

УДК 575.113

ПОВЫШЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТРАНСПОЗОНА LINE1 ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИДРОКСИДА АЛЮМИНИЯ

Каримов Д.Д.^{1,2}, Валова Я. В.^{1,3}, Гизатуллина А.А.¹, Смолянкин Д.А.¹, Кудояров Э.Р.¹, Каримов Д.О.^{1,4}

¹ ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия

² ФГБНУ «Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН», Уфа, Россия

³ ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», Уфа, Россия

⁴ ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко», Москва, Россия

Алюминий занимает одно из ведущих мест среди металлов, активно применяемых в пищевой, фармацевтической и других областях промышленности. Широкая распространенность изделий из алюминия обуславливает с заметное воздействие его соединений на организм человека. Данное исследование проводилось с **целью** изучения активации транспозонов LINE1 в печени и почках крыс при воздействии различных доз гидроксида алюминия в условиях подострой экспериментальной модели путем определения экспрессии РНК.

Материалы и методы. В работе использованы белые аутбредные крысы линии Wistar. Для определения токсичности алюминия животным в экспериментальных группах вводили раствор $Al(OH)_3$, смешанный с 2% крахмалом, в дозах 0,015 мг/кг, 0,15 мг/кг и 1,5 мг/кг. Оценка транскрипционной активности гена выполнялась с использованием метода ОТ-ПЦР.

Полученные результаты показали, что пероральное введение гидроксида алюминия в дозе 1,5 мг/кг в течение двух месяцев вело к увеличению уровня экспрессии транспозонов LINE1 в почках животных, тогда как в печени изменений не отмечалось. Эти результаты подтверждают данные о том, что почки являются одной из главных мишеней для токсического воздействия алюминиевых соединений.

Ключевые слова: тяжелые металлы, транспозон, LINE1, алюминий, гидроксид алюминия.

Для цитирования: Каримов Д.Д., Валова Я. В., Гизатуллина А.А., Смолянкин Д.А., Кудояров Э.Р., Каримов Д.О. Повышение активности транспозона LINE1 при

токсическом воздействии гидроксида алюминия. Медицина труда и экология человека. 2024; 4: 146-154.

Для корреспонденции: Каримов Денис Дмитриевич, к.б.н., лаборатория генетики отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», старший научный сотрудник; e-mail: karriden@gmail.com.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2024-10409>

LINE1 TRANSPOSON ACTIVITY INCREASE BY ALUMINUM HYDROXIDE TOXIC EXPOSURE

Karimov D.D.^{1,2}, Valova Ya.V.^{1,3}, Gizatullina A.A.¹, Smolyankin D.A.¹, Kudoyarov E.R.¹, Karimov D.O.^{1,4}

¹ Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, Ufa, Russia

² Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

³ Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia

⁴ National Research Institute of Public Health named after N.A. Semashko, Moscow, Russia

Aluminum occupies one of the leading places among metals actively used in food, pharmaceutical and other industries. The widespread use of aluminum products causes a noticeable effect of its compounds on the human body. **This study was conducted to** study the activation of LINE1 transposons in the liver and kidneys of rats exposed to various doses of aluminum hydroxide in a subacute experimental model by determining RNA expression.

Materials and methods. The work used white outbred Wistar rats. To determine aluminum toxicity, animals in the experimental groups were administered a solution of Al (OH) 3 mixed with 2% starch at doses of 0.015 mg / kg, 0.15 mg / kg and 1.5 mg / kg. The transcriptional activity of the gene was assessed using the RT-PCR method.

The results showed that oral administration of aluminum hydroxide at a dose of 1.5 mg/kg for two months led to an increase in the expression level of LINE1 transposons in the kidneys of animals, while no changes were observed in the liver. These results

confirm the data that the kidneys are one of the main targets for the toxic effects of aluminum compounds.

Keywords: heavy metals, transposon, LINE1, aluminum, aluminum hydroxide.

Citation: Karimov D.D., Valova Ya.V., Gizatullina A.A., Smolyankin D.A., Kudoyarov E.R., Karimov D.O. LINE1 transposon activity increase by aluminum hydroxide toxic exposure Occupational Health and Human Ecology. 2024; 4: 146-154.

Correspondence: Denis Dmitrievich Karimov, PhD, Laboratory of Genetics, Department of Toxicology and Genetics, Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, Senior Researcher; e-mail: karriden@gmail.com.

