

На правах рукописи



ЯКУПОВА Татьяна Георгиевна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛА ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ АКРИЛАМИДА**

3.2.4. Медицина труда

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Уфа – 2026

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

**Научный
руководитель:**

Каримов Денис Олегович
кандидат медицинских наук

**Официальные
оппоненты:**

Хамидулина Халидя Хизбулаевна
доктор медицинских наук /
Федеральное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф.
Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека,
руководитель Научно-исследовательского
аналитического центра РПОХБВ

Савченко Олег Андреевич
кандидат биологических наук /
Федеральное бюджетное учреждение науки
«Новосибирский научно-исследовательский институт
гигиены» Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека,
ведущий научный сотрудник отдела токсикологии с
санитарно-химической лабораторией

**Ведущая
организация:**

Федеральное бюджетное учреждение науки
«Федеральный научный центр медико-
профилактических технологий управления рисками
здоровью населения» Федеральной службы по надзору в
сфере защиты прав потребителей и благополучия
человека

Защита состоится «23» ноября 2026 г., в __:__ часов на заседании диссертационного совета 24.1.176.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (ФГБНУ «НИИ МТ») по адресу: 105275, г. Москва, пр. Буденного, д. 31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «НИИ МТ» и на официальном сайте ФГБНУ «НИИ МТ» - <https://irioh.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор

Рубцова Нина Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Сохранение здоровья работающего населения, снижение смертности и продление трудового долголетия остаются одними из основных направлений государственной политики Российской Федерации. Химическая промышленность относится к стратегически значимым отраслям экономики, обеспечивающим выпуск продукции органического и неорганического синтеза, полимерных материалов и компонентов для различных сфер промышленности. Многокомпонентная химическая экспозиция способна реализовывать раздражающее, сенсибилизирующее, нейротоксическое, гепатотоксическое, генотоксическое и канцерогенное действие (Бухтияров И.В., 2019; Валеева Э.Т., 2019; Мулдашева Н.А., 2024). Одним из важнейших продуктов химического синтеза является акриламид – мономер, применяемый в качестве исходного сырья для получения полиакриламида и связанных с ним полимерных материалов. Установлено, что акриламид обладает политропным токсическим действием, проявляющимся развитием нейротоксических, гепатотоксических и нефротоксических эффектов, а также канцерогенным потенциалом, который, согласно классификации Международного агентства по изучению рака, отнесён к группе 2А – веществам, вероятно канцерогенным для человека. При этом вопросы о степени его действия и механизмах влияния на структуру ДНК, возможных последствиях воздействия остаются недостаточно изученными (Хачатуров А.Е., 2019; Каримова Л.К., 2021; Пискунов И.В., 2021; Суворова Л.А., 2021; Широкова Е.Ю., 2021; Бухтияров И.В., 2022).

Изложенное обосновывает необходимость проведения специальных экспериментальных исследований, направленных на комплексную оценку токсического действия акриламида как промышленно значимого химического фактора, уточнение молекулярно-клеточных механизмов его повреждающего действия, включая генотоксические и оксидативные эффекты, а также научное обоснование подходов к профилактике акриламид-индуцированных нарушений с использованием новых комплексных соединений оксиметилурацила,

сочетающих потенциальные цитопротекторные и антиоксидантные свойства компонентов, входящих в их состав.

Степень разработанности проблемы исследования. Данные отечественных и зарубежных исследователей свидетельствуют о выраженной токсичности акриламида и о его канцерогенных свойствах (Calleman C.J., 1994; Hagmar L., 2001; Bellicha A., 2022; Zhao M., 2022).

Вопросы о конкретных молекулярных механизмах повреждения клеточных структур, включая пути реализации ДНК-повреждающего действия, остаются недостаточно изученными.

Для минимизации токсических эффектов акриламида, в том числе его ДНК-повреждающего действия, необходимо детальное изучение патогенетических механизмов его токсического воздействия и разработка научно обоснованных профилактических мероприятий с использованием вновь синтезированных комплексных соединений.

Цель исследования: научно обосновать эффективность применения комплексных соединений оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой, сукцинатом натрия и ацетилцистеином в экспериментах *in vitro* и *in vivo* в системе профилактических мероприятий.

Для достижения цели исследования поставлены следующие **задачи**:

1. Определить параметры цитотоксического действия акриламида *in vitro* по показателям клеточной жизнеспособности в зависимости от дозы и длительности экспозиции.
2. Оценить выраженность повреждения ДНК при воздействии акриламида в условиях *in vitro* методом «ДНК-комет» и проанализировать вклад окислительного стресса как одного из ведущих механизмов клеточного повреждения.
3. Охарактеризовать токсическое действие акриламида в эксперименте *in vivo* при острой, подострой и хронической интоксикации на основании совокупности лабораторных показателей и морфофункциональных критериев поражения органов-мишеней.

4. Определить изменения кратности экспрессии генов, включая гены антиоксидантной защиты (*Nfe2l2*, *Sod1*, *Hmox1*, *Nqo1*), II фазы детоксикации и глутатион-зависимых ферментов (*Gclc*, *Gstm1*, *Gstp1*, *Gstt1*), регуляции клеточного цикла при ДНК-повреждении (*Chek1*) и путей клеточной гибели (*Casp7*, *Ripk1*), при различных режимах воздействия, и оценить их информативность в качестве молекулярных маркеров токсического ответа.

5. Провести сравнительную оценку эффективности применения вновь синтезированных комплексных соединений оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой, сукцинатом натрия и ацетилцистеином для минимизации неблагоприятных эффектов акриламида.

Научная новизна

Впервые дана комплексная характеристика повреждающего действия акриламида как промышленно значимого ксенобиотика в моделях *in vitro* и *in vivo* при различных режимах воздействия, включая хроническое. Показано, что токсический ответ на воздействие акриламида носит стадийный и политропный характер и включает цитотоксические, оксидативные, метаболические и молекулярно-регуляторные нарушения.

Получены новые данные о длительном воздействии низких концентраций акриламида, которое сопровождается накоплением повреждений ДНК и стойкой перестройкой клеточных систем антиоксидантной защиты и детоксикации.

