

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«УФИМСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНЫ ТРУДА И
ЭКОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА»

На правах рукописи



ЯКУПОВА ТАТЬЯНА ГЕОРГИЕВНА

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

3.2.4. Медицина труда

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат медицинских наук
Д.О. Каримов

УФА – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. АКРИЛАМИД КАК ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ТОКСИКАНТ. ПОДХОДЫ К ПРОФИЛАКТИКЕ ЕГО НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ДЕЙСТВИЯ.....	12
1.1 Условия труда и профессиональные риски в химических производствах.....	12
1.2 Акриламид как фактор производственной и внепроизводственной экспозиции.....	15
1.3 Токсикологические эффекты акриламида.....	18
1.4 Молекулярные механизмы акриламид-индуцированного повреждения.....	21
1.5 Современные представления о профилактике химического воздействия и возможностях коррекции акриламид- индуцированных нарушений.....	24
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	27
2.1 Объекты, материалы и дизайн исследования.....	27
2.2 Методы оценки цитотоксического действия акриламида <i>in vitro</i>	29
2.3 Методы оценки окислительно-восстановительных изменений в клеточной модели IAR-2-HyPer.....	31
2.4 Методы оценки повреждений ДНК.....	32
2.5 Методы моделирования токсического действия акриламида <i>in vivo</i>	34
2.6 Профилактическая коррекция токсического и генотоксического действия акриламида.....	41
2.7 Статистическая обработка результатов исследования.....	42
ГЛАВА 3. ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ И ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АКРИЛАМИДА В КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЯХ	46
3.1 Цитотоксическое действие акриламида на клетки МН-22а.....	46
3.2 Ранние редокс-изменения при воздействии акриламида и оксиметилурацила.....	50

3.3	Дозо- и времязависимое повреждение ДНК при воздействии акриламида.....	54
3.4	Влияние соединений МГ-1, МГ-2 и МГ-10 на акриламид-индуцированные повреждения ДНК.....	59
ГЛАВА 4. СИСТЕМНОЕ ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АКРИЛАМИДА И ЕГО ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ <i>IN VIVO</i>		71
4.1	Острая интоксикация акриламидом и ранние механизмы токсического ответа.....	71
4.2	Подострая интоксикация акриламидом и эффективность профилактической коррекции.....	81
4.3	Хроническое воздействие акриламида и оценка эффективности корректоров	101
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....		148
ВЫВОДЫ.....		159
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....		162
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....		164

ВВЕДЕНИЕ

Сохранение здоровья работающего населения, снижение смертности и продление трудового долголетия остаются одними из основных направлений государственной политики Российской Федерации.

На современном этапе охрана здоровья работников основывается на риск-ориентированном подходе, включающем выявление конкретных опасностей, оценку вероятности и тяжести их неблагоприятного воздействия, выделение групп повышенного риска и разработку целевых профилактических мероприятий [5, 7, 45].

Химическая промышленность относится к стратегически значимым отраслям экономики, обеспечивающим выпуск продукции органического и неорганического синтеза, полимерных материалов и компонентов для различных сфер промышленности [57, 68, 79, 88].

Условия труда на данных производствах характеризуются сочетанным воздействием токсичных веществ, шума, неблагоприятного микроклимата, физической и нервно-эмоциональной нагрузок [6, 11, 26, 25, 28, 29, 40, 43]. Многокомпонентная химическая экспозиция способна реализовывать раздражающее, сенсибилизирующее, нейротоксическое, гепатотоксическое, генотоксическое и канцерогенное действие [46, 47].

Несмотря на совершенствование технологических процессов и улучшение условий труда в производствах не всегда удается полностью исключить воздействие вредных производственных факторов, что обуславливает сохранение риска нарушения здоровья работников в виде профессиональной и производственно обусловленной патологии [3, 23, 28, 51, 53, 54].

В этих условиях особое значение приобретает выявление ранних молекулярно-клеточных, оксидативных и метаболических нарушений, возникающих под действием промышленных ксенобиотиков [49, 50, 61, 81].

Одним из важнейших продуктов химического синтеза является акриламид – мономер, применяемый в качестве исходного сырья для получения

полиакриламида и связанных с ним полимерных материалов [48]. Установлено, что акриламид обладает политропным токсическим действием, проявляющимся развитием нейротоксических, гепатотоксических и нефротоксических эффектов [95, 102, 117], а также канцерогенным потенциалом, который, согласно классификации Международного агентства по изучению рака, отнесён к группе 2А – веществам, вероятно канцерогенным для человека [113].

При этом вопросы о степени его действия и механизмах влияния на структуру ДНК, возможных последствиях воздействия остаются недостаточно изученными. В доступной научной литературе представлены лишь отдельные сведения о генотоксических эффектах воздействия акриламида и его метаболитов на клеточные структуры человека и животных [95, 104, 115, 136].

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 [99, 101, 109, 137].

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 HuPer. 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, 6 публикаций в журналах, индексируемых международной наукометрической базой 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.

Объем 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 объем работы составляет 180 страниц машинописного текста, работа содержит 15 таблиц и иллюстрирована 70 рисунками.

ГЛАВА 1. АКРИЛАМИД КАК ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ТОКСИКАНТ. ПОДХОДЫ К ПРОФИЛАКТИКЕ ЕГО НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ДЕЙСТВИЯ

1.1 Условия труда и профессиональные риски в химических производствах

Химическая промышленность относится к числу стратегически значимых отраслей экономики Российской Федерации и характеризуется высокой технологической сложностью, многоступенчатостью производственных процессов, широким спектром перерабатываемого сырья и значительной численностью занятого контингента. В структуре современной промышленности химический комплекс обеспечивает выпуск более 70 тысяч наименований продукции и занятость порядка одного миллиона специалистов [32, 36, 57, 69, 88].

В современных условиях развитие химической отрасли происходит за счет модернизации действующих производств, внедрения новых технологических линий и расширения мощностей высокоавтоматизированных предприятий, что сопровождается не только ростом объемов выпускаемой продукции, но и увеличением численности работников, непосредственно занятых в условиях воздействия комплекса вредных производственных факторов [65, 68, 88].

В то же время устойчивое развитие и конкурентоспособность предприятий химического профиля определяются не только уровнем технологической оснащенности и производственной эффективности, но и возможностью формирования безопасной производственной среды, реализации комплекса профилактических мер, направленных на сохранение здоровья персонала и снижение профессионального риска [4, 22, 33, 66]. Это обусловлено тем, что условия труда и производственная среда выступают одним из важнейших детерминантов трудового потенциала, производительности труда и долгосрочной устойчивости промышленного предприятия [13, 30, 34, 35, 76].

Несмотря на развитие технологической базы отрасли, химическая промышленность сохраняет статус одной из наиболее профессионально опасных сфер деятельности, что связано с использованием широкого спектра реакционноспособных химических соединений, формированием

многокомпонентной производственной экспозиции и возможностью длительного воздействия вредных факторов на организм работающих [128]. Химическая отрасль традиционно относится к числу производств с высоким уровнем профессиональных заболеваний, включая хронические интоксикации, болезни органов дыхания, кожи, а также злокачественные новообразования, индуцированные воздействием промышленных токсикантов [114].

Работа на химических предприятиях сопровождается воздействием многочисленных вредных факторов – токсичных веществ, газов, аэрозолей, пыли, шума, неблагоприятных микроклиматических условий, физических и нервно-эмоциональных перегрузок, что оказывает прямое влияние на состояние здоровья работников [7, 9, 11, 26, 27, 40, 44, 58, 73].

Неблагоприятное действие промышленных химических веществ существенно потенцируется на фоне поведенческих и медико-социальных факторов риска, в частности курения и употребления алкоголя, повышающих индивидуальную восприимчивость к формированию профессиональной и профессионально обусловленной патологии [1, 16, 17, 70, 72, 75].

По данным последних лет, высокий, а в ряде регионов и нарастающий уровень профессиональной заболеваемости работников химической промышленности сохраняется как на национальном, так и на глобальном уровне [130]. Статистика развитых стран также подтверждает масштаб проблемы. Так, в США, по оценке Управления по охране труда, ежегодно регистрируются сотни тысяч случаев заболеваний и десятки тысяч случаев смерти, обусловленных воздействием вредных химических факторов на рабочем месте [118]. В Европе ежегодно регистрируются тысячи новых случаев профессиональных заболеваний у работников химического производства, а в странах с переходной экономикой проблема нередко усугубляется недостаточностью профилактических мероприятий [114, 121, 128]. В глобальном масштабе миллионы работников продолжают подвергаться воздействию опасных химических веществ, несмотря на развитие нормативной базы и систем производственного контроля [135].

Работники химической промышленности подвергаются воздействию множества опасных факторов, формирующих значимые риски для их здоровья [123]. По глобальным оценкам Международной организации труда и ВОЗ, совокупный ущерб от заболеваний и травматизма, связанных с работой, увеличился на 26% за период 2014–2019 гг., причем значительная доля этого ущерба приходится на болезни, обусловленные воздействием промышленных вредностей [130]. Помимо летальных исходов, существенное значение имеют хронические, нередко инвалидизирующие состояния, остающиеся недостаточно заметными в официальной статистике [133].

Особое место в структуре химической промышленности занимают производства акриламида, акрилатов, акриламидсодержащих соединений и полимерных материалов. Эти производства характеризуются сложной химико-технологической схемой, использованием реакционноспособных мономеров, промежуточных продуктов и добавок, а также риском ингаляционной, контактной и комбинированной экспозиции соединениям с раздражающим, сенсibiliзирующим, нейротоксическим и потенциально канцерогенным действием [113]. При производстве полимерных изделий и акриловых материалов условия труда часто характеризуются наличием многокомпонентных смесей химических веществ в воздухе рабочей зоны, что затрудняет как гигиеническую оценку, так и прогнозирование отдаленных последствий для здоровья [7].

На фоне стабильного развития химической промышленности, представленной предприятиями и производственными комплексами, выпускающими широкий спектр продукции органического и неорганического синтеза, нефтехимических материалов, удобрений, пластмасс, косметических и фармацевтических препаратов, наблюдается тенденция к ухудшению условий труда, обусловленная значительной степенью изношенности основных производственных фондов, которая в отдельных случаях варьирует от 80 до 100 % [3, 31, 52]. Указанные обстоятельства приводят к повышению уровня профессиональной заболеваемости, показатели которой на протяжении последних пяти лет значительно превышают среднероссийские значения и достигают 3,18–

3,21 случая на 10 000 работников [6]. В сложившихся условиях особенно важно создавать и внедрять научно обоснованные системы, которые позволяют оценивать профессиональные риски и управлять ими с учетом того, что на работников химической промышленности действует целый комплекс вредных факторов, причем в разных условиях воздействие может сильно различаться [8, 28, 53, 83]. В современных условиях особую актуальность приобретают практические подходы, основанные на доказательной базе, позволяющие оценивать и управлять профессиональными рисками с учетом неоднородности и сочетанного действия вредных производственных факторов на здоровье работников химических предприятий [38, 51, 67].

Несмотря на существенное расширение доказательной базы по вопросам оценки профессиональных рисков в различных секторах промышленности, публикации, посвященные именно комплексному анализу реальных уровней профессионального риска у работников химических производств, по-прежнему представлены преимущественно исследованиями отдельных предприятий и технологических участков, что указывает на недостаточную систематизацию имеющихся данных [3, 38, 53, 54, 67].

Учитывая ярко выраженное комбинированное воздействие химических факторов на предприятиях химического профиля, где воздух рабочей зоны насыщен многокомпонентными смесями вредных веществ, подобное сочетанное многофакторное влияние следует рассматривать как информативную модель – надёжную основу для дальнейшего развития и совершенствования подходов к оценке и управлению профессиональными рисками [45-47].

1.2 Акриламид как фактор производственной и внепроизводственной экспозиции

Акриламид является широко распространенным химическим соединением, используемым в различных промышленных процессах, включая производство полимеров, обработку сточных вод, бумажную промышленность и синтез ряда материалов [94]. Кроме того, акриламид образуется в пищевых продуктах при

термической обработке, что делает его одним из распространенных загрязнителей повседневной среды [94].

Значимость акриламида определяется его присутствием как в производственной среде, так и среди факторов внепроизводственной экспозиции, что делает данное соединение актуальным объектом токсикологических и гигиенических исследований. Акриламид относится к числу веществ, привлекающих пристальное внимание исследователей в связи с его потенциальной канцерогенностью и выраженным нейротоксическим действием [113]. Данное соединение представляет собой органическое вещество из группы амидов ненасыщенных кислот и широко применяется в производстве полиакриламидов, сополимеров и гелеобразующих систем. Международное агентство по изучению рака относит акриламид к вероятным канцерогенам для человека (группа 2А) [108].

В условиях производства основными путями поступления акриламида в организм являются ингаляционный и кожный, реже – пероральный. После попадания в организм акриламид быстро всасывается, хорошо распределяется в тканях и способен преодолевать биологические барьеры. Показано, что после поступления акриламид быстро и практически полностью всасывается в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных и с током крови распределяется в периферических тканях (Рисунок 1.1) [107]. В экспериментальных и клинических исследованиях также продемонстрирована его способность преодолевать плацентарный барьер и барьер кровь–грудное молоко [129]. Эти данные позволяют рассматривать акриламид как соединение, способное достигать практически любых тканей организма.

После абсорбции акриламид метаболизируется, по меньшей мере, двумя основными путями. Первый связан с его конъюгацией с глутатионом при участии глутатион-S-трансфераз, в результате чего образуются меркаптуровые производные, подлежащие выведению из организма. Второй путь реализуется с участием ферментной системы цитохрома P450, прежде всего CYP2E1, и приводит к образованию эпоксидного метаболита – глицидамида, обладающего существенно

большей реакционной способностью по отношению к ДНК и белкам, чем исходное соединение [119].

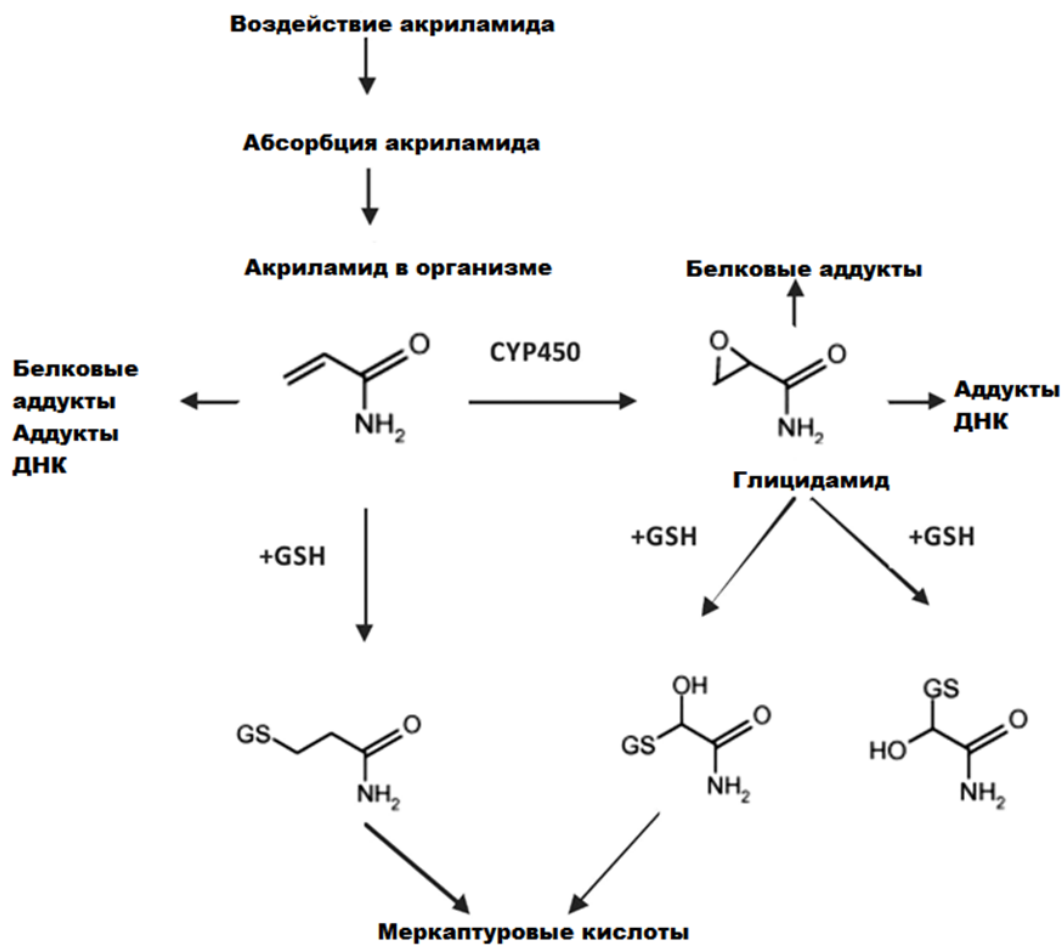


Рисунок 1.1 – Путь метаболизма акриламида в организме экспериментальных животных

Именно метаболическая конверсия акриламида в глицидамид рассматривается как одно из важнейших звеньев его повреждающего действия на генетический аппарат клетки. Глицидамид способен образовывать ковалентные аддукты с ДНК, что приводит к возникновению мутаций и хромосомных aberrаций [108, 112, 124].

Наряду с этим акриламид и его метаболиты образуют стабильные аддукты с белками крови, прежде всего с гемоглобином и альбумином, которые рассматриваются как надежные биомаркеры внутренней дозы и хронической экспозиции [122].

1.3 Токсические эффекты акриламида

Токсическое действие акриламида представляет собой одну из актуальных проблем современной токсикологии, биологии и медицины труда. Особенность данного соединения состоит в том, что оно может присутствовать как в производственной среде, так и в пище, вследствие чего контакт с ним может быть как профессиональным, так и бытовым. Однако именно в условиях производства его воздействие приобретает наибольшую клиническую и профилактическую значимость.

Нейротоксичность считается наиболее чувствительным и наиболее полно изученным эффектом акриламида. Это соединение рассматривается как кумулятивный нейротоксикант как для грызунов, так и для человека [110, 120]. В исследованиях токсичности на грызунах установлено, что повторное введение акриламида в дозах 10 - 50 мг/кг м.т. в сутки вызывало развитие невропатии у большинства лабораторных животных, тогда как однократное воздействие в дозах 100 - 200 мг/кг м.т. приводило к летальному исходу [134].

В условиях *in vitro* показано, что акриламид индуцирует апоптоз в первичных астроцитах крыс, вызывает митохондриальную дисфункцию и апоптоз в микроглиальных клетках [111, 117].

Повреждающее действие акриламида и его основного метаболита глицидамида в отношении генетического аппарата клетки подтверждено в ряде исследований. На мышах показано, что однократные дозы акриламида 10, 20 и 30 мг/кг м.т., а также повторное введение 10 мг/кг м.т. в течение 1 - 2 недель вызывают повреждение ДНК, о чем свидетельствует увеличение количества микроядер и хромосомных aberrаций в клетках костного мозга [95].