Financing: the study did not have sponsorship.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2024-10409>

Алюминий является одним из наиболее популярных металлов, используемых в самых различных секторах, включая производство продуктов питания и фармацевтику. В результате этого люди ежедневно подвергаются значительному влиянию алюминия и его производных. Это вызывает рост обеспокоенности по поводу того, что взаимодействие человека с алюминием из множества источников может увеличивать риск возникновения негативных последствий для здоровья.

Алюминий оказывает значительное воздействие на клеточный гомеостаз и способствует развитию окислительного стресса, окисления белков и липидов [1, 2]. В ответ на воздействие алюминия происходит активация экспрессии генов, инициирующих воспалительные и апоптотические процессы, что также влияет на активность ферментов и обмен аденозинтрифосфата (АТФ) [3]. Действие алюминия на биохимические процессы в клетках может играть важную роль в развитии различных патологических состояний и подчеркивает необходимость дальнейшего изучения его токсичности и механизма действия.

Длинные распределенные ядерные элементы (Long Interspersed Nuclear Elements 1, LINE-1, L1) являются распространенными мобильными элементами, занимают приблизительно 17% человеческого генома. Они относятся к классу ретротранспозонов non-LTR и распространяются по геному посредством процесса ретротранспозиции. Однако каждый молекулярный шаг ретротранспозиции регулируется настолько строго, что активность L1, как правило, подавляется в большинстве дифференцированных соматических клеток [4]. Экспрессия LINE-1 в соматических клетках подавляется посредством метилирования ДНК LINE-1 и

гистона H3K9 в районе вставок этих транспозонов, а также посредством RNA-интерференции LINE-РНК [5]. Тем не менее это угнетение на уровне соматических клеток не всегда оказывается полным, значительная часть РНК, связанной с LINE-1, может проявлять активность [6, 7]. Кроме того, повышенная подвижность LINE-1 наблюдалась в результате воздействия некоторых известных канцерогенов, таких как тяжелые металлы [8-11], бензо(а)пирен [12] и γ -излучение [13].

Цель исследования заключалась в оценке экспрессии РНК транспозонов LINE1 в печени крыс при интоксикации различными дозами гидроксида алюминия в подострой модели эксперимента.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 48 крысах линии Wistar, весом от 170 до 230 г. Животные были случайным образом распределены на 4 группы по 12 особей (6 самцов и 6 самок) в каждой. Крысам из трех групп в течение двух месяцев ежедневно, пять раз в неделю, вводили раствор $Al(OH)_3$, разбавленный в 2% крахмальном растворе, в дозировках 0,015 мг/кг, 0,15 мг/кг и 1,5 мг/кг per os. Животные были выведены из эксперимента путем декапитации, после чего проводился забор материалов для исследования.

Экстракцию РНК из тканей печени и почек выполняли реагентом «Extract RNA» согласно инструкции производителя. РТ-ПЦР и Real-Time ПЦР проводили на приборе Bio-Rad CFX 96. Определение уровня относительной экспрессии LINE-1 проводилось согласно Gamdzyk et al. [14].

Анализ данных осуществляли с использованием Google Colab и библиотек Pandas, NumPy и SciPy для языка Python. Для оценки статистической значимости различий применялись H -критерий Краскала-Уоллиса и W -критерий Манна-Уитни. Значимость результатов определялась при уровне $p < 0,05$.

Результаты. Проведен сравнительный анализ активности (уровня относительной экспрессии (транскрипции)) ретротранспозонов семейства LINE1 у крыс, получавших разные дозы гидроксида алюминия на протяжении 2 месяцев (табл. 1).

Согласно полученным результатам, в печени не выявлено существенных различий в активности транспозонов LINE1 у крыс, получавших различные дозы токсического вещества. Однако при исследовании уровня относительной экспрессии в почках были обнаружены статистически значимые различия среди групп ($H=15,046$, $p=0,002$). Парный сравнительный анализ показал, что в группе, получавшей наибольшую дозу, уровень транскрипции LINE1 был значимо выше по сравнению с остальными группами ($p=0,002$, $p=0,0004$ и $p=0,03$ при сравнении с группами контроля, 0,015 мг/кг и 0,15 мг/кг соответственно).

