression were more pronounced with exposure to carbon tetrachloride and ethanol. With liver exposure to paracetamol, no statistically significant differences in the expression profile of the studied gene were observed. Our study allows us to regard the Sod1 gene expression as an additional marker of severity of the liver damage exposed to various toxicants.

Keywords: *toxic liver damage, carbon tetrachloride, ethanol, paracetamol, gene expression*

For citation: *Mukhammadieva G.F., Karimov D.O., Bakirov A.B., Valova Y.V., Ziatdinova M.M., Repina E.F., Timasheva G.V., Yakupova T. G. CHANGES IN SOD1 GENE EXPRESSION IN RAT LIVER EXPOSED TO TOXICANTS. Occupational health and human ecology. 2020; 3:108-113*

For correspondence: *Mukhammadieva Guzel Fanisovna, Senior Researcher of the Department of Toxicology and Genetics with the Experimental Clinic of Laboratory Animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Candidate of Biology, e-mail: ufniimt@mail.ru.*

Funding: *The study was supported by the Bashkortostan grant to young scientists of 07.02.2020 № UG-43 "On awarding grants of the Republic of Bashkortostan to young scientists in 2020".*

Conflict of interest: *The authors declare they have no conflict of interest*

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10314>

Использование химических веществ на многих промышленных предприятиях, неограниченное применение лекарственных препаратов и товаров бытовой химии, потребление алкоголя приводит к развитию различных патологических процессов в организме человека. Обезвреживание токсических веществ происходит главным образом в печени. Среди заболеваний, связанных с воздействием токсических факторов, большую часть составляют химические повреждения печени [1]. Значительную роль в возникновении и развитии патологий печени играет активация свободнорадикальных процессов [2, 3]. При этом происходят нарушения структуры и функции мембран, что отрицательно отражается на энергообеспечении клеток и способствует их гибели. Окислительный стресс способны вызывать многие вещества, в том числе тетрахлорметан (ТХМ), этанол и парацетамол, которые широко используются для моделирования токсического поражения печени у животных.

Ключевым компонентом антиоксидантной защиты организма, нейтрализующим постоянно образующиеся активные формы кислорода, являются супероксиддисмутаза – семейство металлсодержащих белков, катализирующих реакцию дисмутации супероксидных радикалов. Семейство супероксиддисмутаза включает несколько ферментов. Ген *Sod1* кодирует фермент супероксиддисмутаза-1 (СОД1), который принимает участие в антиокислительном ответе клеток и обеспечивает защиту от токсичности активных форм кислорода. Большая часть фермента находится в цитоплазме клеток, хотя он был выявлен и в межмембранном пространстве митохондрий печени крыс [4].

Целью данной работы является изучение экспрессии гена *Sod1* в печени крыс при воздействии тетрахлорметана, парацетамола и этанола.

Материалы и методы

Исследование проводили на белых беспородных крысах-самцах массой от 170 до 190 г. Всего было сформировано 3 опытные и 1 контрольная группы:

1 группа (n=14) – крысам подкожно вводили 50% масляный раствор ТХМ в дозе 2 г/кг массы животного;

2 группа (n=14) – крысам перорально вводили суспензию парацетамола в воде с 1% крахмалом в дозе 0,1 г/кг массы животного;

3 группа (n=14) – крысам внутривенно вводили этанол в дозе 5 г/кг массы животного;

4 группа (контрольная) (n=7) – крыс не подвергали воздействию химических веществ.

Животных выводили из эксперимента декапитацией через 24 и 72 ч после воздействия токсиканта (по 7 крыс), извлекали печень и замораживали в жидком азоте. Печень гомогенизировали и выделяли тотальную РНК, используя набор ExtractRNA (ЗАО «Евроген», Россия), в соответствии с инструкцией производителя. Обратную транскрипцию проводили с использованием праймеров, синтезированных ЗАО «Евроген». ПЦР в режиме реального времени выполняли на приборе Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия). Ген *Gapdh* был выбран в качестве референсного. Для обработки экспериментальных данных применяли t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При сравнительном анализе экспрессии гена *Sod1* спустя 24 и 72 ч после введения ТХМ обнаружены статистически значимые различия в исследуемых группах животных ($F=18,38$; $p < 0,0001$) (рис. 1).