При длительном воздействии высоких концентраций акриламида у животных описано развитие опухолей во множестве органов и тканей [104]. Несмотря на это, эпидемиологические данные у человека до настоящего времени остаются неоднозначными. С одной стороны, ряд исследований не выявил убедительных доказательств канцерогенного действия акриламида у людей, подвергавшихся профессиональному или пищевому воздействию [136]. С другой

стороны, имеются данные о связи уровня гемоглобиновых аддуктов акриламида с риском рака молочной железы, а также о возможной ассоциации пищевого поступления акриламида с опухолями эндометрия и яичников у женщин в постменопаузе [131]. В связи с этим Международное агентство по изучению рака в настоящее время классифицирует акриламид как вероятный канцероген для человека.

Следует отметить, что результаты когортных исследований среди рабочих, длительно подвергавшихся высокому уровню экспозиции акриламиду, также не дали однозначных выводов относительно повышения смертности от рака [125]. Тем не менее сам факт наличия убедительной канцерогенности в эксперименте при сохранении эпидемиологической неопределенности делает проблему канцерогенного риска акриламида крайне значимой с позиций профилактической медицины.

Репродуктивная токсичность акриламида у человека изучена недостаточно, однако в экспериментальных исследованиях она продемонстрирована весьма убедительно. У крыс порог ненаблюдаемого неблагоприятного воздействия на репродуктивную систему оценивался в диапазоне от 2 до 5 мкг/кг м.т. /сут. Введение акриламида в дозах от 0,5 до 10 мг/кг м.т. вызывало задержку роста, снижение запасов спермы в придатках яичка и ухудшение репродуктивных показателей по сравнению с контролем. Повторные инъекции акриламида самцам крыс приводили к дозозависимому снижению концентраций тестостерона и пролактина [106]. Аналогичные эффекты описаны и у самок мышей, у которых воздействие акриламида сопровождалось снижением жизнеспособности гранулезных клеток, уменьшением количества желтых тел и продукции прогестерона [132]. Эти данные подтверждают наличие выраженного репродуктивно неблагоприятного потенциала акриламида [98].

Хотя печень является центральным органом метаболизма акриламида, сведения о его гепатотоксичности у человека пока ограничены. В то же время многочисленные экспериментальные исследования свидетельствуют о выраженном неблагоприятном влиянии акриламида на печень, реализуемом

преимущественно через механизмы оксидативного стресса. Так, введение акриламида в дозе 25 мг/кг м.т. в течение 21 дня сопровождалось значительным снижением содержания восстановленного глутатиона в печени, уменьшением общего антиоксидантного статуса, повышением активности сывороточных ферментов печени – АСТ, АЛТ и ЩФ, а также снижением активности супероксиддисмутазы и каталазы при одновременном увеличении общего оксидантного статуса и содержания малонового диальдегида [97]. Поэтому гепатотоксичность акриламида следует рассматривать как важное системное проявление его действия.

Иммунотоксическое действие акриламида изучено в меньшей степени по сравнению с нейро- и ДНК-повреждающими эффектами [104]. Тем не менее имеются данные о том, что у самок мышей линии BALB/c воздействие акриламида вызывало снижение массы тела, селезенки и тимуса, уменьшение числа лимфоцитов и морфологические изменения в лимфатических узлах, тимусе и селезенке [105]. Дополнительную значимость имеет способность акриламида проникать через плаценту, хотя при этом прямая связь между пренатальной экспозицией и иммунологическими нарушениями у потомства установлена не во всех исследованиях [96].

Особый интерес представляют данные о субклинических изменениях системы крови у работников, подвергающихся воздействию акриламида. В недавнем наблюдательном исследовании показано, что профессиональная экспозиция к акриламиду ассоциирована с увеличением числа моноцитов и среднего объема тромбоцитов при одновременном снижении количества лимфоцитов, тромбоцитов и эритроцитов по сравнению с неэкспонированной группой [116]. Хотя такие изменения не являются строго специфичными, они свидетельствуют о системном действии акриламида и необходимости углубленного медико-биологического мониторинга групп риска.

Таким образом, накопленные данные убедительно показывают, что акриламид оказывает многоуровневое токсическое действие, реализующееся через нейротоксические, ДНК-повреждающие, гепатотоксические, иммунотоксические

и репродуктивно неблагоприятные эффекты, что определяет его высокую значимость для медицины труда.

1.4 Молекулярные механизмы акриламид-индуцированного повреждения

В настоящее время акриламид-индуцированное повреждение рассматривается как многоуровневый патологический процесс, в основе которого лежат развитие окислительно-восстановительного дисбаланса, истощение антиоксидантных механизмов, генотоксические нарушения, митохондриальная дисфункция и активация каскадов программируемой клеточной гибели [60, 61, 93].

Согласно современным представлениям, система Nrf2/Keap1 рассматривается как один из центральных механизмов поддержания клеточного редокс-баланса. При развитии окислительного или электрофильного стресса Nrf2 высвобождается из комплекса с Keap1, перемещается в ядро, взаимодействует с белками семейства sMaf и связывается с ARE/EpRE-последовательностями, что сопровождается индукцией транскрипции генов антиоксидантной и цитопротекторной направленности [85-87]. К числу наиболее значимых эффекторных звеньев Nrf2-зависимого цитопротекторного ответа относятся Hmox1, Nqo1, антиоксидантные ферменты и компоненты глутатионовой и тиоредоксиновой систем. Показано, что снижение функциональной активности Nrf2 сопровождается уменьшением экспрессии его генов-мишеней, ослаблением устойчивости клеток к окислительному стрессу и повышением чувствительности тканей к действию электрофильных токсикантов, включая усиление нейротоксических эффектов акриламида [21, 86, 103].

В норме Nrf2 удерживается в цитоплазме в комплексе с Keap1 и подвергается убиквитин-протеасомной деградации. При действии ксенобиотиков, в том числе соединений электрофильной природы, происходит модификация редокс-чувствительных цистеиновых остатков Keap1, что ослабляет его ингибирующее влияние на Nrf2, способствует транслокации последнего в ядро и запуску транскрипции генов цитопротекторной направленности. В связи с этим Nrf2-зависимый сигнальный путь рассматривается как один из ключевых адаптационно-

компенсаторных механизмов, ограничивающих выраженность токсического повреждения [39, 63, 71].

Одним из ведущих звеньев акриламид-индуцированного повреждения является дестабилизация глутатионовой системы и нарушение функционирования ферментов II фазы биотрансформации. Детоксикация акриламида в значительной степени реализуется через его конъюгацию с восстановленным глутатионом при участии глутатион-S-трансфераз с последующим образованием меркаптуровых производных, подлежащих выведению. При избыточной токсической нагрузке истощение пула GSH и угнетение GST-зависимого звена защиты способствуют нарастанию оксидативного стресса и повышению чувствительности клетки к действию активных форм кислорода [49, 50, 92].

Важное значение при этом имеют межиндивидуальные различия активности ферментов фазы I и II биотрансформации, включая CYP2E1, GSTM1, GSTT1 и GSTP1. Предполагается, что наличие функциональных вариантов этих генов способно определять различия в эффективности детоксикации акриламида и в индивидуальной чувствительности к его токсическому действию [81].

Существенным звеном патогенеза акриламид-индуцированного повреждения выступают нарушения митохондриального гомеостаза. Показано, что воздействие акриламида сопровождается дестабилизацией внутриклеточных мембран, сдвигами энергетического и липидного обмена, активацией перекисных процессов и формированием воспалительно-деструктивных изменений, что в совокупности указывает на вовлечение митохондриальной дисфункции в развитие токсического эффекта [14, 62, 93].

В патогенезе акриламид-индуцированного повреждения формируется самоподдерживающийся механизм, при котором нарастание окислительного стресса усугубляет митохондриальную дисфункцию, а снижение эффективности митохондриального энергообеспечения, в свою очередь, способствует дальнейшему усилению свободнорадикальных и метаболических нарушений. Особая значимость данного процесса определяется высокой метаболической

активностью печени и нервной ткани, что делает их особенно чувствительными к нарушениям биоэнергетического гомеостаза [10, 42, 74].

Помимо окислительного стресса существенную роль в токсическом действии акриламида играет генотоксический компонент, сопровождающийся повреждением ДНК и активацией сигнальных путей клеточного ответа на геномный стресс. При возникновении структурных нарушений ДНК в клетке запускаются каскады, опосредованные киназами ATM и ATR, которые через эффекторные молекулы CHEK2 и CHEK1 обеспечивают остановку клеточного цикла, активацию репаративных процессов и, при необратимости повреждения, переключение клетки на путь программируемой гибели [20]. Таким образом, CHEK1 и CHEK2 следует рассматривать как молекулярные регуляторы, определяющие выбор клетки между реализацией репаративного ответа и запуском механизмов элиминации при необратимом повреждении генома. Другим важным проявлением токсического поражения органов-мишеней является активация программируемой клеточной гибели. Центральное место в реализации апоптоза занимает семейство каспаз – цистеиновых протеаз, образующих каскадную систему. При этом эффекторные каспазы, включая каспазу-7, обеспечивают завершающий этап апоптотического процесса, расщепляя ключевые клеточные субстраты и способствуя формированию апоптотических телец [55, 89, 91].

Наряду с апоптотическим путем, существенное место в механизмах токсического повреждения занимает некроптоз, ключевым регуляторным компонентом которого является RIPK1. Эта протеинкиназа участвует в координации альтернативных сценариев клеточной судьбы. В зависимости от молекулярного контекста она может быть вовлечена как в ограничение каспазозависимой гибели, так и в запуск сигнального каскада регулируемого некроза [18].

Существенное значение в системе тканевой цитопротекции имеют антиоксидантные гены *Hmox1*, *Nqo1*, *Sod1* и другие компоненты редокс-регуляции. Супероксиддисмутаза 1-го типа обеспечивает превращение супероксид-аниона в перекись водорода, тем самым ограничивая накопление активных форм кислорода,

тогда как снижение активности или экспрессии *Sod1* способствует усилению окислительного стресса. Гемоксигеназа-1, кодируемая геном *Hmox1*, относится к стресс-индуцируемым ферментам и участвует в катаболизме гема с образованием молекул, обладающих антиоксидантным и цитопротекторным действием. В связи с этим индукция *Hmox1* рассматривается как одна из адаптационно-защитных реакций, направленных на ограничение воспалительно-деструктивных изменений, в том числе в ткани печени [15, 24, 90].

Таким образом, токсическое действие акриламида реализуется через совокупность взаимосвязанных молекулярно-клеточных нарушений, имеющих многоуровневый характер. К числу ведущих звеньев относятся развитие оксидативного стресса, истощение глутатионовой системы, активация Nrf2-зависимых механизмов антиоксидантной защиты, повреждение ДНК с вовлечением сигнального каскада ATM/ATR–Chk1/Chk2, митохондриальная дисфункция, а также индукция каспазозависимого апоптоза и *Ripk1*-опосредованных форм клеточной гибели. Именно сочетанное действие указанных механизмов лежит в основе системного характера токсического эффекта акриламида [59, 61, 81, 82, 93,].

1.5 Современные представления о профилактике химического воздействия и возможностях коррекции акриламид-индуцированных нарушений

Профилактика неблагоприятного действия химических факторов в условиях производства традиционно основывается на принципах гигиенического нормирования, инженерной защиты, совершенствования технологических процессов, снижения уровней экспозиции в воздухе рабочей зоны, использования средств индивидуальной защиты и проведения периодических медицинских осмотров [3, 19, 37, 56, 77]. В отношении акриламида эти подходы сохраняют базовое значение, однако с учетом его многоуровневого токсического действия особую актуальность приобретают данные о ранних субклинических маркерах повреждения и веществах, способных воздействовать на ключевые звенья токсического процесса. Это формирует предпосылки для разработки

патогенетически обоснованных подходов к профилактической коррекции акриламид-индуцированных нарушений.

В рамках поиска средств профилактической коррекции вредного действия ксенобиотиков особое значение приобретает изучение веществ, способных ограничивать развитие оксидативного стресса, стабилизировать мембранные структуры, поддерживать антиоксидантную защиту, снижать выраженность митохондриальной дисфункции и опосредованно влиять на активацию путей программируемой клеточной гибели. Данный подход особенно логичен при акриламидной интоксикации, поскольку именно оксидативный стресс, истощение глутатионовой системы, нарушение работы антиоксидантных ферментов и повреждение митохондрий считаются центральными звеньями ее патогенеза [59, 61, 81, 82, 93]. В этой связи особый интерес представляют соединения, обладающие антиоксидантными и цитопротекторными свойствами. Их использование потенциально может ограничивать накопление активных форм кислорода, способствовать поддержанию ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты, уменьшать повреждение мембран и снижать выраженность вторичных молекулярно-клеточных нарушений. Одним из перспективных направлений является изучение соединений оксиметилурацила, поскольку предполагаемые механизмы их действия патогенетически соотносятся с ключевыми звеньями токсического действия акриламида [2, 80, 81].

Обоснованность интереса к соединениям оксиметилурацила определяется, во-первых, ведущей ролью оксидативного стресса в реализации токсических эффектов акриламида; во-вторых, необходимостью поиска средств, способных влиять не только на отдельные биохимические показатели, но и на молекулярные механизмы клеточного ответа; в-третьих, недостаточной разработанностью вопроса о фармакологической коррекции акриламид-индуцированных поражений в экспериментальных моделях. Исследование соединений оксиметилурацила как потенциальных средств профилактической коррекции акриламидной интоксикации является патогенетически оправданным и актуальным как с фундаментальных, так и с прикладных позиций.

Анализ литературы показывает, что химическая промышленность, особенно производства акриламида, акрилатов, полимеров и сополимеров, относится к числу отраслей с высокой профессиональной опасностью, в которых воздействие вредных производственных факторов носит комплексный, длительный и многоуровневый характер. Среди химических агентов особое место занимает акриламид, широко используемый в технологических процессах и обладающий способностью поступать в организм различными путями, быстро распределяться в тканях и метаболизироваться с образованием высокореактивного глицидамида.

Современные данные свидетельствуют о том, что акриламид обладает выраженным нейротоксическим, генотоксическим, репродуктивно неблагоприятным, гепатотоксическим и иммунотоксическим действием. Реализация его токсических эффектов опосредована развитием оксидативного стресса, нарушением работы антиоксидантной системы, истощением глутатионового звена, митохондриальной дисфункцией, повреждением ДНК и активацией сигнальных путей, связанных с апоптозом и некроптозом. Несмотря на значительное количество экспериментальных и эпидемиологических исследований, многие вопросы, касающиеся органоспецифичности повреждения, динамики молекулярных изменений и возможностей патогенетически обоснованной фармакологической коррекции, остаются недостаточно изученными.

Изложенное выше определяет актуальность дальнейшего экспериментального изучения токсического действия акриламида и поиска соединений, способных ограничивать выраженность его повреждающих эффектов. С учетом ведущей роли оксидативного стресса и молекулярных механизмов клеточного повреждения представляется целесообразным исследование протекторных свойств соединений оксиметилурацила как потенциальных средств фармакологической коррекции акриламид-индуцированных нарушений.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты, материалы и дизайн исследования

В качестве объектов исследования использованы культура клеток гепатоцитов мыши линии МН-22а, культура эпителиальных и мезенхимальных клеток печени крысы IAR-2-HuPer и половозрелые самцы крыс линии Wistar, содержащиеся в условиях вивария при стандартном световом и температурном режиме со свободным доступом к воде и корму.

Для достижения цели и решения поставленных задач было проведено научное исследование, включающее следующие этапы:

1. Проведение МТТ-теста на культуре клеток гепатоцитов мыши линии МН-22а, направленное на оценку цитотоксического действия акриламида, определение концентраций, вызывающих снижение метаболической активности клеток, и расчет значений полумаксимальной ингибирующей концентрации.

2. Исследование внутриклеточных окислительно-восстановительных изменений на культуре клеток IAR-2-HuPer с применением генетически кодируемого биосенсора HuPer, обеспечивающего регистрацию динамики пероксида водорода и позволяющего выявить роль окислительного повреждения в реализации генотоксического действия акриламида.

3. Исследование одонитевых разрывов ДНК в культуре клеток МН-22а методом щелочного электрофореза индивидуальных клеток в агарозном геле (ДНК-комет), позволяющее оценить степень генетического повреждения при воздействии акриламида.

4. Проведение экспериментов на животных моделях, позволяющее оценить системные эффекты острого, подострого и хронического воздействия акриламида, включая морфологические и молекулярные изменения.

5. Оценка профилактической эффективности комплексов оксиметилурацила в сочетании с аскорбиновой кислотой, янтарной кислотой и ацетилцистеином на животных моделях воздействия акриламида по биохимическим, гематологическим, морфологическим, поведенческим и молекулярно-генетическим показателям, а также параметрам антиоксидантной системы и весовым коэффициентам органов.

Все экспериментальные процедуры с лабораторными животными проводились в строгом соответствии с международными стандартами гуманного обращения и правилами надлежащей лабораторной практики. Содержание, кормление и выведение животных из эксперимента осуществлялись с соблюдением принципов минимизации страданий и количества используемых особей. Этапы проведенных исследований представлены на Рисунке 2.1.



Рисунок 2.1 – Этапы проведенных исследований

2.2 Методы оценки цитотоксического действия акриламида *in vitro*

Эксперимент по оценке влияния акриламида на культуру клеток проводили на культуре клеток гепатоцитов мыши МН-22а, поставленной компанией «БиолоТ» (Россия). Методические принципы исследования основывались на рекомендациях Р.Я. Фрешни («Культура животных клеток», 2010), а также соответствовали положениям методики СТР14.621.21.0008.12-2015 «Методика определения цитотоксичности веществ МТТ-тестом на культуре нормальных клеток человека НЕК293».

В качестве среды для культивирования использовали модифицированную среду Игла (МЕМ) с добавлением солей Хэнкса и глутамина (ПанЭко, Россия), обогащенную 10% сыворотки крупного рогатого скота (Biosera, Франция). Клетки выращивали при температуре 37 °С, относительной влажности 99% и концентрации углекислого газа 5%. Стабильность указанных параметров обеспечивалась с помощью инкубаторов NU-4950E (NuAire, США) и HF100 Trigas Incubator (Heal Force, Китай).

В ходе исследований акриламид вносился в концентрациях, определенных предварительными тестами на жизнеспособность клеток. Подбор дозировок осуществлялся с учетом литературных данных и результатов этапов валидации, что позволяло оценить влияние как субтоксических, так и выраженных токсических режимов воздействия.

Мониторинг численности клеток в процессе пассирования осуществляли с применением автоматизированной системы подсчета клеток LUNA-II (Logos Biosystems, Южная Корея). Для культивирования и поддержания оптимальной плотности клеточной популяции использовали флаконы с площадью дна 25 см² (SPL Life Sciences, Южная Корея).

Моделирование токсического воздействия проводилось в стерильных 96-луночных планшетах с адгезивным покрытием (Corning Incorporated, США). Клетки высевали в количестве 30 000 клеток на одну лунку, что обеспечивало равномерное покрытие дна в один слой. Перед началом эксперимента ежедневно проводили оптическую оценку состояния клеточной культуры с использованием

микроскопа Zeiss Axio Imager.D2 (Zeiss, Германия). В рамках оценки токсических эффектов клеточные культуры экспонировали с различными концентрациями акриламида: 10; 1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001 и 0,000001 М. Каждая из исследуемых концентраций тестировалась в трехкратной независимой постановке эксперимента.