Таблица 1. Уровни относительной экспрессии (транскрипции) ретротранспозонов семейства LINE1 у крыс, получавших разные дозы гидроксида алюминия на протяжении 2 месяцев

Table 1. Relative Expression (Transcription) of LINE1 Retrotransposon Family in Rats Exposed to Different Doses of Aluminum Hydroxide Over a 2-Month Period

Группа	N	Относительный уровень экспрессии в печени (среднее±SD)	Относительный уровень экспрессии в почках (среднее±SD)
Контроль	6	1,452±1,272	0,642±0,416
0,015 мг/кг	12	0,991±0,366	0,822 ±0,208
0,15 мг/кг	12	0,939±0,285	0,958±0,383
1,5 мг/кг	12	1,326±1,026	3,136±4,065
Тест Крускалла-Уоллиса		H=0,707, p=0,872	H=15,046, p=0,002

Для анализа возможного влияния пола было проведено исследование активности транспозонов LINE1 среди самцов и самок отдельно (табл. 2).

Согласно полученным результатам, при разделении групп по признаку пола так же не было значимых различий в уровне транскрипции LINE1 в печени животных различных групп (H=2,139, p=0,544 при сравнении самцов и H=1,329, p=0,722 при сравнении самок). При анализе активности LINE1 в почках выявлено, что различия между группами самок статистически незначимы (H=7,628, p=0,054). В группах самцов значимость различий сохраняется (H=12,338, p=0,006). В результате попарного анализа было установлено, что у животных, получавших наибольшую дозу гидроксида алюминия, наблюдается значительно выше уровень экспрессии транспозона LINE1 по сравнению с контрольной группой (p=0,024) и группой, которой была предоставлена минимальная доза токсичного вещества (p=0,002). Различия между группой, принимавшей гидроксид алюминия в дозировке 0,15 мг/кг, оказались статистически незначимыми (p=0,240). Кроме того, отмечены существенные различия в уровнях экспрессии у самцов, принимавших гидроксид алюминия в дозах 0,15 мг/кг и 0,015 мг/кг (p=0,026).

Таблица 2. Уровни относительной экспрессии (транскрипции) ретротранспозонов семейства LINE1 у самцов и самок крыс, получавших разные дозы гидроксида алюминия на протяжении 2 месяцев

Table 2. Relative Expression (Transcription) of LINE1 Retrotransposon Family in Male and Female Rats Exposed to Different Doses of Aluminum Hydroxide Over a 2-Month Period

Пол	Группа	N	Относительный уровень экспрессии в печени (среднее±SD)	Относительный уровень экспрессии в почках (среднее±SD)
Самки	Контроль	3	1,8197±1,898	0,511±0,543
	0,015 мг/кг	6	1,127±0,469	0,938±0,133
	0,15 мг/кг	6	0,865±0,228	0,723±0,233
	1,5 мг/кг	6	1,348±0,902	2,245±1,947
	Тест Крускалла-Уоллиса		H=1,329, p=0,722	H=7,628, p=0,054
Самцы	Контроль	3	1,083±0,198	0,774±0,292
	0,015 мг/кг	6	0,856±0,173	0,706±0,213
	0,15 мг/кг	6	1,013±0,337	1,194±0,368
	1,5 мг/кг	6	1,304±1,22	4,026±5,537
	Тест Крускалла-Уоллиса		H=2,139, p=0,544	H=12,338, p=0,006

Обсуждение. Полученные результаты согласуются с данными литературных источников. Так, ранее была показана активация ретротранспозонов LINE1 вследствие воздействия солей кадмия [8], алюминия [11], ртути [10].

В соматических тканях многие факторы хозяина способствуют подавлению LINE-1 посредством метилирования ДНК, метилирования гистона H3K9 и РНК-интерференции [6]. Сообщалось, что химические вещества из окружающей среды, такие как загрязнители воздуха, тяжелые металлы и бисфенол-А, стимулируют гипометилирование LINE-1 [15-17]. Гипометилирование LINE-1 обычно использовалось в качестве альтернативного показателя уровней метилирования геномной ДНК. Обзор и метаанализ Барчитты и соавторов показали, что гипометилирование LINE-1 часто встречается у онкологических больных [18]. Таким образом, деметилирование транспозонов является основным механизмом активации транскрипции LINE-1.