Экспериментально обоснована высокая информативность молекулярно-генетических показателей экспрессии генов *Nfe2l2*, *Sod1*, *Hmox1*, *Nqo1*, *Gclc*, *Gstm1*, *Gstp1*, *Gstt1*, *Chek1*, *Casp7* и *Ripk1* как ранних маркеров токсического ответа на воздействие акриламида. Показано, что молекулярные сдвиги формируются на ранних этапах интоксикации и отражают вовлечение систем антиоксидантной защиты, детоксикации, регуляции клеточного цикла и клеточной гибели.

Оценена эффективность профилактики токсических эффектов на основе экспериментальных исследований акриламидной интоксикации с применением оригинальных производных оксиметилурацила. Показано, что среди

исследованных соединений наиболее выраженный профилактический эффект по совокупности биохимических, гематологических, морфофункциональных и молекулярно-генетических показателей обеспечивает комплекс оксиметилурацила с ацетилцистеином, что позволяет рассматривать его как наиболее обоснованный кандидат для дальнейшего доклинического изучения.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о патогенезе акриламидной интоксикации как многоуровневого токсического процесса, реализованного посредством сочетанного вовлечения механизмов оксидативного стресса, повреждения ДНК, нарушений глутатион-зависимой детоксикации, регуляции клеточного цикла и путей клеточной гибели. Полученные результаты углубляют существующие представления о закономерностях формирования токсического ответа при воздействии промышленных ксенобиотиков на примере акриламида как адекватную экспериментальную модель для изучения механизмов химически индуцированного повреждения органов-мишеней.

Теоретическое значение имеют установленные в работе дозо- и времязависимые закономерности цитотоксического действия акриламида условиях *in vitro* и оценка повреждения ДНК в условиях *in vitro* методом ДНК-комет, а также выявленные особенности раннего перекисного ответа и его модификации под влиянием оксиметилурацила *in vitro* в клеточной линии IAR2 с биосенсором НуРег. Показано, что выраженность повреждения определяется не только величиной токсической нагрузки, но и длительностью экспозиции, причем продолжительное воздействие даже низких концентраций акриламида сопровождается накоплением значимых повреждений ДНК.

Установлены изменения экспрессии генов, характеризующих состояние антиоксидантной защиты, детоксикационных систем, регуляции клеточного цикла и клеточной гибели, что обосновывает их использование для углубленного изучения токсического действия промышленных химических факторов.

Определена группа наиболее информативных ранних молекулярных маркеров токсического ответа, которая может быть использована в дальнейших экспериментальных исследованиях при разработке подходов к ранней оценке неблагоприятного действия акриламида.

Установлено, что по совокупности клеточных, молекулярно-генетических, поведенческих, гематологических, биохимических и морфологических показателей состояния организма наиболее перспективным средством профилактики акриламид-индуцированных нарушений является комплекс оксиметилурацила с ацетилцистеином (МГ-10).

Полученные данные могут быть использованы при разработке экспериментально обоснованных подходов к профилактике токсических эффектов химических факторов производственной среды, а также при подготовке специалистов в области токсикологии, медицины труда и молекулярной медицины.

Результаты диссертационной работы использованы при подготовке патента РФ на изобретение № 2843373 «Способ определения дозы перорального поступления акриламида у крыс» от 30 октября 2024 г.

Методология и методы исследования

В исследовании использован комплекс молекулярно-генетических, биохимических, морфологических и поведенческих методов, позволивших оценить токсическое действие акриламида и эффективность его профилактической коррекции в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021–2025 годы «Научное обоснование национальной системы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия, управления рисками здоровью и повышения качества жизни населения России», в соответствии с тематикой НИОКТР № 121062100058-8 «Научное обоснование подходов к оценке токсического действия ксенобиотиков на основе клеточных технологий и модельных объектов».

Положения, выносимые на защиту

1. Акриламид в условиях *in vitro* обладает выраженным цитотоксическим действием, сопровождающимся снижением жизнеспособности клеток, нарушением целостности ДНК и ранними изменениями показателей окислительно-восстановительного баланса.

2. Системное токсическое действие акриламида в условиях экспериментальной острой, подострой и хронической интоксикации *in vivo* носит многоуровневый характер и проявляется изменениями биохимических, гематологических, поведенческих и гистоморфологических параметров, отражающих состояние печени, почек, системы крови и нервной системы.

3. Токсическое действие акриламида реализуется через нарушение гомеостаза, систем антиоксидантной защиты и детоксикации, а также через изменение регуляции клеточного цикла, при этом показатели кратности экспрессии генов *Nfe2l2*, *Sod1*, *Hmox1*, *Nqo1*, *Gclc*, *Gstm1*, *Gstp1*, *Gstt1*, *Chek1*, *Casp7* и *Ripk1* являются информативными молекулярно-генетическими маркерами раннего токсического ответа.

4. Новые комплексные соединения на основе оксиметилурацила (МГ-1, МГ-2, МГ-10) обладают профилактическим потенциалом при акриламид-индуцированном повреждении, который наиболее полно реализуется в условиях *in vivo* и проявляется уменьшением выраженности молекулярно-генетических, биохимических, гематологических и гистоморфологических нарушений.

5. Комплекс МГ-10 характеризуется наиболее выраженной эффективностью и может рассматриваться в качестве наиболее перспективного кандидата для дальнейшего доклинического изучения как средства коррекции акриламидной интоксикации.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены и обсуждены на ряде научных мероприятий: Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Здоровая среда» (Уфа, 2023, 2024, 2026), 88-й, 89-й, 90-й и 91-й Всероссийских научных конференциях студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и

практической медицины» (Уфа, 2024–2026), Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы гигиены и профилактики» (Новосибирск, 2024), Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы гигиены и профпатологии» (Санкт-Петербург, 2024), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гигиены, медицины труда и токсикологии» (Уфа, 2025), а также Всероссийской научно-практической интернет-конференции «Экология человека в фокусе национальных целей развития Российской Федерации» (Нижний Новгород, 2025).

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 28 научных работ, среди которых 15 статей представлены в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) РФ для публикации основных научных результатов диссертаций по научной специальности 3.2.4. Медицина труда, 6 из которых индексируются в международной наукометрической базе данных Scopus.

Личный вклад автора состоит в самостоятельном проведении комплексного анализа современной научной литературы, формулировании цели и постановке задач исследования, выполнении статистической обработки и интерпретации полученных результатов, а также подготовке публикаций по теме диссертации. Личная доля автора в сборе и обработке эмпирического материала, использованного для обоснования основных положений работы, превышает 90%, обобщение и анализ исследовательских данных выполнены полностью автором самостоятельно.