Для определения жизнеспособности клеток использован колориметрический метод МТТ, который основан на способности метаболически активных клеток восстанавливать 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-тетразолий бромид (ПанЭко, Россия) с образованием окрашенного формазана. Рабочий раствор реактива предварительно готовили за сутки до постановки эксперимента, растворяя исходное вещество в стерильном физиологическом растворе натрия хлорида (0,9%) до конечной концентрации 5 мг/мл, после чего фильтровали стерилизующим методом через мембрану диаметром пор 0,2 мкм (Corning Incorporated, США).

Клетки инкубировали в питательной среде с добавлением МТТ до конечной концентрации реактива 0,5 мг/мл на протяжении 3 часов. По завершении инкубации среду удаляли и вносили диметилсульфоксид (PanReas AppliChem, Италия) для растворения сформировавшегося формазана. Полученные растворы подвергали дополнительной инкубации в планшетном ридере Feyond-A300 (Allsheng, Китай) при температуре 37 °С и минимальной скорости орбитального перемешивания в течение одного часа. Оценку оптической плотности растворов формазана осуществляли спектрофотометрически при длинах волн 530 и 620 нм.

Экспериментальные данные подвергали нормализации посредством коррекции на фоновую оптическую плотность питательной среды, измеренную в контрольных лунках, не содержащих клетки, согласно рекомендациям, указанным в методике СТР14.621.21.0008.12-2015. Для полученных значений в каждой исследуемой группе рассчитывали средние арифметические величины и соответствующие показатели стандартного отклонения. Анализ выживаемости клеток проводился с использованием логистической модели, описывающей дозозависимый эффект. Подбор параметров осуществляли методом нелинейной оптимизации, минимизируя разницу между фактическими и предсказанными значениями.

2.3 Методы оценки окислительно-восстановительных изменений в клеточной модели IAR-2-HyPer

Для оценки ранних редокс-изменений, индуцированных акриламидом, а также анализа модифицирующего влияния оксиметилурацила использовали клеточную модель IAR-2-HyPer, позволяющую в режиме реального времени регистрировать изменения внутриклеточного уровня перекиси водорода.

Клетки культивировали в среде DMEM/F-12 (1:1), дополненной 10% эмбриональной фетальной сывороткой, L-глутамином и антибиотиком, при 37 °C, 5% CO₂ и высокой влажности. Стабильную линию IAR-2-HyPer получали путем трансфекции плазмиды pHyPer-cyto с последующей селекцией на G-418 и отбором клонов с равномерной цитозольной экспрессией сенсора. В качестве тест-агента использовали акриламид в концентрациях 0,125; 0,25 и 0,5 М; в качестве модифицирующего воздействия – оксиметилурацил в концентрации 210 мкМ. Дополнительно формировали отрицательный и положительный контроль. Клетки высевали в 96-луночные планшеты в плотности 3×10^4 клеток на лунку, через 24 ч после посева проводили замену среды и регистрировали HyPer-сигнал в течение 30 мин. Корректность регистрации сигнала контролировали при микроскопическом наблюдении в тех же полях зрения.

Статистическую обработку результатов проводили с учетом как временной динамики HyPer-сигнала, так и интегральных характеристик перекисного ответа. Для количественной оценки суммарной выраженности редокс-изменений для каждой экспериментальной серии рассчитывали площадь под кривой (area under the curve, AUC), отражающую общий уровень зарегистрированного сигнала в течение всего периода наблюдения. Значения AUC использовали в качестве интегрального показателя интенсивности внутриклеточного H₂O₂-зависимого ответа с последующим межгрупповым сравнением.

Для анализа различий между экспериментальными группами применяли дисперсионный анализ с последующим множественным сравнением по критерию Тьюки. Дополнительно для оценки устойчивости полученных различий и уточнения доверительных интервалов для AUC использовали бутстрап-подход.

Анализ временной динамики сигнала HyPer осуществляли с помощью смешанных линейных моделей, позволяющих учитывать как фиксированные эффекты экспериментальных условий (концентрация акриламида, наличие оксиметилурацила, время наблюдения), так и случайную вариабельность между отдельными повторами.

2.4 Методы оценки повреждений ДНК

Для оценки повреждений ДНК, индуцированных акриламидом, применен метод ДНК-комет в эксперименте *in vitro* на культуре гепатоцитов мыши линии МН-22а, что позволило воспроизвести эффекты профессиональной экспозиции в контролируемых лабораторных условиях.

Методологические процедуры соответствовали нормативным положениям методических рекомендаций МР 4.2.0014-10 «Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет *in vitro*». Для поддержания культуры клеток применялась модифицированная среда Игла (IMEM) (ПанЭко, Россия), обогащенная 10% эмбриональной сывороткой крупного рогатого скота (Gibco, США), а также растворами L-глутамина (1%, PanReac AppliChem, Германия) и антибиотиков пенициллин-стрептомицин (1%, Thermo Fisher, США). Культивирование осуществлялось в стандартных условиях, предусматривающих концентрацию CO₂ на уровне 5%, поддержание температуры 37 °C и относительную влажность 95%. Для создания такой микросреды использовались инкубационные системы типа Binder C150 (Binder, Германия), что обеспечивало стабильное сохранение физиологических параметров, необходимых для роста и жизнедеятельности клеток.

Перед экспериментом клетки пассировались с использованием 0,25% раствора трипсина-ЭДТА (Gibco, США), затем дважды отмывались фосфатно-солевым буфером (PBS, pH 7,4) и суспендировались в свежей среде. Количество жизнеспособных клеток оценивалось методом трипанового синего в камере Горяева. Концентрация клеточной суспензии доводилась до 1×10^6 клеток/мл.

Эффект акриламида оценивался при его воздействии в концентрациях 0,1 мМ, 0,2 мМ, 1 мМ и 10 мМ. Для моделирования экспозиции клетки инкубировались в стандартных 24-луночных планшетах (Corning Incorporated, США) в присутствии тестируемых концентраций вещества.

Были использованы три режима инкубации:

1. Кратковременное воздействие (4 часа) – клетки экспонировались без метаболической активации при 1 мМ и 10 мМ акриламида.
2. Метаболическая активация – для оценки роли биотрансформации акриламида проводилась 24-часовая индукция микросомальных ферментов полихлорированными бифенилами (ПХБ), после чего добавлялась 0,2 мМ, 1 мМ и 10 мМ акриламида с последующей 4-часовой инкубацией.
3. Длительное воздействие (72 часа) – клетки экспонировались при низких концентрациях (0,1 мМ, 0,2 мМ и 1 мМ) без активации микросомальной системы.

Анализ степени деструкции молекул ДНК осуществлялся методом однонитевого гель-электрофореза (тест «ДНК-комет»), руководствуясь протоколом, изложенным в МР 4.2.0014-10. По завершении инкубационного периода клетки подвергались обработке трипсином, затем дважды промывались в охлажденном фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,4) и суспендировались в 0,5%-ном растворе легкоплавкой агарозы (Lonza, США). Образованная клеточная суспензия аккуратно наносилась на микропрепараты, покрытые предварительным слоем 1%-ной агарозы, после чего дополнительно фиксировались вторым слоем агарозы (0,5%-ным).

Для лизиса клеток применялся щелочной раствор (10 мМ Tris-HCl, 2,5 М NaCl, 100 мМ ЭДТА-Na, 1% Тритон X-100, pH 10), в котором образцы инкубировались при 4 °С в течение одного часа. Затем микропрепараты переносились в щелочной электрофоретический буфер (0,3 М NaOH, 1 мМ ЭДТА-Na, pH 13) на 20 минут при 4 °С, после чего осуществлялся электрофорез (20 мин при напряженности поля 1 В/см) в горизонтальной системе (Bio-Rad, США).

После завершения электрофореза препараты нейтрализовались в 0,4 М Tris-HCl (pH 7,5) и окрашивали SYBR Green I (Thermo Fisher, США) в течение 20 минут.

Анализ микропрепаратов проводились с использованием флуоресцентного микроскопа Zeiss Axio Imager.D2 (Zeiss, Германия) с камерой Axio Cam MRc5.

Обработку изображений и измерение параметров ДНК-комет проводили в программе ImageJ 1.48 (Wayne Rasband, США). В качестве основного показателя повреждения ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте кометы.

Данный метод позволил выявить степень повреждения ДНК при различных режимах воздействия акриламида и оценить роль метаболической активации в его ДНК-повреждающем эффекте.

2.5 Методы моделирования токсического действия акриламида *in vivo*

Исследование на лабораторных животных было одобрено локальным этическим комитетом ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» Роспотребнадзора (протокол №2 от 20.01.2021 г.). Содержание животных осуществлялось в специально оборудованном виварии указанного учреждения, с соблюдением всех необходимых санитарно-гигиенических норм. Условия содержания, режим кормления, уход за животными и их эвтаназия после завершения эксперимента осуществлялись в строгом соответствии с рекомендациями, изложенными в национальном стандарте ГОСТ 33215-2014 («Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными»). Все процедуры исследования были выполнены с соблюдением фундаментальных международных стандартов «International guiding principles for biomedical research involving animals» (Council for International Organizations of Medical Sciences, International Council for Laboratory Animal Science, 2012).

В исследовании задействовано 120 аутбредных белых крыс в возрасте примерно четырех месяцев (таблица 2.5.1). Животные были распределены по экспериментальным группам следующим образом: по 6 самок (средняя масса тела $218,65 \pm 1,29$ г, варьирующая в пределах $\pm 20\%$ от среднего веса всей совокупности) отбирались для проведения острого и подострого опыта, и по 6 самцов (средняя масса тела $228,75 \pm 1,24$ г, также не выходящая за пределы $\pm 20\%$ от среднего веса всех животных) – для выполнения подострого и хронического экспериментов.

Каждому животному присваивали индивидуальный идентификационный номер и соответствующую маркировку группы для точной идентификации принадлежности к определенной экспериментальной выборке.

Таблица 2.5.1 – Дизайн проведенных экспериментов

Вариант эксперимента	Группы животных	Число жив.	Доза токсиканта, мг/кг м.т.	Доза ПК, мг/кг м.т.	Длительность эксперимента	Способ введения
Острая интоксикация	Контроль интактный	6	0	0	24 часа (1 введение АА)	Внутрижелудочно
	Контроль положительный	6	150	0		
	МГ-1	6	150	50		
	МГ-2	6	150	50		
	МГ-10	6	150	500		
Подострая интоксикация	Контроль интактный	6	0	0	4 недели (28 дней) (20 введений АА)	Внутрижелудочно
	Контроль положительный	6	20	0		
	МГ-1	6	20	50		
	МГ-2	6	20	50		
	МГ-10	6	20	500		
Хроническая интоксикация	Контроль интактный	12	0	0	12 недель (90 дней) (60 введений АА)	Внутрижелудочно
	Контроль положительный	12	5	0		
	МГ-1	12	5	50		
	МГ-2	12	5	50		
	МГ-10	12	5	500		

Для воспроизведения модели острой интоксикации крысам однократно вводили раствор акриламида (АА) концентрацией 0,2 % в дозе 150 мг/кг массы тела посредством внутрижелудочного зондирования. Животным группы «Контроль интактный» аналогичным способом вводили стерильную деионизированную воду в идентичном объеме. Животным, отнесенным к экспериментальным группам («Контроль положительный», «МГ-1», «МГ-2» и «МГ-10»), также однократно вводили раствор акриламида аналогичной концентрации и дозы.

Подострая модель интоксикации предусматривала идентичный принцип распределения животных по группам и аналогичную схему внутрижелудочного введения акриламида в дозе 20 мг/кг массы тела ежедневно по рабочим дням на протяжении одного месяца.

Хроническая модель интоксикации осуществлялась путем регулярного внутрижелудочного введения раствора акриламида в дозе 5 мг/кг массы тела пять раз в неделю в течение трех месяцев. В рамках хронического эксперимента основные показатели фиксировались в середине и в конце исследования.

Дозировки были выбраны таким образом, чтобы индуцировать явное токсическое действие без чрезмерной нагрузки на организм. Фиксация животных при введении вещества осуществлялась в положении головой вверх с использованием специального внутрижелудочного зонда, который аккуратно проводился через заднюю стенку глотки до желудка.

Внутрижелудочное введение применялось в качестве базовой методики, так как этот способ воспроизводит естественный путь поступления вещества в организм, обеспечивает адекватное воздействие пищеварительных процессов на всасывание токсиканта, позволяет точно контролировать дозирование с учетом ферментативной активности желудочно-кишечного тракта, а также минимизирует стресс и болевые ощущения у животных.

Для оценки состояния животных на протяжении эксперимента проводились регулярные наблюдения за их общим самочувствием. Еженедельно фиксировались показатели массы тела, завершающее взвешивание осуществлялось перед декапитацией. Анализ физиологических, цитологических, генетических и биохимических параметров проводился как у контрольных, так и у экспериментальных животных.

Обследование проводилось в соответствии с характеристиками, представленными в Таблице 2.5.2. В приведенной таблице указаны виды и количество проведенных анализов, что обеспечило системный подход к сбору данных. Заданные параметры позволили провести комплексную оценку распределения акриламида в исследуемых органах и системах.

Оценка высшей нервной деятельности осуществлялась с применением моделей «Открытое поле» (вертикальная двигательная активность (ВДА), горизонтальная двигательная активность (ГДА)) на установке «Тест Открытое поле» (UGO Basile, Итальянская Республика), «Норковый рефлекс» на установке «Норковая камера» (UGO Basile, Итальянская Республика). Эмоциональная реактивность определялась по количеству дефикационных болюсов.

Таблица 2.5.2 – Перечень и объем выполненных анализов

Характеристика проведенных экспериментов		
Критерий	Характеристика	Объем
Количество животных	Аутбредные крысы с массой 210-230 грамм	120 животных
Группы	К-, К+, МГ-1, МГ-2, МГ-10	5 групп
Весовой коэффициент	Отношение веса органа (печени и почек) к общему весу тела (%)	240 взвешиваний
Поведенческие реакции	«Открытое поле», ВДА, ГДА, «Норковый рефлекс», ЭР	720 наблюдений
Б/х анализы	АСТ, АЛТ, ЛДГ, ЩФ, ТГ, белок, альбумин, МК, мочевины, ХСТ	2400 анализов
Гематологические анализы	ОАК с лейкоформулой	1920 анализов
Генетические анализы	<i>Casp7, Chek1, Gclc, Gstm1, Gstp1, Gstt1, Hmox1, Nfe2l2, Nqo1, Ripk1, Sod1</i>	2640 анализов
ИФА	Каталаза, глутатион, пероксидаза, супероксиддисмутаза	32 анализа
Морфология	Морфологическая оценка состояния почек и печени	80 анализов

После декапитации проводилось препарирование с макроскопической оценкой внутренних органов. Для объективной количественной характеристики изменений использовался весовой коэффициент, который рассчитывается как отношение массы органа к массе тела животного (выражается в процентах). Такой коэффициент позволяет выявить как гипертрофические, так и атрофические изменения, отражающие патологические или адаптивные состояния под воздействием экспериментальных факторов.

Гематологические исследования включали определение количества лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, уровня гемоглобина, величины гематокрита, а также относительного содержания лимфоцитов, моноцитов и

гранулоцитов в лейкоцитарной формуле. Анализы осуществлялись на автоматическом гематологическом анализаторе ГЕМА-8-01 («Астра», Россия).

Исследование биохимических параметров сыворотки крови проводилось на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BTS 350 («Biosystems», Испания) и включало оценку активности аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), а также измерение концентрации триглицеридов, общего белка, альбумина, мочевой кислоты, мочевины и общего холестерина.

Анализ осуществлялся с применением стандартных фотометрических методов, адаптированных для работы на данном оборудовании. Использовались тест системы «Вектор-Бест» (Россия).

Определение уровня антиоксидантных ферментов, включая восстановленный глутатион, супероксиддисмутазу и каталазу и пероксидазу, проводилось в образцах сыворотки крови с использованием автоматического иммуноферментного анализатора «Лазурит» (Dyplex Technologies, Франция).

Гомогенизировали ткань печени и почек лабораторных животных в жидком азоте. Добавили 1 мл «ExtractRNA» (Евроген, Россия), инкубировали 10 минут при комнатной температуре, перемешали пипетированием и на вортексе. Лизаты хранили при -70°C . Разморозили полученные лизаты при комнатной температуре, затем центрифугировали 10 минут и перенесли супернатант в чистую пробирку, избегая жировой пленки. Добавили 0,2 мл хлороформа, встряхнули 15 секунд, но не использовали вортекс, после чего центрифугировали 10 минут. Отобрали водную фазу, избегая интерфазы, добавили 0,5 мл хлороформа, встряхнули и снова центрифугировали 5 минут. Перенесли верхний слой в чистую пробирку, добавили 0,5 мл изопропанола, перемешали на вортексе и центрифугировали 10 минут. Отобрали супернатант, осадок промыли дважды 80% этанолом, затем удалили его и высушили осадок 5–7 минут при комнатной температуре или 1–2 минуты при $60\text{--}65^{\circ}\text{C}$. Растворили осадок в воде, свободной от нуклеаз, перемешали и прогрели до $55\text{--}60^{\circ}\text{C}$ на 3–5 минут. Полученная РНК была готова к дальнейшему использованию.

Концентрацию и чистоту РНК оценивали на спектрофотометре Nano Drop OneC (США). Синтез первой цепи комплементарной ДНК осуществляли методом обратной транскрипции (ОТ-ПЦР).

Количественный анализ экспрессии генов *Sod1*, *Nfe2l2*, *Casp7*, *Gstp1*, *Gstm1*, *Gstt1*, *Gclc*, *Ripk1*, *Hmox1*, *Nqo1*, *Chek1* и *Gapdh* проводили методом полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени на автоматическом термоциклере RotorGene Q («Qiagen», Германия).

Названия исследуемых генов и соответствующие последовательности локус-специфических олигонуклеотидных праймеров представлены в таблице 2.5.3.