Экспрессия LINE-1 коррелирует с репликационным стрессом, экспрессией белка p53 и повреждениями ДНК, по крайней мере, в определенных контекстах [19, 20]. Нокаут белка p53 способствует активации L1, что вызывает дестабилизацию геномов и воспалительные реакции, обычно наблюдаемые при раке с мутацией p53 [19]. Другим важным белком, подавляющим активность транспозонов LINE является сиртуин 6 (SIRT6). Предполагается, что генотоксические повреждения способствуют релокации SIRT6 в места повреждения ДНК, создавая окно возможностей для повышения активности L1. Обработка клеток гамма-облучением

или перекисью водорода вызывала быструю мобилизацию SIRT6 из 5'-UTR L1 и приводила к увеличению экспрессии L1. В этом контексте повышение активности L1 в ответ на мобилизацию SIRT6 для репарации ДНК представляет угрозу стабильности генома [21]. LINE-1 в процессе транспозиции способны продуцировать двухцепочечные разрывы (DSB) [22] и запускать апоптоз, опосредованный p53 [23].

Примерно 95% выводимого из организма Al выводится почками [24]. Исследования *In vitro* показывают, что около 10% Al в плазме крови подвергается клубочковой фильтрации [25]. Отфильтрованный Al, по-видимому, по крайней мере частично реабсорбируется, хотя механизмы реабсорбции не выяснены [26]. Есть некоторые намеки на то, что петля Генле - это основное место реабсорбции Al [27]. Также известно, что почки являются одним из органов, в которых происходит накопление поступившего в организм алюминия [28]. Al вызывает окислительные повреждения почек и печени, приводящие к дегенерации и некрозу тканей и связанным с ними биохимическим нарушениям сыворотки [29]. Полученные нами результаты согласуются с данными о почках как одной из основных мишеней токсического действия соединений алюминия.

Заключение. Таким образом, в данной работе мы показали, что субхроническое воздействие высоких доз солей алюминия способно вызвать повышение активности транспозона LINE1, что косвенно свидетельствует о наличии генотоксической активности алюминия.

Список литературы / References:

1. Exley C. Human exposure to aluminium // *Environmental Science: Processes & Impacts*. 2013. Т. 15. №. 10. С. 1807-1816.
2. Exley C. The pro-oxidant activity of aluminum // *Free Radical Biology and Medicine*. 2004. Т. 36. №. 3. С. 380-387.
3. Sushma N.J., Sivalah U., Suraj N.J., Rao K.J. Aluminium acetate: role in oxidative metabolism of albino mice // *Int Zool Res*. 2007. Т. 3. №. 1. С. 48-52.
4. Coufal N., Garcia-Perez J., Peng G. et al. L1 retrotransposition in human neural progenitor cells. *Nature* 460, 11271131 (2009). <https://doi.org/10.1038/nature08248>
5. Yang F., Wang P. J. Multiple LINEs of retrotransposon silencing mechanisms in the mammalian germline // *Seminars in cell & developmental biology*. Academic Press, 2016. Т. 59. С. 118-125.
6. Belancio V. P., Roy-Engel A. M., Pochampally R. R., Deininger P. Somatic expression of LINE-1 elements in human tissues // *Nucleic acids research*. 2010; 38(12): 3909-3922.