Объём и структура диссертации. Объём и структура диссертации. Диссертационная работа включает введение, четыре главы, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, перечень литературы из 137 источников (95 отечественных и 42 зарубежных). Общий объём работы составляет 180 страниц машинописного текста, работа содержит 15 таблиц и иллюстрирована 70 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Первая глава диссертации посвящена анализу условий труда в химической промышленности, роли акриламида как промышленно значимого ксенобиотика.

В качестве моделей *in vitro* использовали клетки МН-22а и IAR-2-HyPer. Оценивали МТТ-тест, ранние окислительно-восстановительные изменения и повреждение ДНК.

Эксперимент *in vivo* выполнен на 120 лабораторных белых крысах. Протокол одобрен локальным этическим комитетом (протокол № 2 от 20.01.2021). Содержание и проведение манипуляций соответствовали ГОСТ 33215-2014 и международным принципам обращения с лабораторными животными. Акриламид вводили внутривенно: при острой интоксикации – однократно 150 мг/кг, при подострой – 20 мг/кг 5 раз в неделю в течение 28 суток, при хронической – 5 мг/кг 5 раз в неделю в течение 90 суток.

Профилактическую коррекцию проводили комплексными соединениями 5-гидрокси-6-метилурацила: МГ-1 – комплекс оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой, МГ-2 – с сукцинатом натрия (по 50 мг/кг), МГ-10 – с ацетилцистеином (500 мг/кг). Растворы вводили перорально за 1 ч до токсиканта.

Системный токсический ответ оценивали по поведенческим тестам, массе тела и весовым коэффициентам, общему и биохимическому анализу крови, по анализу глутатиона, супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидов, морфологическим изменениям в печени и почках.

В печени и почках определяли экспрессию генов антиоксидантной защиты *Nfe2l2*, *Sod1*, *Hmox1*, *Nqo1*, глутатион-зависимой детоксикации *Gclc*, *Gstm1*, *Gstp1*, *Gstt1*, регуляции ответа на повреждение ДНК *Chek1*, а также клеточной гибели *Casp7* и *Ripk1*. Статистическую обработку проводили в среде Python v.3.12. Использовали описательную статистику, однофакторный дисперсионный анализ, линейные модели и бутстрап-оценки для временных рядов. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Цитотоксическое и ДНК-повреждающее действие акриламида в клеточных моделях

МТТ-тест показал выраженную зависимость жизнеспособности клеток от концентрации акриламида. В диапазоне низких концентраций метаболическая активность клеточной оставалась близкой к контрольной, тогда как при приближении к молярному диапазону происходило резкое падение жизнеспособности, IC50 определялся на уровне 0,89 моль/л (рисунок 1).

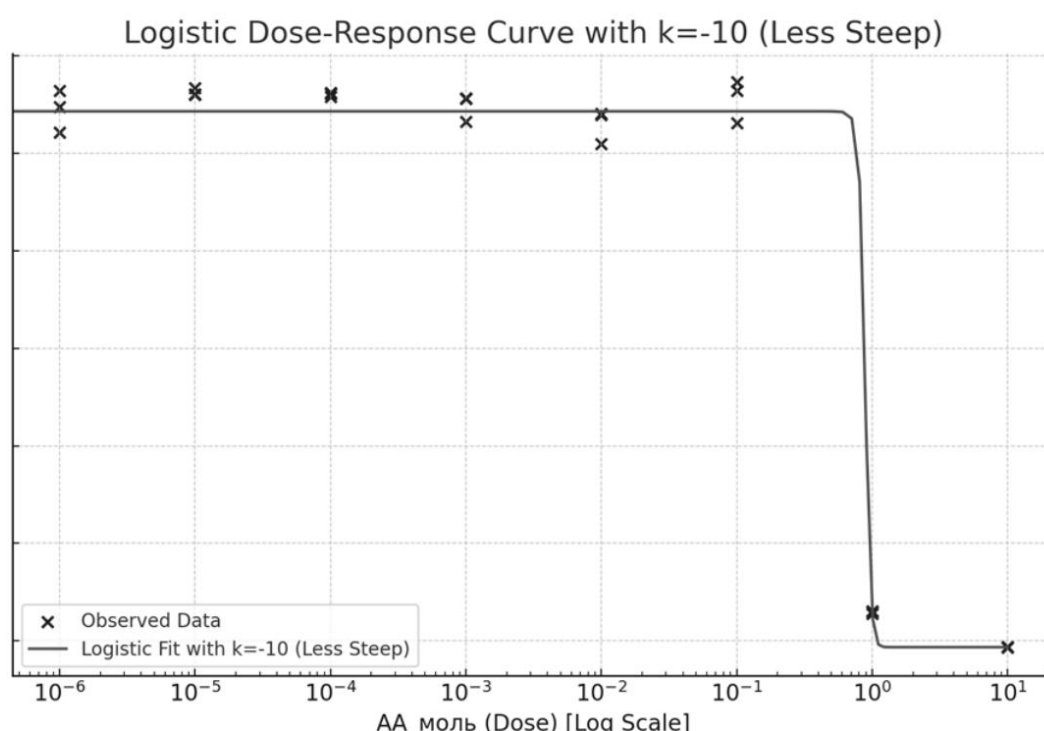


Рисунок 1 – Зависимость жизнеспособности клеток МН-22а от концентрации акриламида и расчет IC50

Регистрация НуPer-сигнала показала, что окислительный ответ формируется в первые минуты после добавления акриламида и имеет концентрационно-зависимую кинетику. При 0,125 и 0,25 моль/л наблюдался прирост сигнала на 24 и 31%.

Метод ДНК-комет выявил, что генотоксический эффект определяется не только концентрацией акриламида, но и длительностью экспозиции. Через 4 ч при 1 мМ показатель ДНК в хвосте существенно не отличался от контроля

($9,62 \pm 0,35$ против $9,07 \pm 0,20\%$; $p=0,545$). Через 24 ч статистически значимый эффект формировался уже при 1 мМ: $15,27 \pm 0,44\%$ ($p=0,001$). Наиболее показательные изменения зарегистрированы при 72-часовой экспозиции. Значимое накопление повреждений определялось уже при 0,1 мМ ($p=0,001$).