Таблица 2.5.3 – Последовательность олигонуклеотидных праймеров для анализа уровня экспрессии изучаемых генов

Ген		Последовательность праймеров	Gene ID	Последовательность целевой РНК
Сокращенное название	Полное название			
1	2	3	4	5
<i>Sod1</i>	superoxide dismutase 1	F-5'-CGA-GCA-TGG-GTT-CCA-TGT-C-3' R-5'-CTG-GAC-CGC-CAT-GTT-TCT-TAG-3'	24786	NM_017050.1
<i>Nfe2l2</i>	NFE2 like bZIP transcription factor 2	F-5'-CCC-GAG-TTA-CAG-TGT-CTT-AAT-3' R-5'-TGG-TAA-TTG-CTG-TCC-ATC-TC-3'	83619	NM_031789.3
<i>Casp7</i>	caspase 7	F-5'-CCC-GCT-ACA-AGA-TCC-CGG-TG-3' R-5'-GCA-CAA-ACC-AGG-AGC-CCT-TTC-3'	64026	NM_022260.4
<i>Gstp1</i>	glutathione S-transferase pi 1	F-5'-TGC-GTC-TGA-GAT-ACT-TCA-TCG-TCC-3' R-5'-GGT-GTA-CGG-TGG-CAT-AGC-TG-3'	24426	NM_012577.2
<i>Gstm1</i>	glutathione S-transferase mu 1	F-5'-AAG-CAC-CAC-CTG-TGT-GGA-GAG-3' R-5'-ATG-AGC-TGC-ATG-CGG-TTG-TC-3'	24423	NM_017014.2
<i>Gstt1</i>	glutathione S-transferase theta 1	F-5'-TGA-GCA-CCT-CAG-CGA-TGC-C-3' R-5'-ACT-TGT-GCG-CCA-GGT-AGA-GC-3'	25260	NM_053293.2
<i>Gclc</i>	glutamate-cysteine ligase	F-5'-AGT-ATT-CTG-AAC-TAC-CTG-AAG-CTA-A-3' R-5'-CTC-TCA-TCC-ACC-TGG-CAA-CA-3'	25283	NM_012815.2

Продолжение таблицы 2.5.3

1	2	3	4	5
<i>Ripk1</i>	receptor interacting serine/threonine kinase 1	F-5'-AGT-AGA-GTC-AAC-TTC-CAG-GCA-T-3' R-5'-TGG-GGT-TCA-GGT-GTT-TAT-CAG-TC-3'	306886	NM_001107350.1
<i>Hmox1</i>	heme oxygenase 1	F-5'-CTC-ACA-GAC-AGA-GTT-TCT-TCG-C-3' R-5'-GCT-GAT-CTG-GGA-TTT-TCC-TCG-G-3'	24451	NM_012580.2
<i>Nqo1</i>	NAD(P)H quinone dehydrogenase 1	F-5'-CCT-GGT-GAT-ATT-TCA-GTT-CCC-3' R-5'-CTA-CAA-GCA-CTC-TCT-CAA-ACC-3'	24314	NM_017000.3
<i>Chek1</i>	checkpoint kinase 1	F-5'-ATA-CTG-GTT-GAC-TTC-CGG-CT-3' R-5'-CGC-TGA-GCT-TCC-CTT-TAA-TCT-T-3'	140583	NM_080400.2
<i>Gapdh</i>	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	F-5'-ATG-ATT-CTA-CCC-ACG-GCA-AG-3' R-5'-CTG-GAA-GAT-GGT-GAT-GGG-TT-3'	24383	NM_017008.4

Общая схема ПЦР для оценки экспрессионной активности генов была следующей. Реакционная смесь (общим объемом 15,2 мкл) содержала 1,3 мкл 10×ПЦР-буфера (оптимизированного для проведения реакции с использованием SYBR Green), 0,5 мкл смеси 5 мМ dNTP, 0,18 мкл Taq-полимеразы, необходимое количество деионизированной воды (8,82 мкл) до объема 15,2 мкл, а также по 0,8 мкл прямого и обратного праймеров, предварительно разбавленных до концентрации 1 ОЕ/мл, 0,2 мкл DMSO для уменьшения образования вторичных структур, 0,1 мкл SYBR Green для флуоресцентного контроля синтеза продукта и 2,5 мкл кДНК в качестве матрицы для анализа экспрессии генов.

Для гистологического исследования ткани печени были зафиксированы в нейтральном забуференном 10%-м растворе формалина, приготовленном на фосфатном буфере (pH=7,4). После фиксации образцы прошли стандартный процесс гистологической проводки, включающий дегидратацию в возрастающих концентрациях спиртов, обработку ксилолом и последующую заливку в парафин для формирования парафиновых блоков на оборудовании для заливки образцов (Sakura Tissue-Tek 6, Япония). Из подготовленных парафиновых блоков на

ротационном микротоме Leica RM 2125 RTS («Leica Biosystems», Германия) готовили гистологические срезы толщиной 5–7 мкм. Окрашивание срезов осуществляли по классической методике гематоксилином и эозином с последующим заключением препаратов в среду для иммерсии Limonen mounting medium («Abcam Limited», США). Визуализацию и последующий анализ микропрепаратов выполняли при помощи цифровой имиджинговой системы Celena X («Logos Biosystems», Южная Корея) при увеличении $\times 100$ и $\times 400$.

2.6 Профилактическая коррекция токсического и генотоксического воздействия

В рамках исследования также оценивалось действие препаратов коррекции (ПК). В каждом эксперименте три группы животных (МГ-1, МГ-2, МГ-10) получали внутривенно ПК.

Группа МГ-1 получала профилактическую коррекцию комплексным соединением 5-гидрокси-6-метилурацила (оксиметилурацил) и аскорбиновой кислоты, группе МГ-2 вводили комплекс 5-гидрокси-6-метилурацила и сукцината натрия, а группе МГ-10 – комплекс 5-гидрокси-6-метилурацила с ацетилцистеином. Используемые вещества были синтезированы в лабораториях Института химии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук под руководством к.х.н. А.Р. Гимадиевой.

Для профилактической коррекции токсических эффектов растворы указанных соединений, приготовленные на основе дистиллированной воды, вводились перорально животным за 1 час до воздействия токсиканта. Концентрации применяемых растворов составляли: для комплексов МГ-1 и МГ-2 – 0,5 % в дозе 50 мг/кг массы тела, для комплекса МГ-10 – 5 % в дозе 500 мг/кг массы тела. Для оценки возможности коррекции цитотоксического действия акриламида корректирующие агенты добавляли в питательную среду одновременно с акриламидом, обеспечивая их совместное воздействие на клетки в течение всего периода инкубации.

2.7 Статистическая обработка результатов исследования

Статистическую обработку результатов исследования проводили на персональном компьютере в среде Python с использованием библиотек *NumPy*, *Pandas*, *SciPy*, *Statsmodels*, *Matplotlib*, *Seaborn* и *adjustText*. Исходные данные импортировали из таблиц форматов Microsoft Excel и CSV. Расчеты, статистический анализ и графическую визуализацию выполняли в среде Jupyter Notebook. Для количественных показателей определяли среднее арифметическое значение (M) и стандартную ошибку среднего (m). Среднее арифметическое вычисляли по формуле:

$$M = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (1)$$

где x_i – отдельное значение признака, n – число наблюдений. Стандартную ошибку среднего рассчитывали по формуле:

$$m = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

где s – выборочное стандартное отклонение, определяемое как:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - M)^2}{n-1}} \quad (3)$$

Полученные результаты представляли в виде $M \pm m$. Статистически значимыми считали различия при уровне вероятности ошибки первого рода $p < 0,05$.

При анализе результатов метода ДНК-комет первичные измерения, полученные для отдельных комет, предварительно агрегировали на уровне каждого обследуемого. Для этого по каждому индивидуальному наблюдению рассчитывали средние значения длины хвоста кометы, процента ДНК в хвосте и хвостового момента. Такой подход применяли для исключения псевдорепликации и использования в межгрупповом сравнении независимых индивидуальных

значений, а не отдельных комет как зависимых повторных измерений. Хвостовой момент определяли по формуле:

$$\text{Tail Moment} = \frac{\text{Tail Length} \times \text{Tail DNA}}{100} \quad (4)$$

где Tail Length – длина хвоста кометы, Tail DNA – процент ДНК, локализованной в хвосте кометы.

Для оценки межгрупповых различий количественных показателей использовали однофакторный дисперсионный анализ (*one-way ANOVA*). Анализ проводили по модели:

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij} \quad (5)$$

где X_{ij} – значение признака у j -го объекта в i -й группе, μ – общее среднее значение признака, α_i – эффект групповой принадлежности, ε_{ij} – случайная ошибка. Статистическую значимость общего межгруппового эффекта оценивали по F-критерию:

$$F = \frac{MS_{between}}{MS_{within}} \quad (6)$$

где $MS_{between}$ – средний квадрат межгрупповой вариации, MS_{within} – средний квадрат внутригрупповой вариации. При выявлении статистически значимых различий по результатам дисперсионного анализа выполняли апостериорные попарные сравнения между всеми исследуемыми группами с использованием критерия Тьюки (Tukey HSD) с поправкой на множественные сравнения. При попарном анализе оценивали разность между средними значениями групп с расчетом скорректированного p -уровня значимости. В общем виде сравнение основывалось на величине:

$$q = \frac{|\bar{X}_i - \bar{X}_j|}{\sqrt{\frac{MS_{within}}{2} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}}$$

(7)

где $\overline{X}_i$ и $\overline{X}_j$ – средние значения сравниваемых групп, n_i и n_j – объемы соответствующих выборок, MS_{within} – средний квадрат внутригрупповой вариации. Парные различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для графического представления результатов межгруппового сравнения использовали диаграммы размаха, дополненные нанесением индивидуальных наблюдений с небольшим случайным горизонтальным смещением, что позволяло одновременно оценить медиану, межквартильный размах, разброс значений и плотность распределения данных внутри каждой группы. На отдельных графиках дополнительно отмечали средние значения показателей. Для обобщенного представления отдельных результатов использовали графики средних значений со стандартной ошибкой среднего, где по оси ординат откладывали величину показателя, а вертикальные отрезки соответствовали $M \pm m$.

Для визуализации направленности и выраженности межгрупповых изменений молекулярных показателей строили диаграммы типа *volcano plot*. По оси абсцисс откладывали логарифм по основанию 2 от кратности изменения показателя между исследуемой и контрольной группами:

$$\log_2 FC = \log_2 \left(\frac{E_{exp}}{E_{ctrl}} \right) \quad (8)$$

где E_{exp} – значение показателя в исследуемой группе, E_{ctrl} – значение показателя в контрольной группе. По оси ординат откладывали отрицательный десятичный логарифм р-уровня значимости:

$$-\log_{10}(p) \quad (9)$$

Такое преобразование позволяло одновременно оценивать величину эффекта и его статистическую значимость. В качестве порогов биологически и статистически значимых изменений использовали значения $|\log_2 FC| > 1$, что соответствует изменению показателя более чем в 2 раза, и $p < 0,05$, что на графике соответствует уровню $-\log_{10}(p) > 1,301$. Объекты, одновременно

удовлетворявшие обоим критериям, рассматривали как наиболее значимо отличающиеся и дополнительно маркировали на графике. Для предотвращения наложения текстовых подписей применяли алгоритм автоматического разнесения меток.

Визуализацию данных и результатов статистического анализа выполняли с использованием библиотек *Matplotlib* и *Seaborn*. На графиках указывали названия групп, объем выборки и значения статистической значимости для достоверных попарных различий. Такой подход обеспечивал количественную и наглядную интерпретацию межгрупповых различий по исследуемым показателям.

ГЛАВА 3. ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ И ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АКРИЛАМИДА В КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЯХ

3.1 Цитотоксическое действие акриламида на клетки МН-22а

Одним из наиболее информативных показателей цитотоксического действия акриламида является значение IC₅₀ – концентрация вещества, вызывающая снижение жизнеспособности клеток на 50% по сравнению с контролем. Данный параметр широко используется для количественной характеристики токсичности химических соединений и позволяет сопоставлять выраженность их повреждающего действия в экспериментальных условиях. Определение IC₅₀ требует применения воспроизводимой модели и стандартизированного протокола исследования, обеспечивающих корректную оценку клеточного ответа на воздействие токсиканта.

При интерпретации результатов необходимо учитывать, что степень цитотоксического эффекта акриламида определяется рядом факторов, включая продолжительность инкубации, диапазон исследуемых концентраций и особенности выбранной клеточной модели. В связи с этим оценка токсичности данного соединения должна проводиться с учетом условий эксперимента, способных влиять на выраженность дозозависимого ответа.

Для изучения цитотоксического действия акриламида в широком диапазоне концентраций в качестве экспериментальной модели использовали культуру клеток гепатоцитов мыши МН-22а. Выбор данной линии был обусловлен ее стабильностью в культуре и возможностью использования в качестве модели для оценки токсического действия ксенобиотиков на клетки печеночного происхождения.

Ключевой задачей являлось выявление концентраций акриламида, при которых проявляются его цитотоксические свойства, и оценка степени гибели клеток при различных уровнях воздействия. Кроме того, в рамках

исследования был проведен анализ различий в цитотоксичности акриламида между экспериментальными группами, что позволило глубже понять его влияние на клетки печени.

Для оценки цитотоксичности были сформированы экспериментальные группы клеток, обработанные различными концентрациями акриламида (всего 8 концентраций, каждая в 3 повторностях) (Таблица 3.1). Контрольная группа состояла из клеток, инкубированных в питательной среде без добавления акриламида.

По результатам эксперимента проведен статистический анализ для сравнения цитотоксического действия акриламида при различных концентрациях (от 10^{-6} до 10 моль/л) с контрольной группой (без акриламида). Различия в выживаемости клеток между группами оказались статистически значимыми при высоких концентрациях акриламида (в диапазоне от 10 до 10^{-4} моль/л).

Таблица 3.1 – Влияние различных концентраций акриламида на выживаемость клеток МН-22а: результаты цитотоксического анализа с множественным сравнением относительно контрольной группы

Группа	Среднее значение (M±me)	p-value	p-adj
10 моль/л	-1,30±0,07	0,001	0,001
1 моль/л	5,87±0,17	0,001	0,001
0,1 моль/л	111,18±2,56	0,056	0,840
0,01 моль/л	105,94±2,03	0,293	1,000
0,001 моль/л	109,70±1,60	0,084	0,926
0,0001 моль/л	112,06±0,23	0,025	0,445
0,00001 моль/л	112,50±0,42	0,022	0,420
0,000001 моль/л	108,85±2,50	0,125	1,000

В диапазоне концентраций акриламида от 10 до 0,001 моль/л наблюдались статистически значимые отличия от контрольной группы. Высокие концентрации акриламида приводили к резкому снижению выживаемости клеток. В частности, в группе с концентрацией 10 моль/л отмечалось отрицательное значение показателя выживаемости, что

свидетельствует о полном разрушении клеток. После подбора параметров логистической функции были получены следующие значения:

$L \approx 109,90$ – максимальное значение выживаемости клеток;

$X_0 \approx 0,88$ – точка перегиба кривой, соответствующая значению IC50;

$k \approx -10$ – параметр, характеризующий крутизну кривой (определяет скорость изменения выживаемости при изменении дозы);

$b \approx -1,30$ – вертикальное смещение.

На основании полученных параметров построена логистическая кривая (Рисунок 3.1), адекватно описывающая экспериментальные данные и демонстрирующая плавный переход от высоких уровней выживаемости клеток при низких концентрациях акриламида к резкому снижению выживаемости при увеличении дозы.

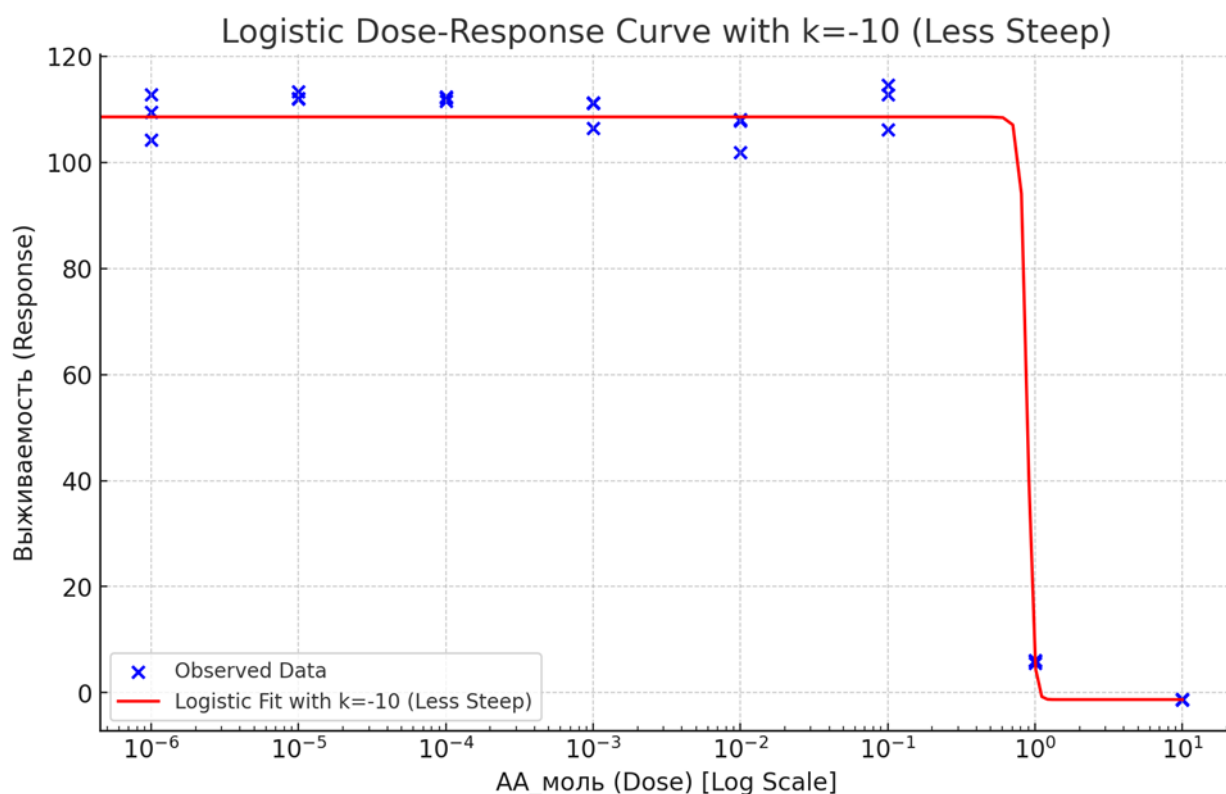


Рисунок 3.1 – Логистическая кривая зависимости выживаемости клеток МН-22а от концентрации акриламида с указанием расчетного значения IC50

Вычисленное на основе логистической кривой значение IC50 составило $\approx 0,89$ моль/л. Указанная концентрация акриламида соответствует уровню, при

котором жизнеспособность клеток линии МН-22а уменьшается на 50% по сравнению с контролем.

Построенная логистическая кривая отражает типичный дозозависимый ответ клеточной системы на воздействие токсиканта: в области низких концентраций акриламида его влияние на жизнеспособность клеток было минимальным, тогда как вблизи точки перегиба, соответствующей значению IC50, наблюдалось резкое снижение числа жизнеспособных клеток. Такой характер кривой указывает на высокую чувствительность клеток линии МН-22а к акриlamиду в исследованном диапазоне концентраций.

Результаты эксперимента подтвердили выраженное цитотоксическое действие акриламида в отношении клеточной культуры МН-22а. При повышении концентрации вещества отмечалось последовательное снижение жизнеспособности клеток, а различия между экспериментальными группами свидетельствовали о выраженном дозозависимом эффекте. Полученные данные согласуются с представлениями о способности акриламида оказывать повреждающее действие на клетки печеночного происхождения.

Определение значения IC50 позволило количественно охарактеризовать цитотоксический потенциал акриламида в используемой экспериментальной модели. Данный показатель может служить ориентиром для последующих исследований, направленных на изучение механизмов токсического действия акриламида, включая оценку вклада апоптоза, некроза, оксидативного стресса и других внутриклеточных путей повреждения.

Следует отметить, что логистическая модель адекватно описывала выявленный дозозависимый эффект и позволяла отразить как участок относительной устойчивости клеток к низким концентрациям токсиканта, так и область резкого снижения жизнеспособности при повышении дозы. Вместе с тем при высоких концентрациях акриламида возможны отдельные отклонения экспериментальных точек от теоретической кривой, что не исключает применения альтернативных математических моделей, в частности функции Хилла или функции Гомпертца. Однако в рамках настоящего

исследования именно логистическая модель оказалась наиболее подходящей для описания полученных данных.

Проведенное исследование позволило дать количественную оценку цитотоксичности акриламида в культуре клеток МН-22а и определить значение IC50 на основе анализа логистической зависимости. Построенная кривая демонстрирует характерный S-образный профиль, типичный для дозозависимого ответа биологической системы на воздействие токсического агента.

