

ИЗМЕНЕНИЕ КРАТНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА
ПРИ 24-ЧАСОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА НА РАЗНОМ УРОВНЕ ДОЗ

Рябова Ю.В.¹, Каримов Д.О.^{1,2}, Репина Э.Ф.¹, Хуснутдинова Н.Ю.¹, Смолянкин Д.А.¹,
Якупова Т.Г.¹

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

²ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья имени Н.А. Семашко»,

Россия, г. Москва

e-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Аннотация. Изменения параметров системы глутатиона могут служить прогностическим фактором для оценки нарушений здоровья у лиц, подвергающихся воздействию химических факторов производственной среды. Цель исследования - изучить изменение уровня экспрессии генов системы глутатиона при 24-часовом воздействии тетрахлорметана на разном уровне доз. Моделирование острого токсического поражения печени осуществлялось на крысах-самцах с помощью однократного воздействия тетрахлорметана в 6 дозах от 0,125 до 4,0 г/кг массы тела. Кратность экспрессии генов системы глутатиона *Gclc*, *Gstt1*, *Gstm1*, *Gstp1* определена в печени животных по прошествии 24 часов воздействия. Показано, что увеличение кратности экспрессии генов зависит от времени и дозы воздействия тетрахлорметана, а выраженная крутизна наклона кривой доза-ответ указывает на высокую чувствительность организма к токсиканту, где даже небольшие изменения в дозе, начиная с 0,25 г/кг массы тела, могут приводить к значительным изменениям.

Ключевые слова: воздействие, экспериментальные животные, экспрессия генов, система глутатиона, токсический гепатит, зависимость доза-ответ

Согласно данным современной научной литературы, изменения параметров системы глутатиона могут служить прогностическим фактором для оценки риска нарушения здоровья у работников, подвергающихся воздействию химических факторов производственной среды. Так, снижение уровня восстановленного и повышение уровня окисленного глутатиона в цельной крови расценивают как неблагоприятный прогностический критерий с точки зрения развития хронической бронхолегочной патологии у лиц, работающих в контакте с промышленными аэрозолями [1]. Доля окисленного глутатиона возрастает и у работников

металлургического производства, в среднем на 40% превышая таковую у лиц, не подвергающихся воздействию химического фактора на рабочем месте [2]. Полиморфизмы генов *Gstm1* и *Gstt1* связывают с развитием профессиональных аллергических дерматозов и их тяжестью, поскольку у лиц с делецией GSTM1 и GSTT1 наблюдались выраженные изменения в системах перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты [3]. Выявлена ассоциация полиморфизмов генов системы глутатиона с развитием коморбидной сердечно-сосудистой патологии: гомозиготный полиморфизм *Gstt1* 0/0 — фактор риска развития профессиональной патологии на фоне преобладания нормального генотипа *Gstm1*+ [4]. Полиморфизм в локусе глутатион-S-трансферазы *Gstp1* связывают с развитием профессионально-обусловленной астмы [5].

Изменения в системе глутатиона, ключевом компоненте клеточной защиты от токсинов и окислительного стресса, могут служить маркерами для оценки здоровья и предсказания динамики заболеваний, вызванных химическими веществами. Токсическое действие часто зависит от дозы, однако индивидуальная восприимчивость может приводить к различным реакциям даже при одинаковом уровне воздействия. Зависимость «доза-ответ» позволяет оценить текущее воздействие на биологические системы и предсказать дальнейшее развитие патологического процесса.

Таким образом, *цель исследования* - изучить изменение уровня экспрессии генов системы глутатиона при 24-часовом воздействии тетрахлорметана на разном уровне доз.

Эксперимент был запланирован и проведен с учетом требований законодательства Российской Федерации по обращению с лабораторными животными, а также с учетом требований руководства ARRIVE. План-дизайн эксперимента прошел биоэтическую экспертизу, заключение № 02/2022. Животных разделяли на группы случайным образом, каждая группа включала по 6 особей. Раствор тетрахлорметана 50% (ТХМ) вводили однократного подкожного в дозах 0,125, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0 и 4,0 г/кг массы тела аутбредным крысам-самцам возрастом 12-14 недель и массой тела 200-220 г на начало работы. В качестве вещества-носителя для ТХМ выступало рафинированное оливковое масло. Контрольной группе вводили по той же схеме вещество-носитель в аналогичном объеме. По прошествии 24 часов крысы подвергались эвтаназии с помощью углекислого газа с последующей декапитацией, кусочки печени исследовали, оценивая кратность экспрессии генов системы глутатиона *Gclc*, *Gstt1*, *Gstm1*, *Gstp1* на амплификаторе Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия) в присутствии SYBR Green, в качестве гена сравнения использовали ген домашнего хозяйства *Gapdh*. Кривая зависимости «доза-ответ» визуализировалась с помощью прикладного пакета программ для визуализации научных данных GraphPad Prism, версия 8.0.1 (224).