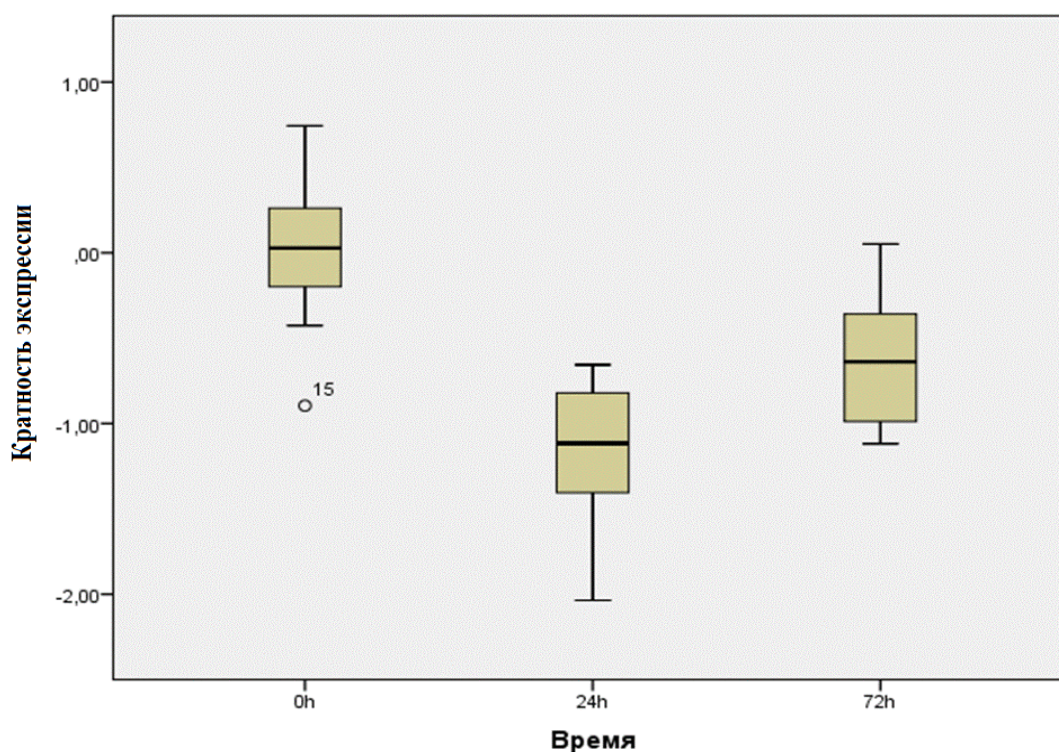


Рис. 1. Кратность экспрессии гена *Sod1* при интоксикации ТХМ через 24 и 72 ч

Введение крысам ТХМ через 24 ч приводило к значимому уменьшению уровня мРНК гена *Sod1* ($-1,18 \pm 0,18$) по сравнению с контрольными особями, при этом через 72 ч фиксировалось небольшое повышение кратности экспрессии гена до $-0,63 \pm 0,16$, которое не достигло статистической значимости ($p=0,060$). Полученные данные могут свидетельствовать об истощении антиоксидантной системы в условиях окислительного стресса, вызванного интоксикацией ТХМ. Известно, что изменение активности антиоксидантных ферментов может приводить к увеличению окислительного стресса, что предрасполагает к повышенному уровню окислительного повреждения клеточных макромолекул и измененному ответу на стресс [5].

На рисунке 2 показаны результаты анализа экспрессии гена *Sod1* в печени крыс через 24 и 48 ч после введения парацетамола в сравнении с контролем.