3.2 Ранние редокс-изменения при воздействии акриламида и оксиметилурацила

Одним из ключевых механизмов токсического действия акриламида является индукция оксидативного стресса, обусловленная усилением генерации активных форм кислорода, в том числе перекиси водорода. В связи с этим для анализа ранних редокс-сдвигов при действии акриламида была использована клеточная линия IAR-2-HyPer, представляющая собой эпителиальную линию печени крысы с нетрансформированным фенотипом, сохранной морфологией однослойного кубического эпителия и функциональными свойствами, позволяющими применять данную модель для оценки токсического действия ксенобиотиков. Использование генетически кодируемого сенсора HyPer обеспечивало возможность регистрации динамики внутриклеточного H_2O_2 в режиме реального времени.

Результаты исследования HyPer-ответа в клетках IAR-2-HyPer при воздействии акриламида представлены в Таблице 3.2.

Установлено, что акриламид индуцировал выраженный дозозависимый перекисный ответ, однако характер этого ответа был нелинейным. При концентрациях 0,125 и 0,25 М уже к 10-й минуте экспозиции отмечалось быстрое увеличение HyPer-сигнала. Амплитуда прироста составляла примерно 24 и 31% относительно исходного уровня соответственно. В дальнейшем наблюдалось постепенное снижение сигнала, однако его

значения сохранялись выше контрольных, что свидетельствовало о стойком повышении внутриклеточного уровня перекиси водорода. Базальный уровень флуоресценции сенсора HyPer в клетках IAR-2-HyPer представлен на рисунке 3.2.1.

Таблица 3.2 – Интегральная оценка HyPer-ответа в клетках IAR-2-HyPer при воздействии акриламида и оксиметилурацила по показателю площади под кривой (AUC)

Группа	Mean AUC, $\times 10^5$ a.u.	Δ AUC vs K-, %	95 % CI	Mixed LM $\beta \pm$ SE	Cohen's d	<i>p</i> vs K-
Контроль	2,10	-	1,60–2,60	-	-	-
0,125 М ACR	2,55	+21,4	2,05–3,05	$+4\,120 \pm 1\,070$	1,34	$1,2 \times 10^{-4}$
0,125 М + ОМУ	2,90	+38,1	2,39–3,38	$+6\,120 \pm 1\,070$	1,99	$1,1 \times 10^{-8}$
0,25 М ACR	2,75	+30,7	2,23–3,25	$+6\,550 \pm 1\,070$	2,10	$9,2 \times 10^{-10}$
0,25 М + ОМУ	3,05	+45,2	2,51–3,54	$+8\,970 \pm 1\,070$	2,50	$5,2 \times 10^{-17}$
0,5 М ACR	2,20	+4,8	1,69–2,70	$+970 \pm 1\,070$	0,29	0,362
0,5 М + ОМУ	2,45	+16,7	1,90–2,95	$+2\,860 \pm 1\,070$	0,89	0,0075
1 мМ H ₂ O ₂	15,70	+648	15,10–16,30	$+44\,850 \pm 1\,070$	12,4	$< 10^{-85}$

При концентрации 0,5 М (Рисунок 3.2.2) отмечалась иная динамика HyPer-сигнала. После выраженного начального повышения наблюдалось его быстрое снижение почти до фоновое уровня. Такой профиль может указывать на раннее нарушение метаболической активности клеток и ограничение дальнейшей генерации перекиси водорода в условиях более выраженного токсического воздействия.

Добавление оксиметилурацила сопровождалось изменением кинетики перекисного ответа во всех исследованных сериях. В диапазоне концентраций акриламида 0,125–0,25 М препарат ассоциировался с усилением и пролонгацией HyPer-ответа, тогда как при концентрации 0,5 М наблюдалось частичное восстановление регистрируемого сигнала, в результате чего

укороченная кривая переходила в статистически значимый положительный диапазон. Это указывает на контекст-зависимый характер действия оксиметилурацила, проявляющийся не в полном подавлении оксидативного ответа, а в изменении его амплитудно-временных характеристик. Формальный статистический анализ подтвердил наличие выраженных межгрупповых различий. Для площади под кривой (AUC) получено значение $F(7,42)=128,4$ при $p=3,7 \times 10^{-53}$ и $\eta^2 \approx 0,82$. В серии с 0,5 М акриламида в сочетании с оксиметилурацилом коэффициент смешанной линейной модели составил $\beta = +2860 \pm 1070$ усл. ед. при $p=0,0075$.

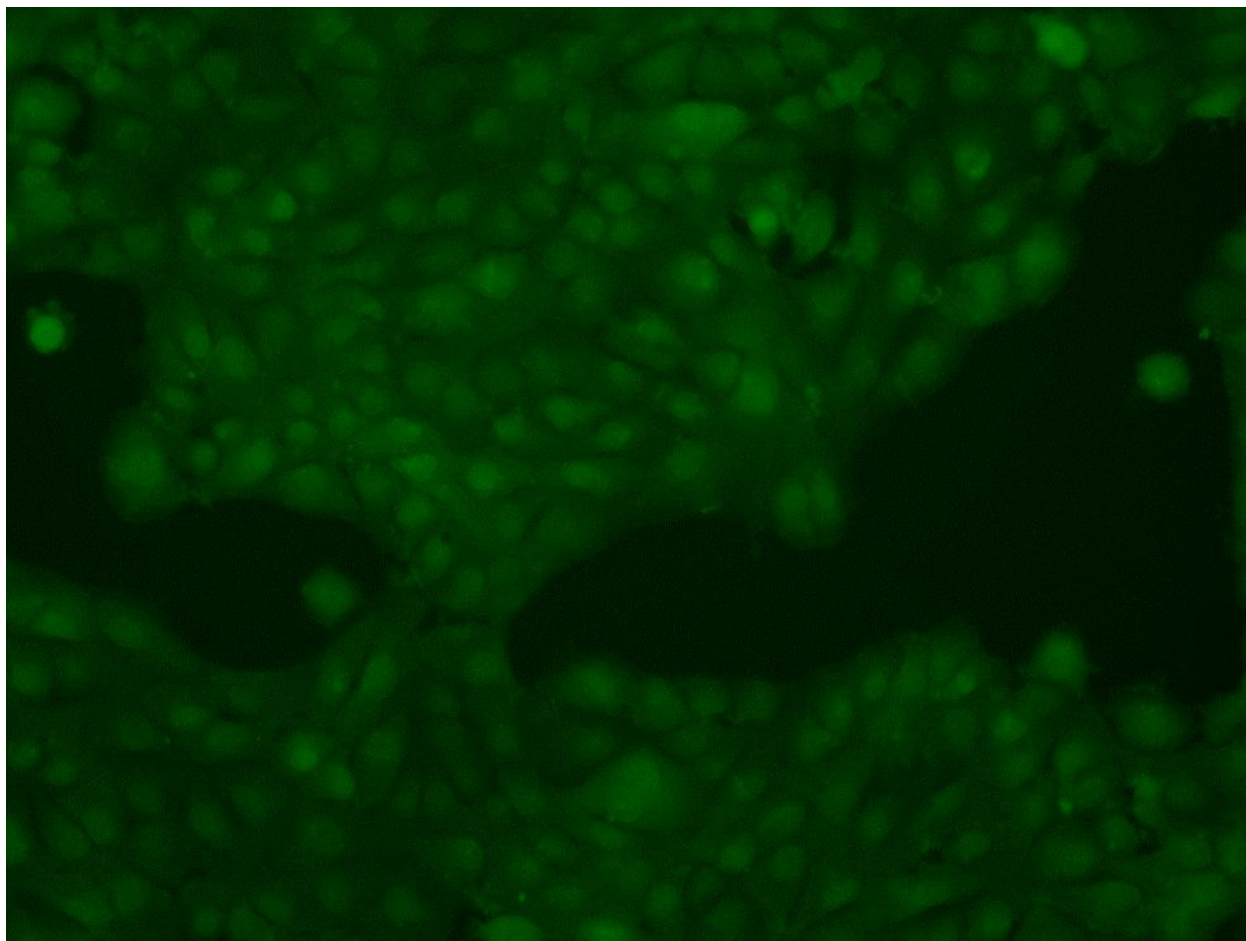


Рисунок 3.2.1 – Базальный уровень флуоресценции сенсора HuPer в клетках IAR-2-HuPer в контрольной группе. Увеличение X100.

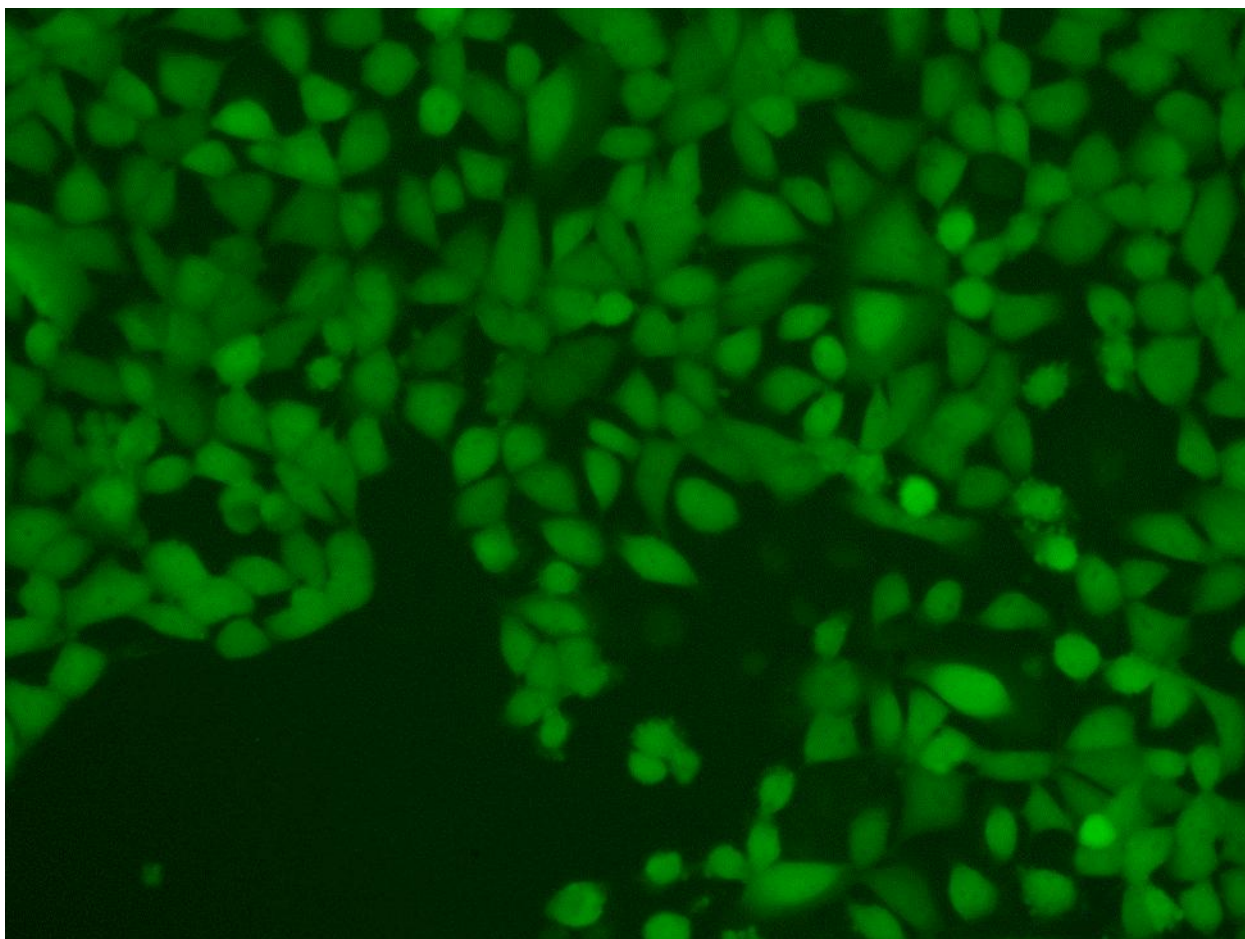


Рисунок 3.2.2 – Изменение флуоресценции сенсора HyPer в клетках IAR-2-HyPer при воздействии акриламида в концентрации 0,5 М. Увеличение X100

Полученные данные характеризуют особенности динамики перекисного ответа в клетках IAR-2-HyPer при воздействии акриламида в концентрациях 0,125; 0,25 и 0,5 М и позволяют оценить модифицирующее влияние оксиметилурацила в зависимости от условий воздействия. Стабильность сигнала в отрицательном контроле и отсутствие признаков его неспецифического угасания подтверждают корректность регистрации HyPer-ответа в используемой экспериментальной системе. Это позволяет рассматривать выявленные изменения как отражение реальной динамики внутриклеточного уровня перекиси водорода, а модель IAR-2-HyPer – как чувствительный инструмент для изучения ранних редокс-нарушений и оценки влияния потенциальных корректоров на характер оксидативного ответа. Установлено, что при концентрациях 0,125 и 0,25 М акриламид вызывал выраженный транзиторный рост HyPer-сигнала с максимумом к 10-й минуте

экспозиции, что отражает быстрое повышение внутриклеточного уровня перекиси водорода. При концентрации 0,5 М, напротив, регистрировалась укороченная кривая ответа с быстрым снижением сигнала до уровня, близкого к контрольному, что может указывать на более раннее развитие выраженных метаболических нарушений и ограничение способности клеток поддерживать перекисный сигнал. Добавление оксиметилурацила сопровождалось изменением характера регистрируемого НуPer-ответа во всех исследованных сериях. В диапазоне 0,125–0,25 М отмечалось усиление и пролонгация перекисного ответа, тогда как при концентрации 0,5 М наблюдалось частичное восстановление сигнала, что проявлялось переходом укороченной кривой в статистически значимый положительный диапазон.

3.3 Дозо- и времязависимое повреждение ДНК при воздействии акриламида

Одним из значимых проявлений токсического действия акриламида является повреждение генетического аппарата клетки, обусловленное как образованием его реакционноспособных метаболитов, способных взаимодействовать с макромолекулами, так и развитием оксидативного стресса, сопровождающегося накоплением одноцепочечных разрывов ДНК и щелочелабильных участков. В настоящем исследовании выраженность повреждений ДНК в клетках линии МН-22а оценивали по показателю процента ДНК в хвосте кометы, что позволило сопоставить эффекты акриламида при различных концентрациях и сроках экспозиции. Данный высокочувствительный метод основан на электрофорезе ДНК отдельных клеток. Это позволяет выявлять как одноцепочечные, так и двуцепочечные разрывы ДНК и тем самым оценивать степень повреждения генома. При наличии повреждений фрагменты ДНК под действием электрического поля мигрируют из ядра клетки, образуя характерный «хвост кометы». Для количественной оценки уровня повреждения ДНК используются такие

показатели, как процент ДНК в хвосте кометы и хвостовой момент (произведение длины хвоста на процент ДНК в хвосте).

На рисунке 3.3.1 представлены результаты оценки повреждений ДНК в клетках линии МН-22а под действием акриламида при различных концентрациях через 4 часа от начала воздействия в двух концентрациях, 1 мМ и 10 мМ.

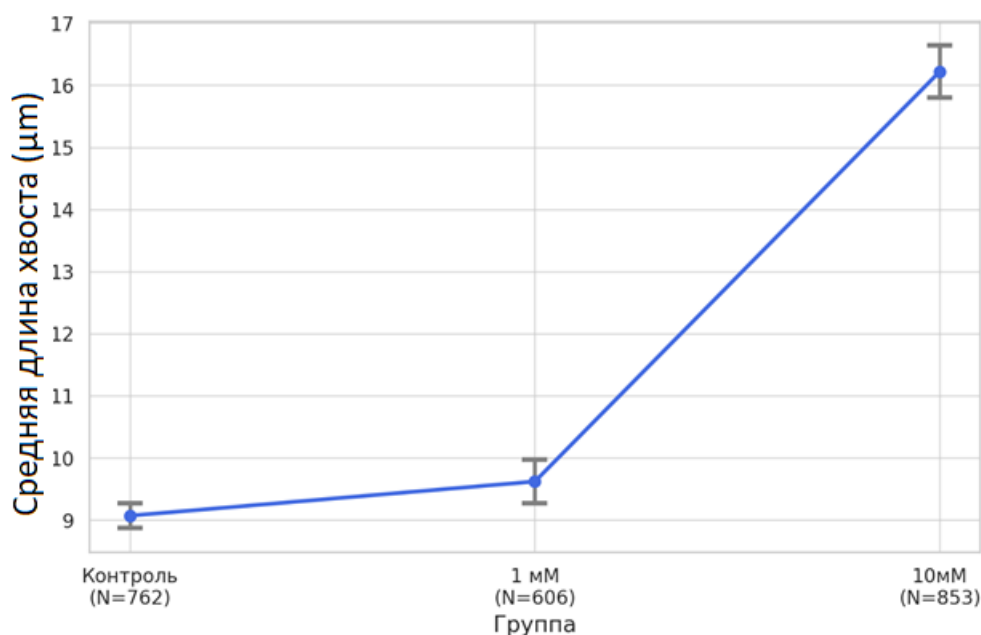


Рисунок 3.3.1 – Повреждение ДНК в клетках линии МН-22а при воздействии акриламида в концентрациях 0,1 мМ, 0,2 мМ и 1 мМ через 4 часа по данным анализа ДНК-комет

Анализ результатов эксперимента выявил различия между исследуемыми группами по уровню повреждения ДНК. В контрольной группе процент ДНК в хвосте кометы составил $9,07 \pm 0,20$, тогда как в группе 1 мМ этот показатель сохранялся на близком уровне – $9,62 \pm 0,35$. При воздействии акриламида в концентрации 10 мМ отмечено увеличение процента ДНК в хвосте кометы до $16,22 \pm 0,42$. Различия между контролем и группой 1 мМ не достигали статистической значимости ($p=0,545$), что свидетельствует об отсутствии выраженного повреждающего действия в исследованных условиях. В то же время в группе 10 мМ выявлено статистически значимое увеличение уровня повреждений ДНК по сравнению с контролем ($p=0,001$), так и по сравнению с группой 1 мМ ($p=0,001$). Полученные данные указывают

на формирование выраженного дозозависимого ДНК-повреждающего эффекта акриламида при высокой концентрации уже в ранний срок экспозиции.

Через 24 часа после экспозиции акриламида выявлено статистически достоверное дозозависимое усиление повреждений ДНК, что отражается в значительном увеличении процента ДНК, локализованной в хвосте кометы, при концентрации 1 мМ по сравнению с более низкими концентрациями и контрольной группой (Рисунок 3.3.2).