Сравнительная оценка МГ-1, МГ-2 и МГ-10 показала неодинаковый профиль их действия в изолированной клеточной системе. Для МГ-10 выявлен ограниченный диапазон частичного защитного действия. При концентрации 1400 и 2810 мкМ хвостовой момент снижался до $3,75 \pm 0,34$ и $3,48 \pm 0,34$ ($p=0,017$ и $p=0,0017$ соответственно).

Острая интоксикация акриламидом и ранние механизмы токсического ответа

Через 24 ч формировался ранний системный токсический ответ с преимущественным вовлечением печени и почек. Наиболее выраженным биохимическим проявлением было повышение активности АСТ до $287,66 \pm 19,78$ Ед/л ($p=0,036$). МГ-2 и МГ-10 уменьшали активность АСТ, для МГ-10 различие с положительным контролем было статистически значимым ($p=0,015$) (рисунок 2). МГ-1 и МГ-2 способствовали восстановлению концентрации альбумина, а МГ-10 сопровождался наиболее выраженным снижением уровня мочевины.

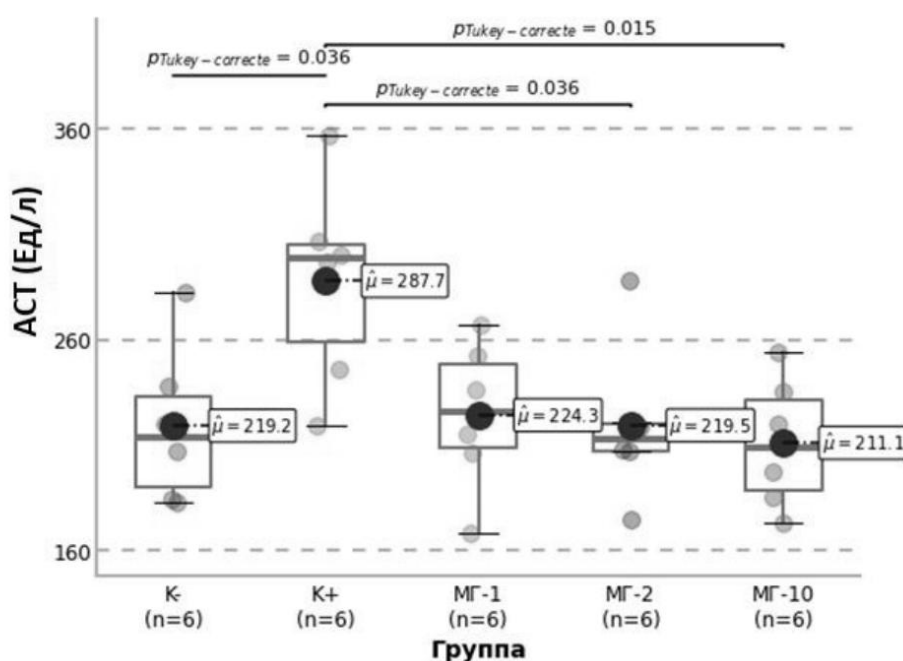


Рисунок 2 – Активность АСТ при острой акриламидной интоксикации и профилактической коррекции

Молекулярные изменения предшествовали структурным нарушениям и затрагивали системы клеточной гибели, антиоксидантной защиты и II фазы детоксикации. В печени акриламид снижал экспрессию *Gstt1* и *Casp7* относительно интактного контроля ($p=0,001$), а также изменял транскрипционную активность *Ripk1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstp1* и *Nfe2l2*. На фоне МГ-10 снижение *Gstt1* было менее выраженным. В почках ранний ответ характеризовался выраженным увеличением *Gstm1* и *Gstp1*. МГ-10 наиболее последовательно ограничивал ранние гепаторенальные проявления токсического процесса.

Подострая интоксикация акриламидом и эффективность профилактической коррекции

При 28-дневном воздействии акриламида токсический процесс приобретал более системный характер. Наиболее ранними функциональными проявлениями были нейроповеденческие нарушения: вертикальная двигательная активность и норковый рефлекс снижались ($p=0,014$).

Со стороны периферической крови подострая интоксикация сопровождалась снижением эритроцитов до $6,50 \pm 0,18 \times 10^{12}/л$ ($p=0,017$) и гемоглобина до $130,33 \pm 1,99$ г/л ($p=0,022$).

Среди биохимических параметров межгрупповые различия выявлены по АСТ и мочеvine, минимальная концентрация мочевины отмечалась в группе МГ-10.

На молекулярном уровне в печени наиболее информативными оказались *Chek1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstt1*, *Gstp1*, *Hmox1* и *Nqo1*. В группе МГ-10 экспрессия *Chek1* достигала 3,18 и была выше, чем в группах МГ-1 и МГ-2, а *Gstp1* – 3,62 ($p=0,01$). Для МГ-2 была характерна выраженная активация *Nqo1* при одновременном снижении *Gstm1* и *Gstt1*. В почках статистически значимые изменения затрагивали *Casp7*, *Ripk1*, *Chek1*, *Hmox1* и *Nqo1*. Во всех группах коррекции повышалась экспрессия *Casp7* и *Ripk1* (рисунок 3).

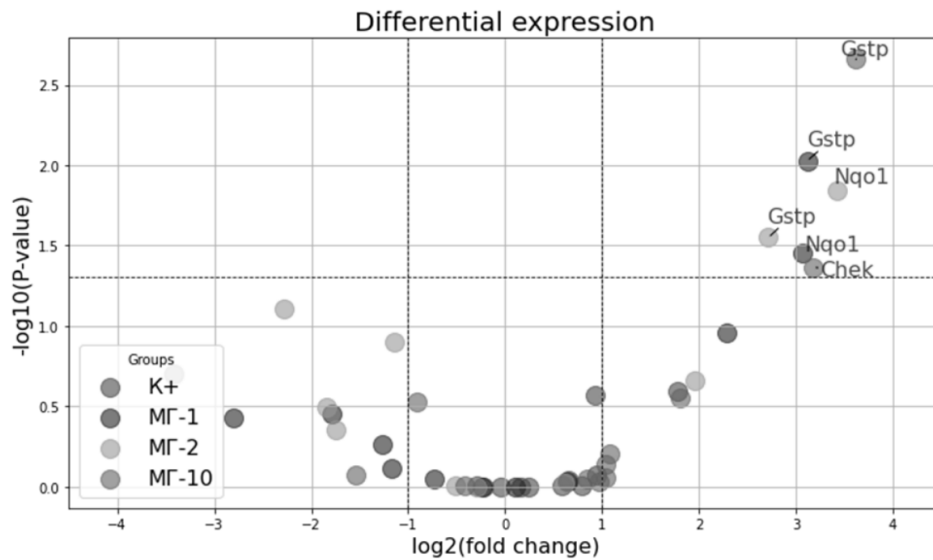


Рисунок 3 – Профиль дифференциальной экспрессии генов в печени при подостром воздействии акриламида и коррекции

Морфологически в положительном контроле через 28 суток в печени отмечались расширение и кровенаполнение синусоидов, очаговый эритростаз и клеточная инфильтрация без некроза. В группах коррекции структура печени была сохранена, воспалительная инфильтрация отсутствовала (рисунок 4).