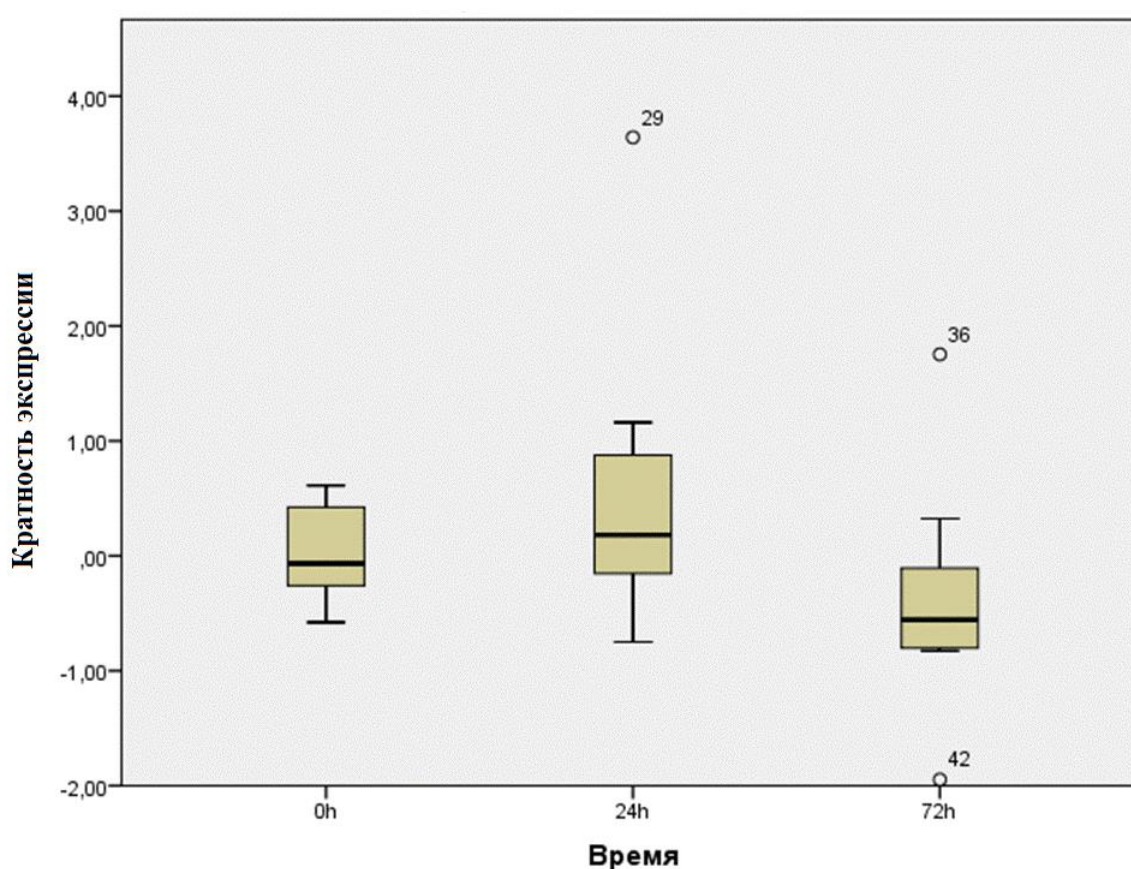


Рис. 2. Кратность экспрессии гена *Sod1* при интоксикации парацетамолом через 24 и 72 ч

Не наблюдалось каких-либо существенных различий в экспрессии гена между исследуемыми группами ($F=2,06$; $p=0,148$). При этом имело место умеренное повышение кратности экспрессии через 24 ч после введения парацетамола и небольшое снижение через 72 ч ($p>0,05$). Вероятно, 3-суточное введение парацетамола в указанной дозе не вызывает значительных структурных изменений печени.

Через 24 ч воздействие этанола практически не влияло на транскрипционную активность гена *Sod1* ($p=0,998$), но через 72 ч приводило к ее значимому снижению относительно контроля ($p=0,011$) и 24-часовой группы ($p=0,024$) (рис. 3).