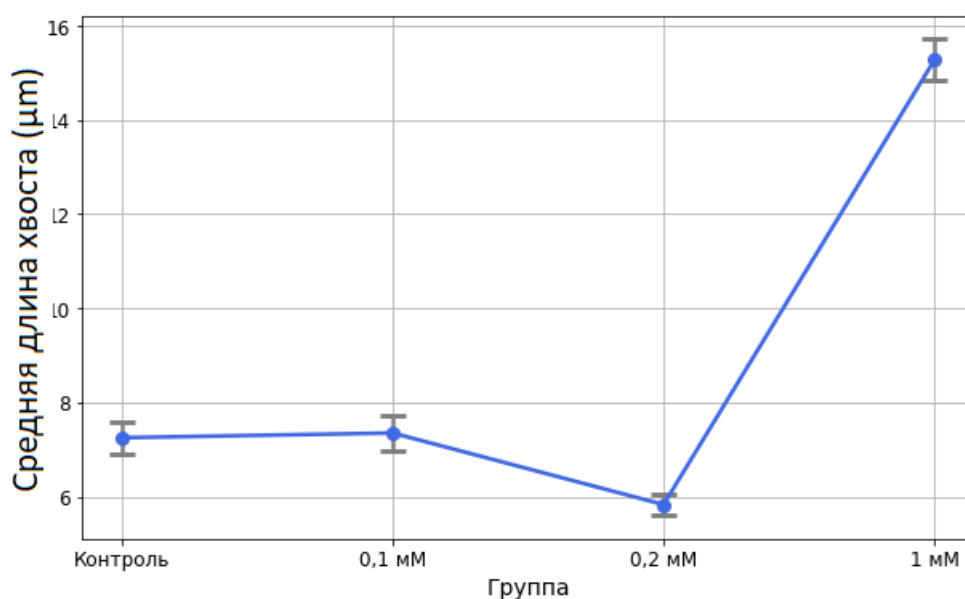


Рисунок 3.3.2 – Повреждение ДНК в клетках линии МН-22а при воздействии акриламида в концентрациях 0,1 мМ, 0,2 мМ и 1 мМ через 24 часа по данным анализа ДНК-комет

В контрольной группе процент ДНК в хвосте кометы составил $7,25 \pm 0,35$. В группе с концентрацией акриламида 0,1 мМ аналогичный показатель составил $7,35 \pm 0,37$, что практически не отличается от контрольной группы ($p=1,00$), и указывает на отсутствие зафиксированного в использованном тесте повреждения ДНК при данной концентрации. В группе 0,2 мМ значение показателя составило $5,83 \pm 0,22$, при этом различия с контрольной группой также не достигали статистической значимости ($p=0,350$). Следовательно, при 24-часовой экспозиции низкие концентрации акриламида не сопровождались значимым увеличением уровня повреждений ДНК.

Наиболее выраженные изменения были зафиксированы в группе с концентрацией 1 мМ, где процент ДНК в хвосте кометы существенно возрос до $15,27 \pm 0,44$. Множественное сравнение показало, что группа, подвергавшаяся воздействию акриламида в концентрации 1 мМ, статистически значимо отличалась от всех остальных групп: контрольной ($p=0,001$), группы 0,1 мМ ($p=0,001$) и группы 0,2 мМ ($p=0,001$). Полученные данные свидетельствуют о существенном повышении уровня повреждений ДНК при концентрации 1 мМ. Вероятно, это связано с накоплением такого объема повреждений ДНК, при котором компенсаторные и репаративные возможности клетки оказываются недостаточными.

При увеличении продолжительности воздействия до 72 часов значимые изменения уровня повреждений ДНК выявлялись уже при более низких концентрациях акриламида (рисунок 3.3.3). Статистический анализ с использованием критерия Краскела–Уоллиса подтвердил наличие межгрупповых различий ($H=113,14$; $p=0,001$).

В контрольной группе средний процент ДНК в хвосте кометы составил $23,78 \pm 0,65$. В группе, подвергавшейся воздействию акриламида в концентрации 0,1 мМ, данный показатель увеличивался до $34,19 \pm 0,89$, при этом различия по сравнению с контролем были статистически значимыми ($p=0,001$). В группе 0,2 мМ средний процент ДНК в хвосте кометы составил $35,59 \pm 1,18$, что также значимо превышало контрольный уровень ($p=0,001$). Различия между группами 0,1 мМ и 0,2 мМ статистической значимости не достигали ($p=1,000$), что указывает на сопоставимую выраженность повреждений ДНК при данных концентрациях. В группе 1 мМ показатель составил $30,17 \pm 1,43$ и также был статистически значимо выше, чем в контроле ($p=0,005$). При этом, несмотря на более высокую концентрацию акриламида, значение показателя было несколько ниже, чем в группах 0,1 мМ и 0,2 мМ. Различия между группами 0,1 мМ и 1 мМ не достигали статистической значимости ($p=0,164$), тогда как между группами 0,2 мМ и 1 мМ были значимыми ($p=0,042$).

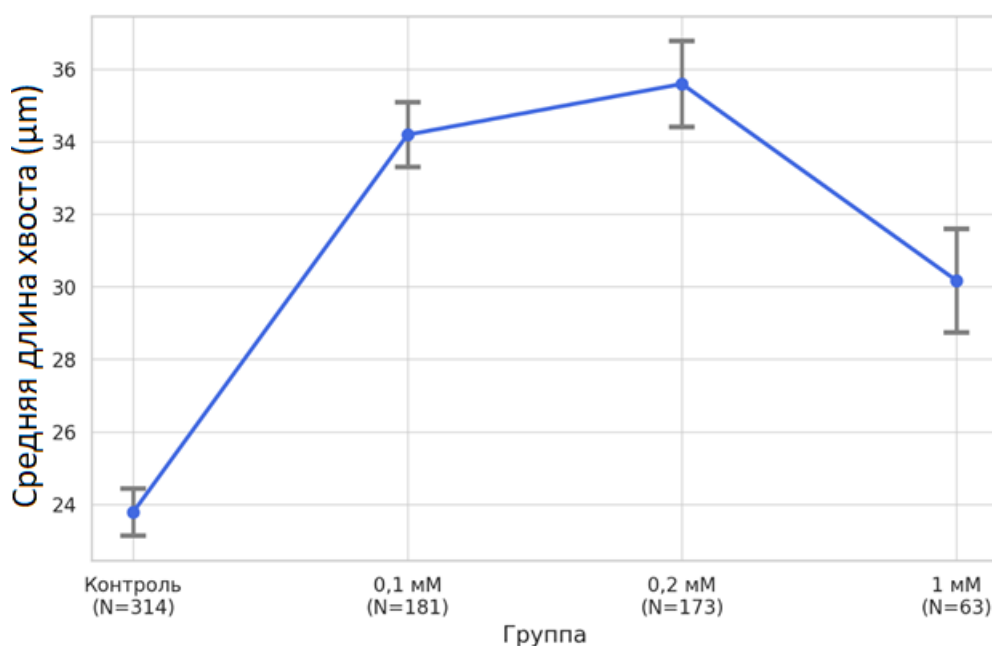


Рисунок 3.3.3 – Повреждение ДНК в клетках линии МН-22а при воздействии акриламида в концентрациях 0,1 мМ, 0,2 мМ и 1 мМ через 72 часа по данным анализа ДНК-комет

В проведенном исследовании показано, что повреждающее действие акриламида в отношении ДНК имеет выраженную зависимость от времени экспозиции. При 4-часовом воздействии значимое увеличение уровня повреждений ДНК выявлялось только при высокой концентрации 10 мМ, через 24 часа – при концентрации 1 мМ, тогда как через 72 часа статистически значимые изменения регистрировались уже при концентрациях 0,1 и 0,2 мМ. Нелинейный характер изменений через 72 часа, при котором показатель в группе 1 мМ оказался ниже, чем при 0,1 и 0,2 мМ, может быть связан с особенностями клеточного ответа при длительном токсическом воздействии. Вероятно, при более высокой концентрации часть клеток с выраженными повреждениями могла утрачиваться из анализируемой популяции вследствие снижения жизнеспособности, тогда как при более низких концентрациях сохранялось большее число клеток с накопленными, но еще совместимыми с выживанием повреждениями ДНК.

3.4 Влияние соединений МГ-1, МГ-2 и МГ-10 на акриламид-индуцированные повреждения ДНК

Для оценки модифицирующего влияния комплексных соединений оксиметилурацила на акриламид-индуцированные повреждения ДНК в клетках линии МН-22а анализировали показатель хвостового момента после воздействия акриламида и последующего внесения соединений МГ-1, МГ-2 и МГ-10 в различных концентрациях.

На рисунке 3.4.1 представлены результаты оценки влияния МГ-1 в концентрациях 260, 130 и 65 мкМ на уровень повреждений ДНК после воздействия акриламида в концентрации 10 мМ.

Статистический анализ выявил значимое увеличение показателя момента хвоста в группе положительного контроля по сравнению с отрицательным контролем ($N=205,064$; $p=0,001$), из чего следует, что акриламид оказывает повреждающее действие на ДНК (Рисунок 3.4.1).

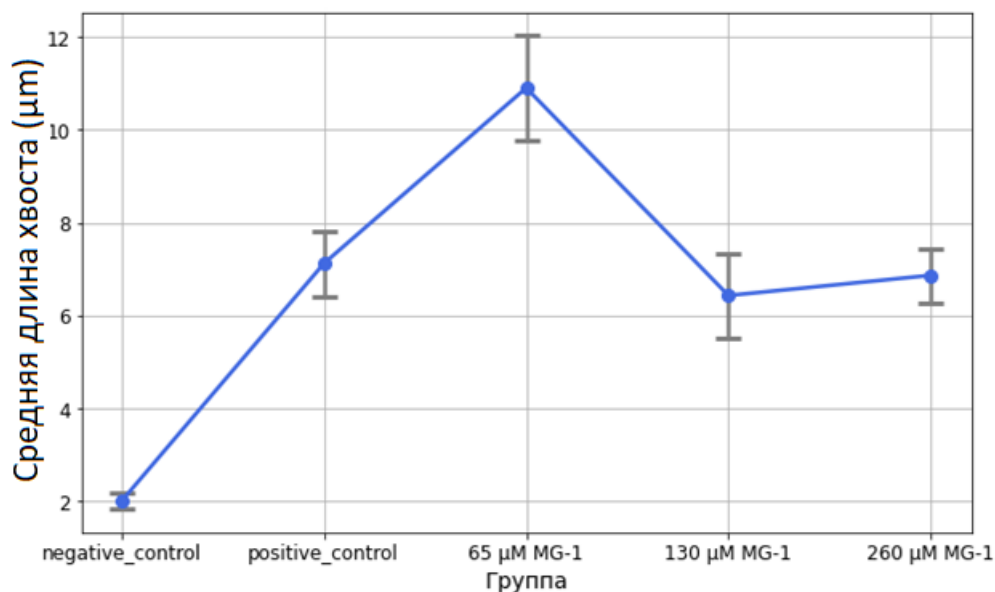


Рисунок 3.4.1 – Влияние различных доз препарата МГ-1 на уровень ДНК-повреждений в клетках МН-22а после воздействия акриламида (10 мМ) по данным анализа ДНК-комет (показатель – момент хвоста)

Сравнительный анализ показал наличие статистически значимых различий между отрицательным контролем и всеми группами, подвергавшимися воздействию акриламида, независимо от дозы препарата МГ-1 ($p=0,001$), то есть акриламид сильно повреждает ДНК клеток. При

попарном сравнении отрицательного контроля с группами, получавшими МГ-1 в дозах 260, 130 и 65 мкМ, также были выявлены статистически значимые различия (во всех случаях $p=0,001$).

При сопоставлении положительного контроля с группами, получавшими МГ-1 в дозах 260 и 130 мкМ, статистически значимых различий не установлено ($p=0,329$ и $p=0,703$ соответственно). Вероятно, при данных концентрациях препарат не оказывает выраженного защитного действия. Вместе с тем в группе, получавшей МГ-1 в дозе 65 мкМ, выявлены статистически значимые различия по сравнению с положительным контролем ($p=0,007$). Это может говорить о том, что при данной концентрации повреждение ДНК возможно даже усиливается.

Анализ различий между отдельными дозами МГ-1 показал, что группы 260 и 130 мкМ, а также 260 и 65 мкМ статистически значимо не различались между собой ($p=0,131$ и $p=0,108$ соответственно). В то же время между дозами 130 и 65 мкМ установлены статистически значимые различия ($p=0,003$), что указывает на зависимость уровня ДНК-повреждений от концентрации препарата в данном диапазоне доз.

В рамках настоящего исследования была проведена повторная оценка генотоксического действия акриламида на клеточной культуре линии МН-22а и изучено влияние препарата МГ-1 в более высоких концентрациях – 260, 520 и 1040 мкМ – с целью определения его способности модифицировать акриламид-индуцированные повреждения ДНК. Результаты статистического анализа с использованием критерия Краскела–Уоллиса ($H=242,434$; $p=0,001$) свидетельствовали о наличии значимых различий между исследуемыми группами (Рисунок 3.4.2), что подтверждает генотоксическую активность акриламида и позволяет оценить характер действия МГ-1 в расширенном диапазоне концентраций.

При сравнении средних значений момента хвоста между группами установлено, что в отрицательном контроле данный показатель составлял 0,779, что соответствовало низкому уровню повреждений ДНК. В группе

положительного контроля среднее значение момента хвоста увеличивалось до 2,736, подтверждая генотоксическое действие акриламида. Добавление препарата МГ-1 в дозах 260, 520 и 1040 мкМ сопровождалось дальнейшим увеличением данного показателя до 3,791, 5,779 и 10,004 соответственно. Полученные данные указывают на нарастание повреждений ДНК по мере увеличения концентрации МГ-1, наиболее выраженное в группе с максимальной дозой препарата.

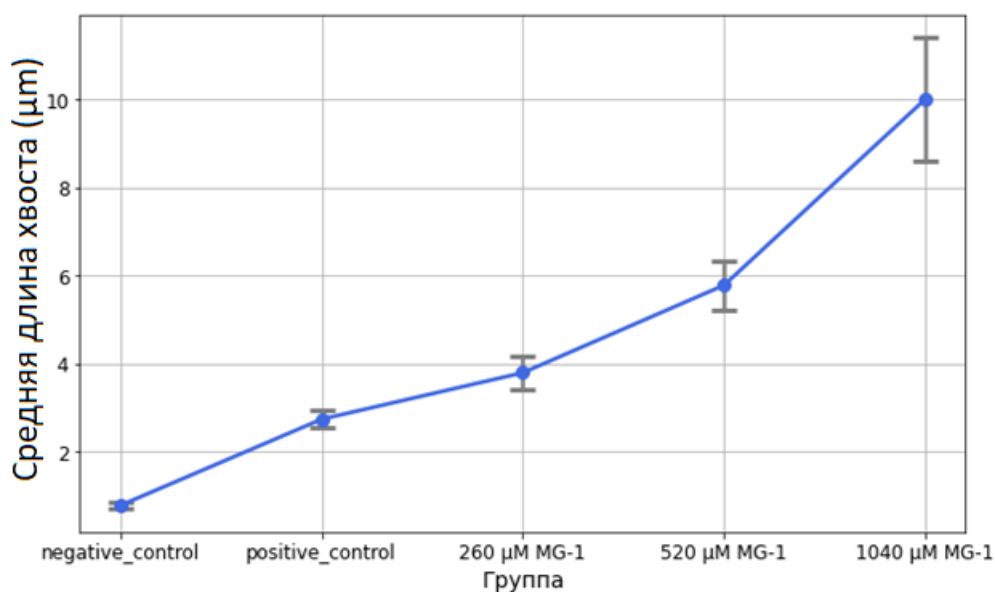


Рисунок 3.4.2 – Влияние различных доз препарата МГ-1 на уровень ДНК-повреждений в клетках МН-22а после воздействия акриламида (10 мМ) по данным анализа ДНК-комет (показатель – момент хвоста)

При попарном сравнении установлены статистически значимые различия между отрицательным контролем и всеми остальными группами, включая положительный контроль и группы, получавшие МГ-1 во всех исследованных концентрациях (во всех случаях $p=0,001$), что свидетельствует о выраженном повышении уровня ДНК-повреждений по сравнению с интактными клетками. Сравнение положительного контроля с группами, получавшими МГ-1, также выявило статистически значимые различия (во всех случаях $p=0,001$), что указывает на отсутствие защитного эффекта препарата в данном диапазоне доз и позволяет предполагать усиление акриламид-индуцированного повреждения ДНК на фоне его применения. Особенно

важно отметить статистически значимую разницу между группами с дозами 1040 мкМ и 520 мкМ ($p=0,042$), что может свидетельствовать о дозозависимом эффекте, где повышение концентрации МГ-1 сопровождается усилением повреждения ДНК. Подтверждает эту тенденцию и значимость различий между группами с дозами 1040 мкМ и 260 мкМ ($p=0,001$), а также между дозами 520 мкМ и 260 мкМ ($p=0,006$).

Проведено исследование генотоксического действия акриламида в концентрации 10 мМ при 24-часовой экспозиции, а также оценено влияние препарата МГ-2, представляющего собой комплекс оксиметилурацила с сукцинатом натрия, на выраженность индуцированных повреждений ДНК. Статистический анализ с использованием критерия Краскела–Уоллиса выявил значимые различия между исследуемыми группами ($H=232,673$; $p=0,001$) (Рисунок 3.4.3). Можем сделать вывод о том, что акриламид сильно повреждает ДНК, и это позволяет понять, как МГ-2 влияет на такой эффект в данной экспериментальной модели.

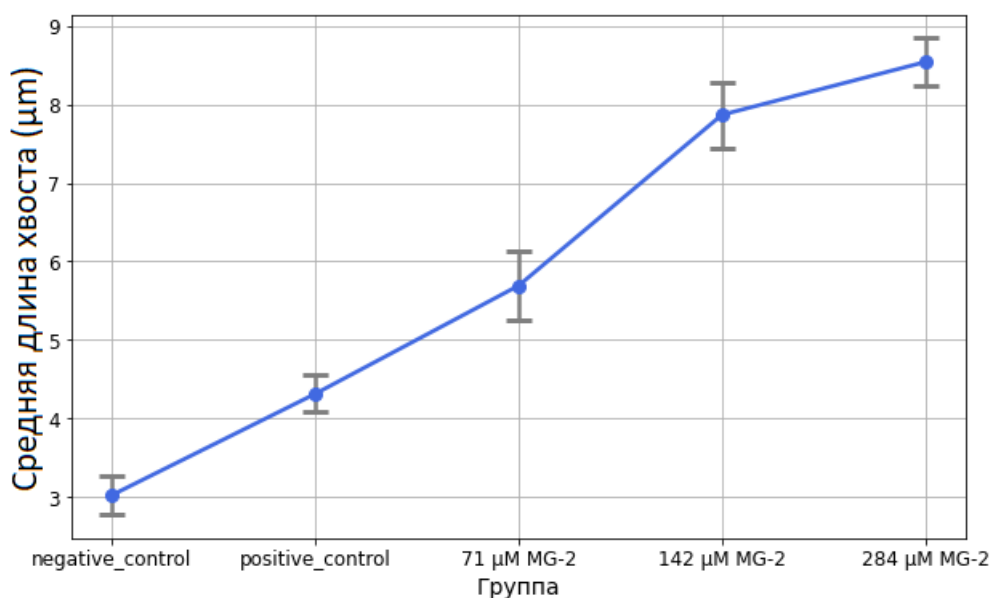


Рисунок 3.4.3 – Влияние различных доз препарата МГ-2 на уровень ДНК-повреждений в клетках МН-22а после воздействия акриламида (10 мМ) по данным анализа ДНК-комет (показатель – момент хвоста)

В группе отрицательного контроля среднее значение момента хвоста составило 3,021, что соответствовало базовому уровню повреждений ДНК в

клетках, не подвергавшихся воздействию акриламида. В группе положительного контроля данный показатель увеличивался до 4,312, подтверждая генотоксическое действие акриламида. Добавление МГ-2 в исследованных дозах сопровождалось дальнейшим увеличением момента хвоста: до 8,541 при концентрации 284 мкМ, до 7,867 при 142 мкМ и до 5,690 при 71 мкМ. Полученные данные указывают на нарастание уровня ДНК-повреждений при повышении концентрации МГ-2.