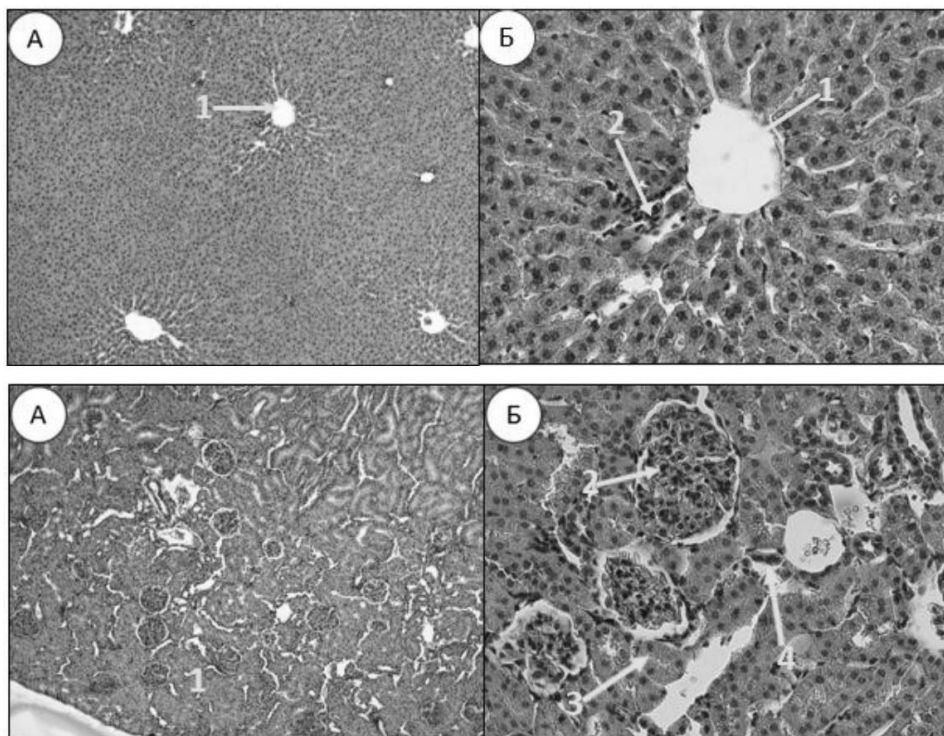


Рисунок 4 – Морфологическая картина печени (верхний ряд) и почек (нижний ряд) крыс положительного контроля через 28 суток воздействия акриламида; окраска гематоксилином и эозином

Хроническое воздействие акриламида и оценка эффективности корректоров

На 45-е сутки выраженная генерализованная токсическая картина не формировалась. Сохранялись изменения эритроцитарного и тромбоцитарного звеньев, гематокрита и антиоксидантного статуса. Межгрупповые различия выявлены по уровню пероксидов ($F=3,96$; $p=0,023$), минимальное значение регистрировалось в группе МГ-2. В группе МГ-10 отмечались минимальные значения АЛТ и ЩФ.

Молекулярно-генетический ответ к 45-м суткам становился менее выраженным. В печени статистически значимые межгрупповые различия сохранялись преимущественно для *Gstp1* ($F=3,79$; $p=0,027$), а для *Gstm1* и *Hmox1* отмечались пограничные тенденции. В печени преобладали умеренные гемодинамические реакции без некроза и выраженной дистрофии, в почках патология отсутствовала.

К завершению 90-дневного эксперимента поведенческие показатели и масса тела оставались без значимых межгрупповых различий. Активность АЛТ была максимальной в группе положительного контроля и статистически значимо снижалась на фоне МГ-2 ($p=0,014$) и МГ-10 ($p=0,009$). Для ЩФ общий межгрупповой эффект имел пограничную значимость ($p=0,051$), при этом ее уровень в группе МГ-2 был ниже положительного контроля. Изменения гематологических параметров касались прежде всего тромбоцитов и лимфоцитов, максимальный гематокрит зарегистрирован в группе МГ-10 ($p=0,032$).

По показателям антиоксидантной системы к 90-м суткам выраженного истощения восстановленного глутатиона не выявлено, что может отражать развитие компенсаторной перестройки.

Показатели токсического ответа представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Ключевые показатели токсического ответа в моделях *in vivo*

Срок	Наиболее значимые изменения при акриламиде
24 ч	АСТ↑, альбумин↓, изменения мочевины, <i>Gstt1</i> , <i>Casp7</i> , <i>Gstp1</i> , <i>Gstm1</i>
28 суток	вертикальная двигательная активность ↓, норковый рефлекс↓, эритроциты↓, Hb↓, <i>Chek1</i> , <i>Gstp1</i> , <i>Hmox1</i> , <i>Nqo1</i>
45 суток	умеренные гематологические сдвиги, ROOH, <i>Gstp1</i>
90 суток	АЛТ↑, изменения тромбоцитов/лимфоцитов, <i>Ripk1</i> (печень), <i>Gstt1/Hmox1</i> (почки)

При этом активность каталазы была наибольшей в группе МГ-10. На молекулярном уровне в печени статистически значимые межгрупповые различия выявлены для *Ripk1* ($p=0,01$), тогда как в почках – для *Gstt1* и *Hmox1* ($p=0,034$ и $p=0,015$). При этом направленность ответа была тканеспецифичной, на фоне МГ-1 наиболее выражено возрастали *Gstt1* и *Hmox1* в почках, а для МГ-10 прослеживались повышенные значения отдельных антиоксидантных и стресс-регуляторных генов в печени.