7. Navarro F.C. et al. TeXP: Deconvolving the effects of pervasive and autonomous transcription of transposable elements //PLOS Computational Biology. 2019. T. 15. №. 8. C. e1007293.
8. Kale S.P., Carmichael M.C., Harris K., Roy-Engel A.M. et al. The L1 retrotranspositional stimulation by particulate and soluble cadmium exposure is independent of the generation of DNA breaks //International journal of environmental research and public health. 2006. T. 3. №. 2. C. 121-128.
9. Habibi L., Shokrgozar M.A., Motamedi M., Akrami S.M. Effect of heavy metals on silencing of engineered long interspersed element-1 retrotransposon in nondividing neuroblastoma cell line //Iranian Biomedical Journal. 2013. T. 17. №. 4. C. 171.
10. Karimi A., Madjd Z., Habibi L., Akrami S. M. Evaluating the extent of LINE-1 mobility following exposure to heavy metals in HepG2 cells //Biological trace element research. 2014. T. 160. C. 143-151.
11. Karimi A., Madjd Z., Habibi L., Akrami S.M. Exposure of hepatocellular carcinoma cells to low-level As₂O₃ causes an extra toxicity pathway via L1 retrotransposition induction //Toxicology letters. 2014. T. 229. №. 1. C. 111-117.
12. Stribinskis V., Ramos K. S. Activation of human long interspersed nuclear element 1 retrotransposition by benzo (a) pyrene, an ubiquitous environmental carcinogen //Cancer research. 2006. T. 66. №. 5. C. 2616-2620.
13. Farkash E.A., Kao G.D., Horman S.R., Prak E.T.L. Gamma radiation increases endonuclease-dependent L1 retrotransposition in a cultured cell assay //Nucleic acids research. 2006; 34(4); 1196-1204.
14. Gamdzyk M. et al. cGAS/STING pathway activation contributes to delayed neurodegeneration in neonatal hypoxia-ischemia rat model: possible involvement of LINE-1 //Molecular neurobiology. – 2020. – T. 57. – №. 6. – C. 2600-2619.
15. Miao M., Zhou X., Li Y. et al. LINE-1 hypomethylation in spermatozoa is associated with Bisphenol A exposure //Andrology. 2014. T. 2. №. 1. C. 138-144.
16. Oldenburg J., Fürhacker M., Hartmann. et al. Different bisphenols induce non-monotonous changes in miRNA expression and LINE-1 methylation in two cell lines //Environmental Epigenetics. 2021. T. 7. №. 1. C. dvab011.
17. Yohannes Y.B., Nakayama S.M., Yabe J. et al. Methylation profiles of global LINE-1 DNA and the GSTP1 promoter region in children exposed to lead (Pb) // Epigenetics 2022. 17(13). 2377-2388.
18. Barchitta M., Quattrocchi A., Maugeri A., Vinciguerra M., Agodi A. LINE-1 hypomethylation in blood and tissue samples as an epigenetic marker for cancer risk: a systematic review and meta-analysis. PloS one, 2014, 9(10), e109478.
19. Tiwari B., Jones A.E., Caillet. et al. p53 directly represses human LINE1 transposons //Genes & development. 2020. T. 34. №. 21-22. C. 1439-1451.
20. McKerrow W., Wang X., Mendez-Dorantes C. et al. LINE-1 expression in cancer correlates with p53 mutation, copy number alteration, and S phase checkpoint //Proceedings of the National Academy of Sciences. 2022. T. 119. №. 8. C. e2115999119.
21. Van Meter M., Kashyap M., Rezazadeh S. et al. SIRT6 represses LINE1 retrotransposons by ribosylating KAP1 but this repression fails with stress and age //Nature communications. 2014. T. 5. №. 1. C. 5011.

22. Gasior S.L., Wakeman T.P., Xu B., Deininger P.L. The human LINE-1 retrotransposon creates DNA double-strand breaks //Journal of molecular biology. 2006. Т. 357. №. 5. С. 1383-1393.
23. Haoudi A., Semmes O.J., Mason J.M., Cannon R.E. Retrotransposition-competent human LINE-1 induces apoptosis in cancer cells with intact p53 //BioMed Research International. 2004. Т. 2004. №. 4. С. 185-194.
24. Oezen G. et al. Aluminum and ABC transporter activity //Environmental Toxicology and Pharmacology; 2024 108: 104451.
25. Shirley D. G., Lote C. J. Renal handling of aluminium //Nephron Physiology. 2005; 101(4): 99-103.
26. Lote C. J., Wood J. A., Saunders H. C. Renal filtration, reabsorption and excretion of aluminium in the rat //Clinical Science. – 1992. – Т. 82. – №. 1. – С. 13-18.
27. Shirley D. G. et al. Renal aluminium handling in the rat: a micropuncture assessment //Clinical Science 2004; 107(2): 159-165.
28. Aguilar F. et al. Safety of aluminium from dietary intake scientific opinion of the panel on food additives, flavourings, processing aids and food contact materials (AFC) //EFSA J. 2008; 754: 1-34.
29. Igbokwe I. O., Igwenagu E., Igbokwe N. A. Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects //Interdisciplinary toxicology 2019; 12(2): 45.

Поступила/Received: 15.10.2024

Принята в печать/Accepted: 18.11.2024