При попарном сравнении установлены статистически значимые различия между отрицательным контролем и всеми остальными группами: положительным контролем, а также группами, получавшими МГ-2 в дозах 284, 142 и 71 мкМ (во всех случаях $p=0,001$). Это подтверждает значимое повышение уровня повреждений ДНК на фоне воздействия акриламида и отсутствие снижения генотоксического эффекта при добавлении МГ-2 в исследованных концентрациях.

Сравнение положительного контроля с группами, получавшими МГ-2, показало, что при дозе 71 мкМ статистически значимых различий не выявлено ($p=0,094$), тогда как при дозах 284 и 142 мкМ различия были значимыми (в обоих случаях $p=0,001$). Это указывает на более высокий уровень повреждений ДНК при применении МГ-2 в средних и высоких концентрациях. Между группами 284 и 142 мкМ также установлены статистически значимые различия ($p=0,008$), как и между 284 и 71 мкМ ($p=0,001$), что подтверждает дозозависимый характер выявленного эффекта. В то же время различия между группами 142 и 71 мкМ статистической значимости не достигали ($p=0,065$). В этих диапазонах концентраций повреждения ДНК, вероятно, сходны.

Гепатоциты мыши МН-22а подвергались воздействию акриламида, а затем, спустя 24 часа, им добавляли МГ-2 в дозах 1136 мкМ, 568 мкМ и 284 мкМ на 2 часа. Статистический анализ с использованием критерия Краскела-Уоллиса ($H=95,755$; $p=0,001$) (Рисунок 3.4.4) выявил значимые различия между группами, подтверждающие генотоксический эффект акриламида и неоднозначное влияние МГ-2 на повреждение ДНК.

Средние значения показателя момент хвоста показали, что в группе отрицательного контроля этот показатель составил 0,624, отражая базовый уровень повреждений ДНК. В положительном контроле момент хвоста увеличился до 1,892, подтверждая генотоксическое действие акриламида. Добавление МГ-2 в дозах 284 мкМ, 568 мкМ и 1136 мкМ не снизило уровень повреждений (2,096, 2,120 и 2,022 соответственно).

Попарные сравнения показали отсутствие защитного эффекта МГ-2. Между отрицательным контролем и группами 1136 мкМ, 568 мкМ и 284 мкМ выявлены статистически значимые различия ($p=0,001$). Сравнение положительного контроля с дозами 1136 мкМ и 568 мкМ также выявило различия ($p=0,007$ и $p=0,016$ соответственно), но для дозы 284 мкМ различия не достигли значимости ($p=0,452$).

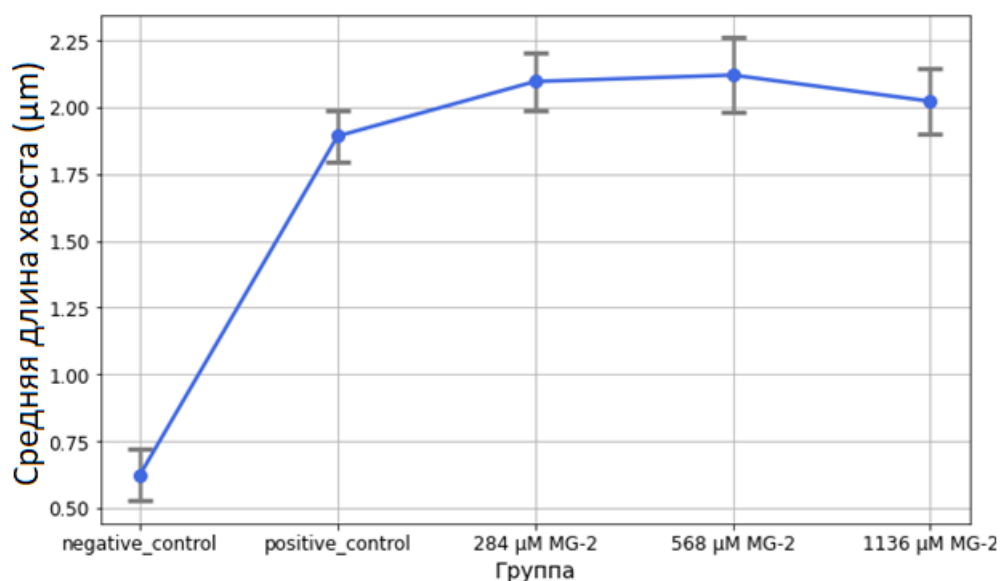


Рисунок 3.4.4 – Исследование различных доз препарата МГ-2 на уровне ДНК-повреждений в клетках МН-22а после воздействия акриламида (10 мМ) по данным анализа ДНК-комет (показатель – момент хвоста)

Дозозависимый анализ выявил статистически значимые различия между группами 1136 и 284 мкМ ($p=0,001$), а также между группами 568 и 284 мкМ ($p=0,001$). При этом различия между дозами 1136 и 568 мкМ отсутствовали ($p=1,000$), что может указывать на достижение плато дозозависимого эффекта в исследуемом диапазоне концентраций.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение МГ-2 в исследованных дозах не сопровождалось снижением уровня ДНК-повреждений. Напротив, введение препарата ассоциировалось с увеличением показателя момента хвоста, наиболее выраженным при концентрации 1136 мкМ. Это позволяет предполагать, что в высоких дозах МГ-2 может не ограничивать, а усиливать акриламид-индуцированное повреждение ДНК. Не исключено, что данный эффект связан с изменением редокс-баланса клетки и усилением окислительного стресса при повышении концентрации препарата.

Выявленные дозозависимые особенности действия МГ-2 могут рассматриваться в рамках представлений о так называемом антиоксидантном парадоксе, согласно которому соединения с потенциальной антиоксидантной активностью в высоких концентрациях способны проявлять противоположные, прооксидантные свойства. Это подчеркивает важность оптимизации антиоксидантной терапии для предотвращения усиления клеточных повреждений и окислительного напряжения.

На рисунке 3.4.5 представлены результаты оценки уровня повреждений ДНК в клетках при воздействии препарата МГ-10 в различных концентрациях на фоне генотоксического воздействия. Полученные данные отражают изменение показателя момента хвоста по данным метода ДНК-комет и позволяют оценить выраженность повреждений ДНК в исследуемых группах.

В отрицательном контроле среднее значение показателя составило $2,07 \pm 0,15$, что соответствовало базовому уровню повреждений ДНК в интактных клетках. В группе положительного контроля данный показатель возрастал до $4,18 \pm 0,24$, что свидетельствовало о выраженном повреждающем действии использованного генотоксического агента. Во всех группах с добавлением МГ-10 уровень повреждений ДНК также оставался повышенным по сравнению с отрицательным контролем и составил $4,05 \pm 0,21$ при концентрации 700 мкМ, $3,75 \pm 0,34$ при 1400 мкМ и $3,48 \pm 0,34$ при 2810 мкМ.

Попарное статистическое сравнение выявило достоверные различия между отрицательным контролем и всеми исследуемыми группами: группой

700 мкМ МГ-10 ($p=0,001$), группой 1400 мкМ МГ-10 ($p=0,001$), группой 2810 мкМ МГ-10 ($p=0,001$), а также положительным контролем ($p=0,001$). Полученные данные свидетельствуют о том, что во всех вариантах воздействия генотоксического фактора уровень повреждений ДНК оставался статистически значимо выше физиологического фона.

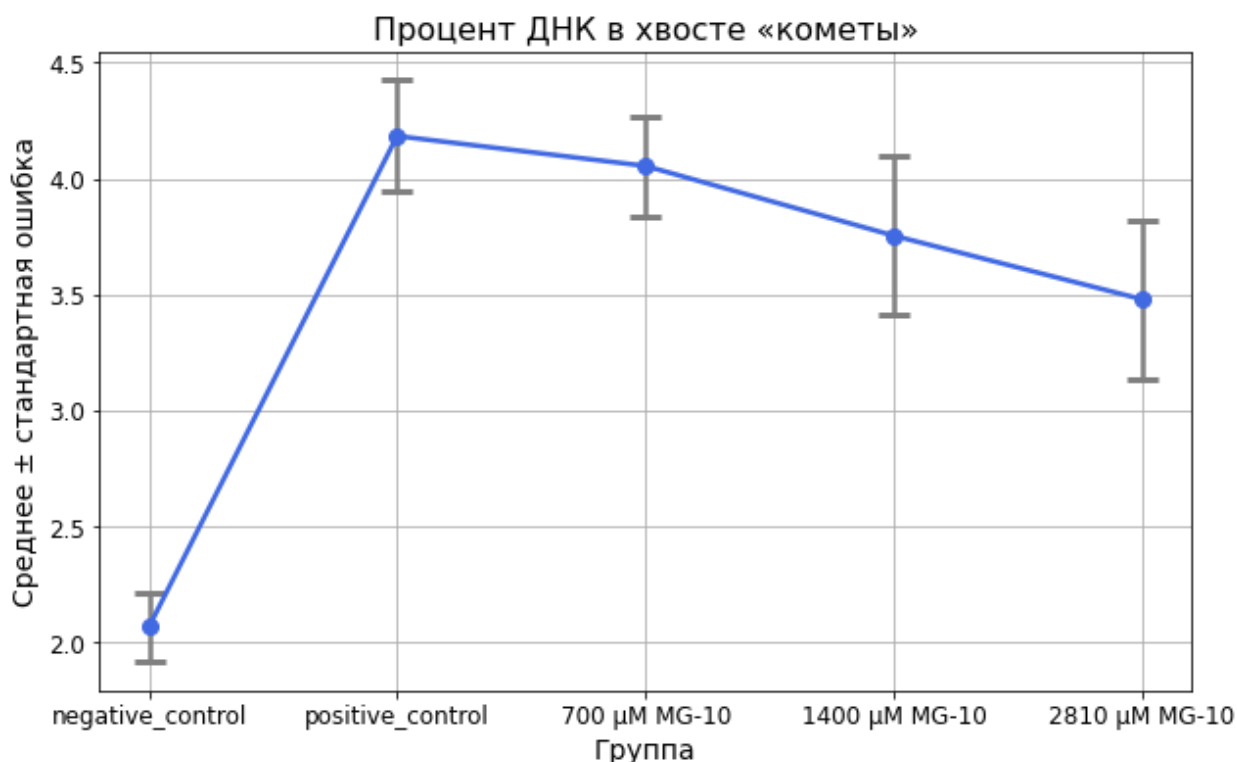


Рисунок 3.4.5 – Влияние препарата МГ-10 в концентрациях 700, 1400 и 2810 мкМ на уровень повреждений ДНК в клетках по данным анализа ДНК-комет

При сравнении положительного контроля с группами, получавшими МГ-10, установлено, что при концентрации 700 мкМ препарат не обеспечивал статистически значимого снижения уровня повреждений ДНК по сравнению с положительным контролем ($p=0,307$), что указывает на отсутствие выраженного защитного эффекта в данной концентрации. В то же время при концентрациях 1400 мкМ и 2810 мкМ отмечалось статистически значимое снижение показателя момента хвоста по сравнению с положительным контролем ($p=0,017$ и $p=0,0017$ соответственно), что может свидетельствовать о частичном уменьшении выраженности генотоксического эффекта.

Сравнение между самими группами МГ-10 показало, что уровень повреждений ДНК в группе 700 мкМ был статистически значимо выше, чем в группах 1400 мкМ ($p=0,026$) и 2810 мкМ ($p=0,0017$). При этом различия между группами 1400 мкМ и 2810 мкМ статистической значимости не достигали ($p=0,307$), что указывает на сходный уровень эффекта в этих двух концентрациях.

При дальнейшем увеличении концентрации препарата МГ-10 был проведен повторный анализ его способности модифицировать уровень ДНК-повреждений, индуцированных акриламидом (Рисунок 3.4.6). Статистическая обработка данных методом Краскела–Уоллиса выявила наличие высокосignимых различий между исследуемыми группами ($H=285,51$; $df=4$; $p<0,001$).



Рисунок 3.4.6 – Влияние препарата МГ-10 в концентрациях 2810 мкМ, 5620 мкМ и 11240 мкМ на уровень повреждений ДНК в клетках после воздействия акриламида по данным анализа ДНК-комет.

В группе отрицательного контроля среднее значение показателя составило $2,07 \pm 0,15$, что соответствовало базовому уровню повреждений ДНК. В группе положительного контроля этот показатель возрастал до

4,18±0,24, подтверждая выраженный генотоксический эффект акриламида. При добавлении МГ-10 в концентрации 2810 мкМ среднее значение момента хвоста составило 3,49±0,26, то есть оказалось ниже, чем в группе положительного контроля. Напротив, при дальнейшем повышении концентрации препарата до 5620 мкМ и 11240 мкМ отмечалось увеличение уровня повреждений ДНК до 7,23±0,48 и 8,87±0,62 соответственно, что существенно превышало не только отрицательный, но и положительный контроль.

Попарное сравнение показало, что все исследуемые группы достоверно отличались от отрицательного контроля. Так, различия между отрицательным контролем и группой 2810 мкМ МГ-10 оставались статистически значимыми ($p=0,0246$), что свидетельствует о сохранении повышенного уровня повреждений ДНК по сравнению с физиологическим фоном. Для групп 5620 мкМ МГ-10 и 11240 мкМ МГ-10 различия с отрицательным контролем были еще более выраженными ($p<0,001$ в обоих случаях), что указывает на значительное усиление генотоксического эффекта.

Сопоставление с положительным контролем показало разнонаправленный характер действия препарата в зависимости от концентрации. В группе 2810 мкМ МГ-10 уровень повреждений ДНК был статистически значимо ниже, чем в группе положительного контроля ($p<0,001$), что может свидетельствовать о небольшом снижении генотоксичности акриламида при данной концентрации препарата. Однако полного восстановления показателей до уровня отрицательного контроля не наблюдалось, поскольку различия с интактной группой сохраняли статистическую значимость.

Вместе с тем при концентрациях 5620 мкМ и 11240 мкМ препарат МГ-10, напротив, сопровождался статистически значимым увеличением показателя момента хвоста по сравнению с положительным контролем ($p=0,0001$ и $p<0,001$ соответственно). Это указывает на то, что в более высоких

концентрациях МГ-10 не только не ослабляет повреждающее действие акриламида, но, вероятно, ассоциирован с усилением ДНК-повреждений.

При сравнении между группами, получавшими разные концентрации МГ-10, также были выявлены статистически значимые различия. Значение показателя в группе 5620 мкМ было выше, чем в группе 2810 мкМ ($p < 0,001$), а в группе 11240 мкМ – выше, чем как в группе 2810 мкМ ($p < 0,001$), так и в группе 5620 мкМ ($p = 0,0076$). Эти данные указывают на нарастание повреждений ДНК по мере увеличения концентрации препарата в данном диапазоне доз.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что влияние препарата МГ-10 на выраженность акриламид-индуцированных повреждений ДНК носит нелинейный характер в зависимости от концентрации. При 1400 и 2810 мкМ отмечалось статистически значимое снижение показателя хвостового момента по сравнению с положительным контролем, тогда как при 700 мкМ достоверного защитного эффекта не выявлено. В повторной серии эксперимента эффект при 2810 мкМ сохранялся, что подтверждает частичное снижение выраженности повреждений ДНК в данном диапазоне. Дальнейшее повышение концентрации МГ-10 до 5620 и 11240 мкМ сопровождалось противоположным результатом, увеличением уровня повреждений ДНК по сравнению как с группой 2810 мкМ, так и с положительным контролем. Следовательно, МГ-10 снижает выраженность акриламид-индуцированных повреждений ДНК в ограниченном диапазоне концентраций; его превышение сопровождается усилением повреждения генетического аппарата клетки.

В целом полученные *in vitro* данные показывают, что акриламид усиливает фрагментацию ДНК в зависимости от дозы и времени воздействия. Вероятно, формирование этих изменений связано с образованием реакционноспособного метаболита глицидамида, истощением внутриклеточных тиоловых резервов и развитием окислительно-восстановительного дисбаланса. На этом фоне только МГ-10 частично снижал выраженность повреждений ДНК, что может быть связано с присутствием

ацетилцистеина, способного поддерживать внутриклеточный тиоловый баланс. При этом снижение хвостового момента, вероятно, отражает не полное предотвращение повреждающего действия акриламида, а ограничение процессов, приводящих к накоплению одноцепочечных разрывов ДНК и щелочелабильных участков.

Отсутствие сопоставимого эффекта у МГ-1 и МГ-2, а также утрата защитного действия МГ-10 при повышении концентрации позволяют предполагать, что результат определяется не только наличием оксиметилурацила, но и свойствами присоединенного лиганда. В изолированной клеточной системе вклад лиганда в изменение окислительно-восстановительного состояния клетки, по-видимому, становится особенно значимым. В частности, для МГ-1 можно предположить возможность прооксидантного сдвига при высоких концентрациях аскорбиновой кислоты, в том числе за счет реакций с участием переходных металлов культуральной среды и генерации высокореакционноспособных радикалов, непосредственно повреждающих сахарофосфатный остов ДНК. Для МГ-2 вероятным представляется иной механизм, связанный с дополнительной метаболической нагрузкой на митохондриальный аппарат и усилением продукции активных форм кислорода в условиях уже существующего токсического стресса. Вероятно, положительный эффект изученных соединений *in vitro* реализуется лишь в ограниченном диапазоне концентраций и существенно зависит от природы лиганда, тогда как превышение этого диапазона может сопровождаться не ослаблением, а усилением повреждения ДНК.

ГЛАВА 4. СИСТЕМНОЕ ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АКРИЛАМИДА И ЕГО ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ *IN VIVO*

4.1 Острая интоксикация акриламидом и ранние механизмы токсического ответа

Изучение патогенетических механизмов токсического действия акриламида представляет особый интерес ввиду его распространенности в окружающей среде и потенциального влияния на здоровье человека. Несмотря на многочисленные исследования, вопросы, связанные с механизмами клеточного повреждения, апоптоза и активации антиоксидантной защиты при кратковременном воздействии акриламида, остаются до конца не изученными. В связи с этим важной задачей является проведение комплексного анализа изменений, возникающих в организме при однократном воздействии токсиканта на различных уровнях – от системных биохимических и гематологических сдвигов до молекулярных механизмов регуляции генов.

Целью данного этапа работы было выявление и оценка степени выраженности метаболических, иммунологических и молекулярных нарушений, возникающих вследствие однократного токсического воздействия акриламида, а также изучение возможности коррекции этих изменений с помощью препаратов, обладающих антиоксидантной и гепатопротекторной активностью (МГ-1, МГ-2 и МГ-10).

Данные результаты позволяют комплексно охарактеризовать патогенетический профиль острой акриламидной интоксикации и обосновать выбор эффективных защитных агентов для предупреждения и коррекции вызванных повреждений.

В Таблице 4.1 представлены результаты комплексного анализа, включающего биохимические, гематологические, иммунологические и молекулярные показатели, а также данные статистической обработки различий между экспериментальными группами.