Зависимость влияния различных доз тетрахлорметана на кратность экспрессии генов системы глутатиона через 24 часа от начала воздействия представлена на рисунке. Не зафиксировано дозозависимых изменений кратности экспрессии генов *Gclc* и *Gstm1*, что отразилось на приведенном графике в виде горизонтальной прямой линии.

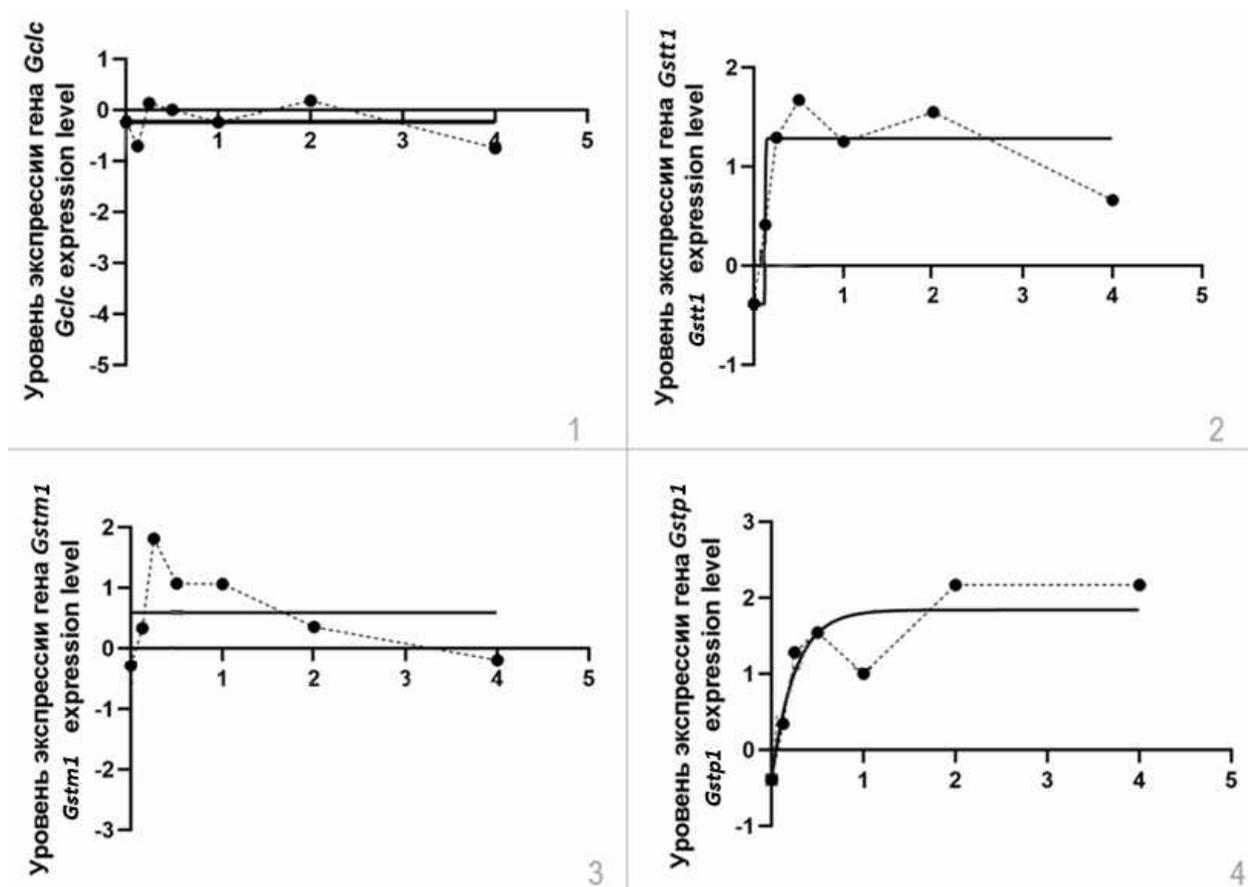


Рисунок - Зависимость влияния различных доз тетрахлорметана на кратность экспрессии генов системы глутатиона *Gclc* (1), *Gstt1* (2), *Gstm1* (3), *Gstp1* (4). По оси ординат указан уровень экспрессии, по оси абсцисс - группы животных, обозначенные по величине полученной дозы, г/кг массы тела.