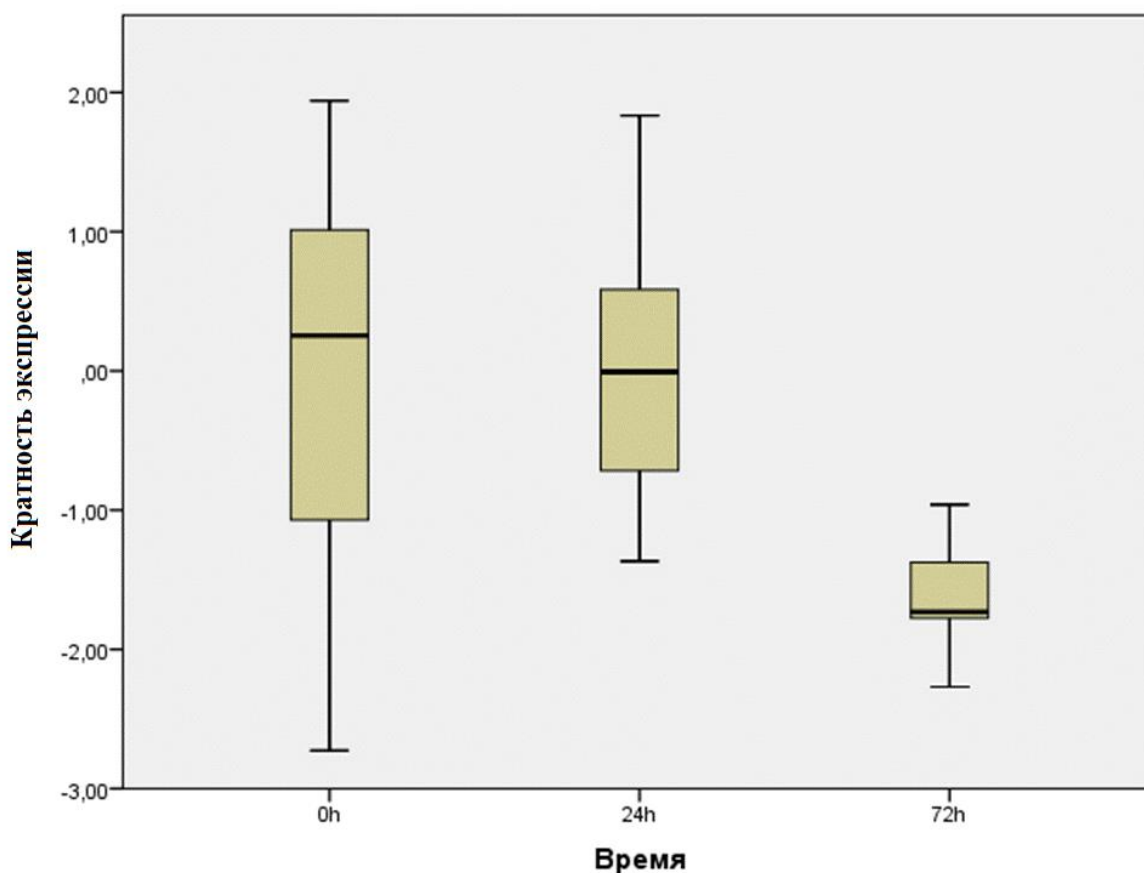


Рис. 3. Кратность экспрессии гена *Sod1* при интоксикации этанолом через 24 и 72 ч

В целом такие результаты могут указывать на то, что окислительный стресс, вызванный интоксикацией этанолом, сопровождается истощением антиоксидантной системы и может быть причиной подавления экспрессии гена *Sod1*. Есть данные, что уменьшение количества транскриптов гена *Nrf2* может способствовать снижению продукции мРНК генов антиоксидантных ферментов, которые являются *Nrf2*-зависимыми, и их экспрессия во многом находится под контролем данного транскрипционного фактора [6].

Заключение

Обнаруженные изменения в уровне экспрессии гена *Sod1* дают возможность предположить, что введение ТХМ и этанола сопровождается развитием более высокого уровня окислительного стресса, в сравнении с введением парацетамола. Подобная закономерность позволяет рассматривать экспрессию гена *Sod1* как дополнительный диагностический маркер, отражающий тяжесть поражения печени под воздействием различных токсикантов.

Список литературы:

1. Черешнев В.А., Мышкин В.А., Еникеев Д.А. Гепатопротекция при химических воздействиях. М.-Уфа: Полиграфдизайн; 2012.
2. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика»; 2001.
3. Li S., Tan H.Y., Wang N., Zhang Z.J., Lao L., Wong C.W., et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(11): 26087-26124.
4. Okado-Matsumoto A., Fridovich I. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria. *J Biol Chem.* 2001; 276(42): 38388-38393.
5. Lee J., Koo N., Min D.B. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2004; 3(1): 21-33.
6. Sadi G., Baloğlu M.C., Pektaş M.B. Differential gene expression in liver tissues of streptozotocin-induced diabetic rats in response to resveratrol treatment. *PLoS One.* 2015;10(4): e0124968.

References:

1. Chereshev V.A., Myshkin V.A., Enikeev D.A. Hepatoprotection in chemical exposures. Moscow-Ufa: Polygraphdesign; 2012. (in Russian).
2. Zenkov N.K., Lankin V.Z., Menshchikova E.B. Oxidative Stress: biochemical and pathophysiological aspects. Moscow: MAIK «Nauka/Interperiodika»; 2001. (in Russian).
3. Li S., Tan H.Y., Wang N., Zhang Z.J., Lao L., Wong C.W., et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(11): 26087-26124.
4. Okado-Matsumoto A., Fridovich I. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria. *J Biol Chem.* 2001; 276(42): 38388-38393.
5. Lee J., Koo N., Min D.B. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2004; 3(1): 21-33.
6. Sadi G., Baloğlu M.C., Pektaş M.B. Differential gene expression in liver tissues of streptozotocin-induced diabetic rats in response to resveratrol treatment. *PLoS One.* 2015;10(4): e0124968.

Поступила/Received: 31.08.2020

Принята в печать/Accepted: 08.09.2020