В печени наблюдались изменения кровенаполнения центральных вен и расширение синусоидов. Почки сохраняли архитектонику.

Сравнительная оценка профилактической эффективности комплексных соединений

Сопоставление экспериментальных моделей показало, что эффективность комплексных соединений зависит от уровня организации биологической системы и длительности воздействия (таблица 2). МГ-1 преимущественно проявлял себя в отношении белоксинтетической функции печени и ряда антиоксидантных генов, однако при подостром опыте сопровождался повышением эмоциональной реактивности. МГ-2 характеризовался выраженными метаболическими и антиоксидантными эффектами, включая снижение пероксидов и активацию отдельных Nrf2-зависимых генов, но не продемонстрировал устойчивой генопротекции *in vitro*.

МГ-10 показал наиболее последовательный многокомпонентный эффект. В клеточной модели он частично снижал акриламид-индуцированное повреждение ДНК. При острой интоксикации ограничивал повышение АСТ и изменения мочевины. В подостром и хроническом экспериментах демонстрировал более благоприятный профиль гематологических, биохимических и экспрессионных показателей. Вместе с тем его действие не являлось универсальным.

Таблица 2 – Сравнительный профиль действия исследованных комплексов

Комплекс	Наиболее выраженные положительные эффекты
МГ-1 (ОМУ + аскорбиновая кислота)	восстановление альбумина при острой интоксикации, отдельные сдвиги <i>Hmox1/Gstt1</i> при длительной экспозиции
МГ-2 (ОМУ + сукцинат натрия)	снижение АСТ в острой модели, снижение пероксидов, активация <i>Nqo1</i> , снижение АЛТ/ЩФ при хронической экспозиции
МГ-10 (ОМУ + ацетилцистеин)	частичное снижение ДНК-повреждений, АСТ и мочевина↓, благоприятная модуляция <i>Gstp1</i> , <i>Chek1</i> , <i>Hmox1</i> , <i>Nfe2l2</i> , АЛТ↓ и гематокрит↑ при хронической экспозиции

Токсическое действие акриламида проявляется как стадийный многоуровневый процесс, на клеточном уровне первыми регистрируются редокс-сдвиги и повреждение ДНК. При острой интоксикации доминируют гепаторенальные биохимические и молекулярные нарушения. При подостром воздействии присоединяются нейроповеденческие и гематологические изменения. При длительной экспозиции формируется фаза частичной адаптации, при которой морфологическая картина может быть относительно благополучной, однако сохраняются функциональные и молекулярные маркеры клеточного стресса и перестройки детоксикационных систем. По совокупности клеточных, биохимических, гематологических, морфологических и молекулярно-генетических критериев наиболее обоснованным кандидатом для дальнейшего доклинического изучения является МГ-10.

ВЫВОДЫ

1. В условиях клеточной модели МН-22а установлено выраженное цитотоксическое действие акриламида. Значение IC₅₀ составило 0,89 моль/л, при концентрации 1 моль/л жизнеспособность клеток снижалась до 5,87±0,17% по сравнению с контрольными значениями, а при концентрации 10 моль/л отмечалось практически полное угнетение метаболической активности клеточного монослоя, что свидетельствует об истощении компенсаторных возможностей клеточной популяции при высокой токсической нагрузке.

2. Акриламид в условиях *in vitro* вызывает ранние изменения внутриклеточного окислительно-восстановительного баланса и повреждение генетического аппарата клетки, выраженность которых определяется концентрацией и длительностью воздействия. В модели IAR-2-HuPer при концентрациях 0,125 и 0,25 М регистрировался транзиторный рост HuPer-сигнала, тогда как при 0,5 М формировался укороченный ответ с быстрым снижением сигнала, что указывает на нарушение поддержания перекисного ответа при высокой токсической нагрузке. По данным ДНК-комет, через 4 часа воздействие 10 мМ акриламида увеличивало процент ДНК в хвосте кометы до 16,22±0,42% против 9,07±0,20% в контроле, через 24 часа при 1 мМ – до 15,27±0,44% против 7,25±0,35%, через 72 часа уже при 0,1 мМ – до 34,19±0,89% против 23,78±0,65% в контроле, что подтверждает значимость длительного малодозового воздействия для накопления ДНК-повреждений.

3. При острой интоксикации *in vivo* акриламид вызывает системное токсическое повреждение с преимущественным вовлечением печени и почек, что определялось по изменению уровня биохимических маркеров. Активность АСТ повышалась до 287,66±19,78 Ед/л против 219,23 Ед/л в интактной группе (p=0,036), а концентрация альбумина снижалась (p=0,004 против контроля), что отражает развитие цитолитического синдрома и нарушение белок-синтетической функции печени. Одновременно отмечалась тенденция к межгрупповым различиям (p=0,056), которая свидетельствует о вовлечении почек и параметров азотистого обмена в ранний токсический ответ.

4. Подострая и хроническая интоксикация акриламидом характеризуется переходом токсического процесса от преимущественно гепаторенальных проявлений к многоуровневым нарушениям со стороны нервной системы, системы крови и метаболического статуса. При подостром воздействии отмечалось снижение вертикальной двигательной активности ($p=0,001$) и норкового рефлекса ($p=0,014$), а также уменьшение количества эритроцитов ($p=0,017$) и гемоглобина ($p=0,022$) относительно интактного контроля. При хроническом воздействии к 90-м суткам относительно интактного контроля сохранялись функционально-метаболические сдвиги, включая повышение АЛТ ($p=0,024$), изменение активности ЩФ ($p=0,051$) и нарушения гематологических показателей, что подтверждает системный характер токсического действия при длительной экспозиции.

5. Молекулярно-генетические изменения при акриламидной интоксикации отражают вовлечение систем антиоксидантной защиты, II фазы детоксикации, регуляции клеточного цикла и программируемой клеточной гибели. При острой интоксикации относительно интактного контроля в печени снижалась кратность экспрессии *Gstt1* ($p=0,001$) и *Casp7* ($p=0,001$), что свидетельствует о раннем нарушении детоксикационного и апоптотического звеньев клеточного ответа. При подостром и хроническом воздействии информативными маркерами адаптационно-компенсаторной перестройки выступали изменения экспрессии *Chek1*, *Gstp1*, *Gstm1*, *Nqo1*, *Hmox1*, *Nfe2l2* и *Ripk1*, включая повышение *Nfe2l2* и *Chek1* в печени на фоне применения МГ-10, *Gstm1* в почках на фоне применения МГ-2.