Gclc, глутамат-цистеинлигаза каталитическая субъединица, кодирует ключевой фермента в синтезе глутатиона. Этот ген может активироваться первым, так как он отвечает за синтез γ -глутамилцистеина, который является предшественником глутатиона [6]. *Gstm1*, глутатион S-трансфераза мю-1, участвует в конъюгации токсичных метаболитов с глутатионом. Этот ген может активироваться после *Gclc*, и его активация может происходить в ответ на увеличение уровня глутатиона, что позволяет организму эффективно выводить токсины [7]. Отсутствие наблюдаемой реакции может быть объяснено особенностями временных рамок активации защитных механизмов, при котором рост кратности экспрессии

генов *Gclc* и *Gstm1* произошел раньше 24 часов от начала воздействия. Ген *Gstt1*, глутатион S-трансфераза тета-1, также участвует в детоксикации, и может активироваться параллельно с *Gstm1*, однако, исходя из полученных данных, при воздействии тетрахлорметана *Gstt1* активируется несколько позже *Gstm1* [7-9]. Вероятно, это указывает на необходимость накопления токсических метаболитов для запуска защитных механизмов. Мы наблюдаем выраженную крутизну наклона кривой доза-ответ после 24-часового воздействия. Вероятно, повышение дозы исследуемого токсиканта до 0,5 г/кг массы уже приводит к значительной реакции организма. Возможно, начиная с этой дозы происходит истощение защитных механизмов организма, и уровень экспрессии гена *Gstt1* резко возрастает как ответ на накопление токсических метаболитов тетрахлорметана. Ген *Gstp1*, глутатион S-трансфераза pi-1, активируется последним в этой цепочке. Известно о его участии в конъюгации глутатиона с широким спектром субстратов, включая ксенобиотики, канцерогены, продукты окислительного стресса [7]. Белки GSTP, предположительно, способны принимать участие в связывании лигандов, которые инициируют клеточный апоптоз при запуске клеточным стрессом [9]. Исходя из изменений кратности экспрессии гена *Gstp1*, визуализированной с помощью кривой доза-ответ, небольшие изменения в дозе токсиканта также приводят к значительным изменениям в эффекте. Вместе с тем, эффект реализуется в более широком диапазоне доз, нежели эффект на кратность экспрессии гена *Gstt1*.

Таким образом, увеличение кратности экспрессии генов системы глутатиона *Gclc*, *Gstm1*, *Gstt1* и *Gstp1* зависит от времени и дозы воздействия тетрахлорметана. Выраженная крутизна наклона кривой доза-ответ после 24 часов воздействия указывает на высокую чувствительность организма к токсиканту, где даже небольшие изменения в дозе, начиная с 0,25 г/кг массы тела, могут приводить к значительным изменениям в экспрессии генов, что подчеркивает важность мониторинга этих параметров для оценки риска нарушения здоровья.

Список литературы

1. Глутатион как прогностический фактор риска нарушения здоровья работающих лиц / Т.В. Блинова [и др.] // Анализ риска здоровью. 2023. № 2. С.140-148
2. Состояние системы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у работающих в разных сферах производства / И.А. Умнягина [и др.] // Медицина труда и экология человека. 2023. №1. С.19-34.
3. Коляскина М.М. Глутатион-S-трансфераза в патогенезе профессиональных заболеваний кожи // Здравоохранение РФ. 2013. №5. С.45-47

4. Исследование генов глутатион-S-трансфераз (GST) T1 и M1 у работников алюминиевой промышленности с коморбидной кардиоваскулярной патологией / Т.К. Ядыкина [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2023. № 63(8). С. 519-527.
5. Glutathione S-transferase GSTP1 is a susceptibility gene for occupational asthma induced by isocyanates / C.E. Mapp, A.A. Fryer, De N. Marzo et al // J Allergy Clin Immunol. 2002. No 109(5). P. 867-872.
6. Glutamate cysteine ligase (GCL) transgenic and gene-targeted mice for controlling glutathione synthesis / I. Mohar, D. Botta, C.C. White et al // Curr Protoc Toxicol. 2009. No 6(16). P.16-39.
7. Glutathione S-transferase π : a potential role in antitumor therapy / S.C. Dong, H.H. Sha, X.Y. Xu et al // Drug Des Devel Ther. 2018/ No. 12. P. 3535-3547.
8. Bolt H.M., Thier R. Relevance of the deletion polymorphisms of the glutathione S-transferases GSTT1 and GSTM1 in pharmacology and toxicology // Curr Drug Metab. 2006. No. 7(6). P. 613-628.
9. Tew K.D., Townsend D.M. Regulatory functions of glutathione S-transferase P1-1 unrelated to detoxification // Drug Metab Rev. 2011. No. 43(2). P. 179-193.