6. Комплексные соединения на основе оксиметилурацила МГ-1, МГ-2 и МГ-10 обладают разнородным профилем профилактического действия. В модели *in vitro* прямое снижение акриламид-индуцированных повреждений ДНК было ограниченным: МГ-1 и МГ-2 не уменьшали показатель хвостового момента и в ряде концентраций сопровождалось его увеличением, тогда как МГ-10 снижал уровень ДНК-повреждений только в диапазоне 1400–2810 мкМ. В условиях *in vivo* МГ-1 преимущественно способствовал восстановлению белок-

синтетической функции печени, повышая концентрацию альбумина ($p=0,008$), МГ-2 проявлял выраженные антиоксидантные и метаболические эффекты, снижая уровень пероксидов крови ($p=0,023$), а МГ-10 наиболее последовательно ограничивал цитолитические, нефротоксические, гематологические и молекулярные проявления акриламидной интоксикации.

7. Наиболее обоснованным кандидатом для дальнейшего доклинического изучения в качестве средства профилактической коррекции акриламид-индуцированных нарушений является комплекс МГ-10. Его применение при острой интоксикации относительно положительного контроля снижало активность АСТ ($p=0,015$) и уровень мочевины ($p=0,038$). При хроническом воздействии уменьшало активность АЛТ ($p=0,009$) и повышало гематокрит ($p=0,032$). На молекулярном уровне МГ-10 сопровождался благоприятной модуляцией экспрессии *Gstp1*, *Chek1*, *Hmox1* и *Nfe2l2*, что указывает на его способность воздействовать не на отдельные проявления токсического процесса, а на системный многоуровневый ответ, включающий детоксикационные, антиоксидантные, метаболические и регуляторные звенья.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Каримов Д.Д., Рябова Ю.В., Мухаммадиева Г.Ф., Репина Э.Ф., Гарипова З.Р. Транскрипционная активность генов *Gstp* и *Gclc* при длительном воздействии акриламида и профилактической коррекции // Гигиена и санитария. 2025. Т. 104. № 6. С. 787-792.
2. Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Байгильдин С.С., Якупова Т.Г., Хуснутдинова Н.Ю., Шайхлисламова Э.Р., Бакиров А.Б., Гимадиева А.Р., Смолянкин Д.А. Оценка экспрессии генов апоптоза и морфологических изменений в ткани почек при воздействии акриламида и профилактической коррекции // Гигиена и санитария. 2025. Т. 104. № 1. С. 96-100.
3. Якупова Т.Г., Мухаммадиева Г.Ф., Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Каримов Д.О., Смолянкин Д.А., Гарипова З.Р. Транскрипционная активность генов *Casp7*, *Chek1* и *Ripk1* в почках крыс при коррекции токсического воздействия акриламида соединениями оксиметилурацила // Медицина труда и промышленная экология. 2024. Т. 64. № 5. С. 334-339.
4. Кудояров Э.Р., Каримов Д.О., Гизатуллина А.А., Каримов Д.Д., Байгильдин С.С., Якупова Т.Г. Оценка потенцирующего действия микрочастиц полистирола на токсичность акриламида и этанола в

условиях комбинированной обработки культуры клеток гепатоцитов мыши МН-22А // Гигиена и санитария. 2024. Т. 103. № 7. С. 737-743.

5. Хуснутдинова Н.Ю., Репина Э.Ф., Якупова Т.Г., Гимадиева А.Р., Каримов Д.О., Шайхлисламова Э.Р., Бакиров А.Б., Каримов Д.Д., Байгильдин С.С., Черняева Е.Ю. Экспериментальная оценка защитного действия комплексных соединений оксиметилурацила при экстремальном воздействии акриламида // Гигиена и санитария. 2023. Т. 102. № 11. С. 1236-1240.

6. Репина Э.Ф., Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Тимашева Г.В., Шайхлисламова Э.Р., Бакиров А.Б., Гимадиева А.Р., Хуснутдинова Н.Ю., Байгильдин С.С., Ахмадеев А.Р. Особенности метаболических изменений в печени экспериментальных животных при хроническом воздействии акриламида и на фоне его профилактической коррекции // Гигиена и санитария. 2023. Т. 102. № 9. С. 975-980.

7. Мухаммадиева Г.Ф., Якупова Т.Г., Гизатуллина А.А., Валова Я.В., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Хуснутдинова Н.Ю. Влияние комплексных соединений оксиметилурацила на активность генов глутатион-S-трансфераз при подостром воздействии акриламида // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2023. Т. 86. № 7. С. 19-23.

8. Мухаммадиева Г.Ф., Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Валова Я.В., Репина Э.Ф., Кудояров Э.Р. Динамика экспрессии генов глутатион-S-трансфераз при подостром поражении печени акриламидом и на фоне коррекции // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023. № 4 (212). С. 107-112.

9. Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Кудояров Э.Р. Динамика пероксидного ответа клеток IAR-2-HyPer при воздействии акриламида и оксиметилурацила: кинетический анализ методом флуоресцентной микроскопии // Медицина труда и экология человека. 2025. № 4. С. 307-326.

10. Якупова Т.Г., Валова Я.В., Репина Э.Ф., Мухаммадиева Г.Ф., Гизатуллина А.А., Каримов Д.О., Шарипова А.Р. Генотоксические риски профессионального воздействия акриловой кислоты: оценка повреждений ДНК методом ДНК-комет у работников химического производства. Медицина труда и экология человека. 2025; 2: 138-153.

11. Якупова Т.Г., Гизатуллина А.А., Валова Я.В., Кудояров Э.Р., Терегулов Б.Ф., Мухаммадиева Г.Ф., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Гарипова З.Р. Влияние акриламида на повреждение ДНК в гепатоцитах мыши: оценка методом ДНК-комет // Медицина труда и экология человека. 2025. №1. С. 96-112.

12. Якупова Т.Г., Кудояров Э.Р., Каримов Д.О., Каримов Д.Д., Бакиров А.Б., Валова Я.В., Гизатуллина А.А., Гарипова З.Р. Оценка цитотоксичности акриламида на клеточной культуре гепатоцитов МН-22а: определение токсических доз и анализ повреждений ДНК в условиях индуцированного окислительного стресса // Медицина труда и экология человека. 2024. № 4. С. 153-166.

13. Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Якупова Т.Г., Хуснутдинова Н.Ю., Бакиров А.Б., Афанасьева А.А., Валова Я.В., Гизатуллина А.А. Экспрессия генов антиоксидантной защиты при хроническом воздействии акриламида и медикаментозной коррекции // Медицина труда и экология человека. 2024. № 3 (39). С. 163-175.
14. Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Хуснутдинова Н.Ю., Репина Э.Ф., Валова Я.В., Мухаммадиева Г.Ф. Особенность экспрессии генов при токсическом повреждении печени акриламидом // Медицина в Кузбассе. 2023. Т. 22. № 2. С. 81-85.
15. Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Хуснутдинова Н.Ю., Репина Э.Ф., Валова Я.В., Байгильдин С.С. Профилактическое действие комплексных соединений оксиметилурацила на подострое токсическое повреждение печени акриламидом // Медицина труда и экология человека. 2023. № 2 (34). С. 166-176.
16. Якупова Т.Г. Экспрессионная активность генов *Hmox* и *Gclc* при токсическом повреждении печени и почек акриламидом // Национальное здоровье. 2022. № 4. С. 54-58.
17. Каримов Д.Д., Кудояров Э.Р., Каримов Д.О., Мухаммадиева Г.Ф., Кутлина Т.Г., Валова Я.В. Оценка генотоксичности акриламида на культуре клеток гепатоцитов мыши // Медицина труда и экология человека. 2018. № 4 (16). С. 124-129.
18. Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Валова Я.В., Хуснутдинова Н.Ю., Мухаммадиева Г.Ф., Репина Э.Ф. Оценка влияния акриламида на экспрессию гена *Hmox* в печени крыс // Научный медицинский вестник Югры. 2023. Т. 36. № 2. С. 58-61.
19. Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Мухаммадиева Г.Ф., Байгильдин С.С. Изменение гематологических показателей у крыс при длительном воздействии акриламида и возможность их коррекции // Научный медицинский вестник Югры. 2023. Т. 37. № 3. С. 48-53.
20. Каримов Д.Д., Кудояров Э.Р., Репина Э.Ф., Якупова Т.Г., Ахмадишин А.Р., Каримов Д.О. Протекторные свойства комплексных соединений 5-гидрокси-6-метилурацила с аскорбиновой кислотой или n-ацетилцистеином *in vitro* // Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2022. Т. 17. № 3. С. 1160-1163.
21. Якупова Т.Г., Хуснутдинова Н.Ю., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Каримов Д.Д., Валова Я.В. Профилактическая роль комплексных соединений оксиметилурацила в снижении подострого токсического воздействия акриламида на печень: исследование на примере гена *Chek1*. // В сборнике: Актуальные проблемы гигиены и профпатологии. Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 100-летию ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья» Роспотребнадзора. Санкт-Петербург, 2024. С. 434-440.
22. Якупова Т.Г., Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Каримов Д.О., Мухаммадиева Г.Ф. Влияние комплексных соединений оксиметилурацила на экспрессию генов в ткани печени крыс при воздействии акриламида. // В

сборнике: Актуальные вопросы гигиены и профилактики. Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции. Омск, 2024. С. 254-259.

23. Валова Я.В., Гизатуллина А.А., Якупова Т.Г., Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О., Хуснутдинова Н.Ю. Анализ транскрипционной активности генов *Gclс* и *Gstt* при остром токсическом гепатите у крыс. // В сборнике: Здоровая среда - 2023. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией А.Ю. Поповой, А.Б. Бакирова. Российская Федерация, Республика Башкортостан, город Уфа, улица Степана Кувыкина, дом 94, 2023. С. 220-223.

24. Хуснутдинова Н.Ю., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Якупова Т.Г., Байгильдин С.С., Смолянкин Д.А. Экспериментальная оценка потенциальной опасности загрязнения окружающей среды акриламидом. // В сборнике: Здоровая среда - 2023. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией А.Ю. Поповой, А.Б. Бакирова. Российская Федерация, Республика Башкортостан, город Уфа, улица Степана Кувыкина, дом 94, 2023. С. 234-239.

25. Якупова Т.Г., Хуснутдинова Н.Ю., Валова Я.В., Гизатуллина А.А., Мухаммадиева Г.Ф., Репина Э.Ф. Изменение транскрипционной активности генов *Hтох* и *Gclс* при токсическом воздействии акриламида. // В сборнике: Здоровая среда - 2023. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией А.Ю. Поповой, А.Б. Бакирова. Российская Федерация, Республика Башкортостан, город Уфа, улица Степана Кувыкина, дом 94, 2023. С. 246-250.

26. Якупова Т.Г., Каримов Д.Д., Кудояров Э.Р., Байгильдин С.С., Валова Я.В., Гизатуллина А.А. Транскрипционная активность гена *Gclс* при токсическом действии акриламида. // В сборнике: Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье. Материалы XXVI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей. Под редакцией А.М. Сараны [и др.]. Санкт-Петербург, 2023. С. 88-89.

27. Репина Э.Ф., Якупова Т.Г., Мухаммадиева Г.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Ахмадеев А.Р., Гизатуллина А.А. Влияние акриламида на активность гена *Casp7* в печени крыс при подостром воздействии. // В сборнике: Профилактическая медицина-2022. Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией А.В. Мельцера, И.Ш. Якубовой. Санкт-Петербург, 2022. С. 258-261.

28. Каримов Д.Д., Кудояров Э.Р., Якупова Т.Г., Репина Э.Ф., Каримов Д.О. Протекторные свойства комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с аскорбиновой кислотой *in vitro*. // В книге: Коллекции культур клеток человека и животных: современные вызовы и сетевые решения. Сборник тезисов докладов Всероссийской школы-конференции. Санкт-Петербург, 2022. С. 60-62.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

МГ-1 – комплекс оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой

МГ-2 – комплекс оксиметилурацила с сукцинатом натрия

МГ-10 – комплекс оксиметилурацила с ацетилцистеином

ОМУ – оксиметилурацил (5-гидрокси-6-метилурацил)

ЩФ – щелочная фосфатаза

Нб – гемоглобин

ROOH – продукты перекисного окисления липидов

HyPer – генетически кодируемый биосенсор перекиси водорода

IC50 – полумаксимальная ингибирующая концентрация