Таблица 4.1 – Сводная таблица результатов эксперимента с данными статистического анализа

Показатель	К-	К+	МГ-1	МГ-2	МГ-10	F	p
1	2	3	4	5	6	7	8
АСТ, Ед/л	219,23 ±15,29	287,66 ±19,78	224,25 ±14,47	219,46 ±15,25[#]	211,07 ±12,57[#]	4,19	0,019
АЛТ, Ед/л	49,24 ±2,65	60,69 ±3,35	57,48 ±4,12	56,27 ±5,13	46,75 ±3,63	1,52	0,241
ЛДГ, Ед/л	3068,90 ±129,98	3087,77 ±102,84	3080,81 ±132,84	2768,67 ±167,64	2633,52 ±111,86	1,32	0,296
ЩФ, Ед/л	127,07 ±39,77	152,73 ±27,93	114,24 ±7,36	171,03 ±33,38	112,98 ±16,96	0,74	0,543
ОБ, г/л	63,68 ±2,67	58,49 ±1,91	57,89 ±3,02	64,17 ±3,02	70,09 ±3,68	1,52	0,239
Альбумин, г/л	41,70 ±2,48	35,08 ±2,53	42,63 ±1,56	41,92 ±2,83	40,09 ±1,46	2,16	0,125
МК, мкмоль/л	80,29 ±5,39	81,39 ±5,59	91,72 ±8,53	91,75 ±3,66	63,91 ±10,65	1,09	0,378
Мочевина, ммоль/л	6,97 ±0,57	5,13 ±0,60	4,77 ±0,53	5,65 ±0,53	4,48 ±0,64*	2,98	0,056
ТГ, ммоль/л	0,55 ±0,14	1,26 ±0,11	1,08 ±0,22	0,65 ±0,18	1,03 ±0,26	4,05	0,021
ХСТ, ммоль/л	2,57 ±0,24	3,21 ±0,11	2,95 ±0,31	3,17 ±0,34	2,62 ±0,29	1,22	0,329
САТ, мкмоль/л	468,15 ±78,56	236,69 ±113,03	422,48 ±103,47	516,98 ±190,21	565,92 ±96,12	0,91	0,453
GSH, мкмоль/л	2,15 ±0,37	1,03 ±0,55	1,24 ±0,39	1,02 ±0,60	1,73 ±0,17	1,21	0,333
ROOH, мкмоль/л	20,42 ±2,53	10,11 ±5,21	8,81 ±2,24	8,90 ±2,85	20,84 ±2,45	2,69	0,074
SOD, нг/мл	6,10 ±1,49	3,61 ±1,63	6,80 ±1,71	5,47 ±1,77	7,44 ±0,85	0,69	0,570
Casp7 в печени	0,26 ±0,14	-1,62 ±0,34	-1,63 ±0,14*	-1,81 ±0,21*	-1,40 ±0,22*	18,69	0
Ripk1 в печени	0,31 ±0,15	-0,84 ±0,35	-0,91 ±0,33*	-0,64 ±0,23	-0,44 ±0,32	4,12	0,020
<i>Chek1</i> в печени	0,05 ±0,22	-0,31 ±0,13	-0,48 ±0,45	-0,77 ±0,41	-0,45 ±0,35	1,05	0,39
Sod1 в печени	0,09 ±0,25	-0,78 ±0,31	-1,26 ±0,27*	-1,59 ±0,21*	-0,47 ±0,36	7,71	0,001
Gstm1 в печени	0,14 ±0,14	-0,40 ±0,21	-0,12 ±0,22	-0,69 ±0,19	-0,48 ±0,26	3,43	0,037
Gstt1 в печени	0,39 ±0,12	-2,05 ±0,41	-1,95 ±0,29*	-2,00 ±0,21*	-0,93 ±0,18**	18,74	0
Gstp1 в печени	-0,36 ±0,81	1,73 ±0,13	0,37 ±0,20	1,60 ±0,25*	2,89 ±0,53*	5,23	0,008
<i>Gclc</i> в печени	-0,00 ±0,27	-0,80 ±0,36	-1,00 ±0,29	-0,74 ±0,06	0,11 ±0,26	2,59	0,081
<i>Hmox1</i> в печени	0,07 ±0,41	1,11 ±0,93	-0,16 ±0,34	0,55 ±0,54	-0,45 ±0,33	0,89	0,463

Продолжение таблицы 4.1

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Nqo1</i> в печени	0,25 ±0,36	0,30 ±0,42	0,83 ±0,24	0,80 ±0,29	1,07 ±0,21	0,89	0,462
<i>Nfe2l2</i> в печени	0,19 ±0,36	-1,10 ±0,35	-1,70 ±0,39*	-1,07 ±0,25	-0,11 ±0,22	5,42	0,007
<i>Casp7</i> в почках	0,11 ±0,49	-0,50 ±0,14	-0,36 ±0,23	0,14 ±0,12	0,02 ±0,40	1,29	0,306
<i>Ripk1</i> в почках	0,05 ±0,84	0,41 ±0,31	1,05 ±0,16	0,63 ±0,34	1,32 ±0,36	0,73	0,544
<i>Chek1</i> в почках	-0,09 ±0,81	0,69 ±0,28	0,83 ±0,39	0,42 ±0,15	-0,39 ±0,27	0,72	0,554
<i>Sod1</i> в почках	0,08 ±1,04	0,13 ±0,19	-0,37 ±0,10	-0,60 ±0,11	0,76 ±0,31	0,45	0,723
<i>Gstm1</i> в почках	-0,58 ±1,58	3,89 ±0,25	4,23 ±0,13*	4,79 ±0,28*	3,30 ±0,24*	9,18	0,001
<i>Gstt1</i> в почках	0,10 ±1,69	0,56 ±0,27	0,73 ±0,31	0,27 ±0,18	1,06 ±0,13	0,1	0,956
<i>Gstp1</i> в почках	-0,46 ±1,37	3,33 ±0,24	3,61 ±0,24*	3,53 ±0,18*	3,31 ±0,20*	7,7	0,001

Примечание: Значения представлены в формате «среднее ± стандартное отклонение». Строки, выделенные жирным шрифтом, указывают на наличие статистически значимых различий между группами на основе результатов дисперсионного анализа (ANOVA). Для парных сравнений с использованием поправки Тьюки применяются следующие обозначения: звездочкой (*) отмечены статистически значимые различия групп МГ-1, МГ-2, МГ-10 по сравнению с контрольной группой К-; решеткой (#) отмечены статистически значимые различия групп МГ-1, МГ-2, МГ-10 по сравнению с контрольной группой К+.

В эксперименте с однократным поступлением АА наблюдались значительные метаболические нарушения, которые проявлялись изменением биохимических показателей крови, таких как АСТ (Рисунок 4.1.1.), альбумин (Рисунок 4.1.2) и мочевины (Рисунок 4.1.3). По этим изменениям можно судить о токсическом воздействии АА на организм и о том, что корректирующие препараты принимают участие в снижении данного воздействия.

В группе К+ уровень АСТ составил 287,66 Ед/л, что превышало показатель в группе К- (219,23 Ед/л; $p=0,036$). Препарат МГ-2 снизил уровень АСТ до 219,46 Ед/л ($p=0,036$), а МГ-10 – до 211,07 Ед/л ($p=0,015$). Это указывает на их способность снижать гепатотоксичность акриламида. Антиоксидантные свойства ацетилцистеина, входящего в состав МГ-10, способствовали защите печени от окислительного стресса.

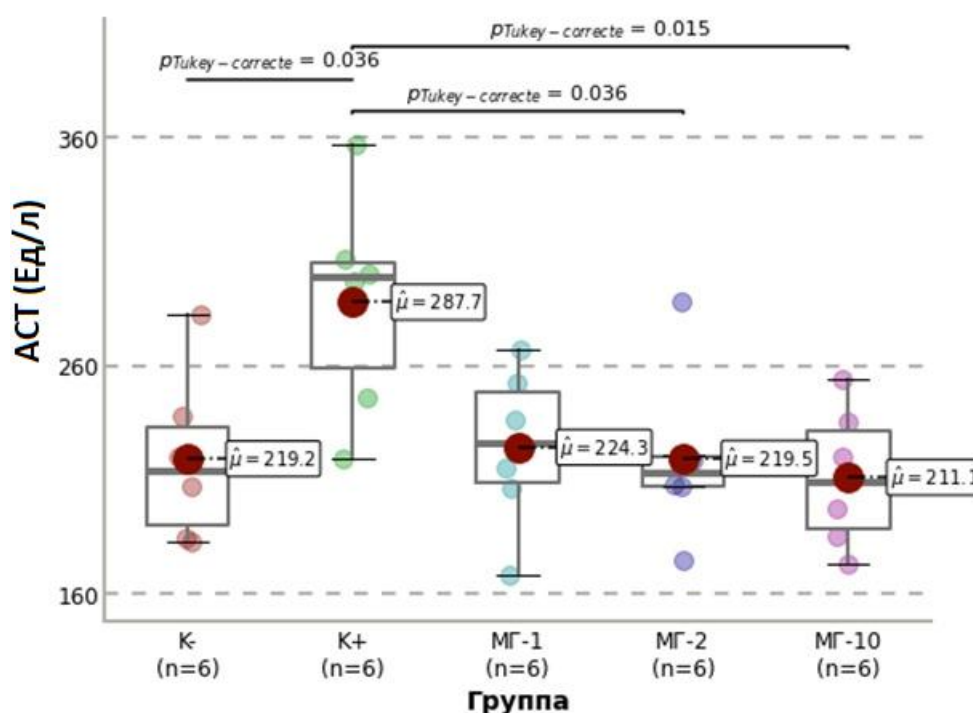


Рисунок 4.1.1 – Уровень АСТ в сыворотке крови крыс после воздействия акриламида и корректирующих препаратов МГ-1, МГ-2 и МГ-10

Уровень альбумина в группе K+ снизился до 33,42 г/л, что значительно ниже уровня в группе K- (43,37 г/л; $p=0,004$). МГ-1 повысил уровень альбумина до 42,63 г/л ($p=0,008$), а МГ-2 – до 41,92 г/л ($p=0,015$). Аскорбиновая кислота и сукцинат натрия в составе препаратов оказали положительное влияние на восстановление функции гепатоцитов.

Наименьший уровень мочевины наблюдался в группе МГ-10 (4,48 ммоль/л) по сравнению с группой K- (6,97 ммоль/л; $p=0,038$). Это указывает на нормализацию азотистого обмена и улучшение функции почек благодаря антиоксидантным свойствам ацетилцистеина.

Препарат МГ-10 показал наибольшую эффективность в защите печени и почек за счет выраженного антиоксидантного действия. МГ-2 также продемонстрировал высокую эффективность, улучшая энергетический обмен клеток. МГ-1 оказал положительное влияние, но его эффект был менее выражен.

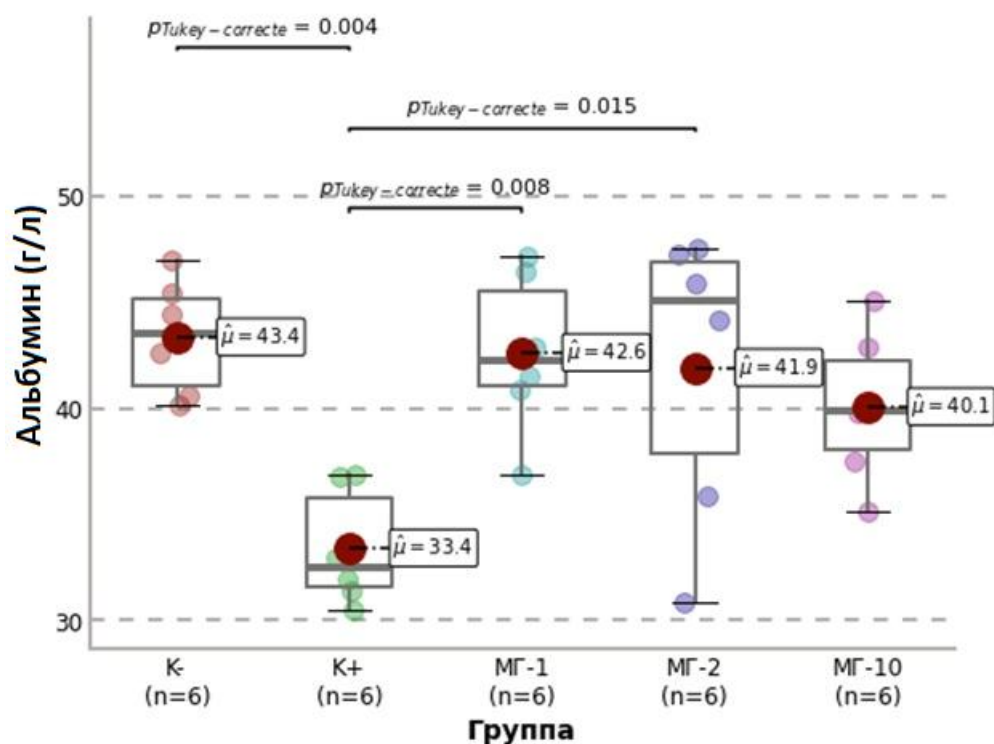


Рисунок 4.1.2 – Уровень альбумина в сыворотке крови крыс после воздействия акриламида и корректирующих препаратов МГ-1, МГ-2 и МГ-10

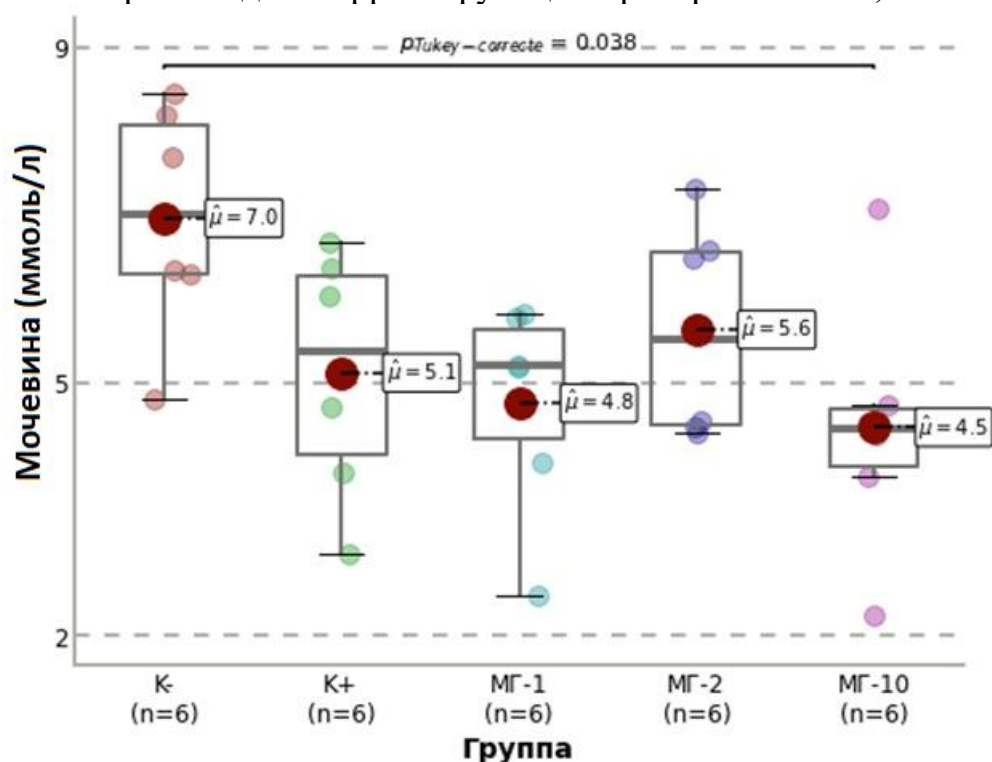


Рисунок 4.1.3 – Уровень мочевины в сыворотке крови крыс после воздействия акриламида и корректирующих препаратов МГ-1, МГ-2 и МГ-10

При анализе показателей антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов статистически значимые межгрупповые различия были выявлены только для уровня пероксидов, тогда как по

активности каталазы, содержанию глутатиона и активности супероксиддисмутазы достоверных различий между исследуемыми группами не установлено ($F=3,36$; $p=0,031$) (Рисунок 4.1.4).

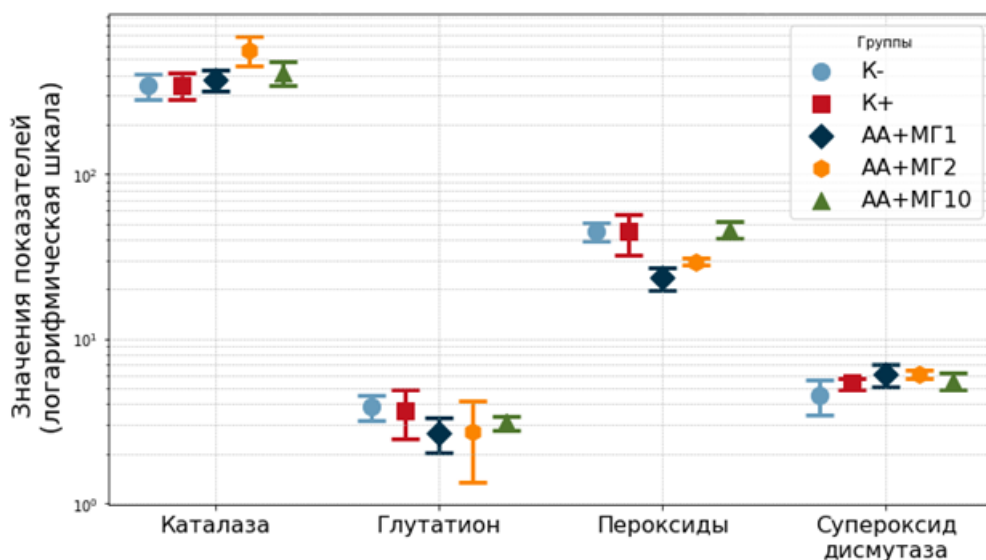


Рисунок 4.1.4 – Значения показателей антиоксидантной системы (каталаза, глутатион, пероксиды, супероксиддисмутаза) в логарифмической шкале

Активность каталазы в интактной группе составила $345,37 \pm 57,96$, в группе положительного контроля – $349,23 \pm 65,38$, в группе МГ-1 – $374,01 \pm 53,95$, в группе МГ-2 – $572,09 \pm 113,41$, в группе МГ-10 – $417,50 \pm 70,91$. Несмотря на более высокое среднее значение в группе МГ-2, однофакторный дисперсионный анализ не выявил статистически значимых различий между группами ($F=1,43$; $p=0,261$).

Содержание глутатиона в группе К- составило $3,83 \pm 0,66$, в группе К+ – $3,68 \pm 1,22$, в группе МГ-1 – $2,66 \pm 0,65$, в группе МГ-2 – $2,74 \pm 1,41$, в группе МГ-10 – $3,09 \pm 0,30$. Несмотря на некоторое снижение средних значений в группах МГ-1 и МГ-2 относительно интактного контроля, межгрупповые различия не достигали статистической значимости по данным однофакторного дисперсионного анализа ($F=0,46$; $p=0,766$).

Наиболее выраженные межгрупповые различия были отмечены при анализе уровня пероксидов. В интактной группе данный показатель составил $45,09 \pm 5,58$, в группе положительного контроля – $44,67 \pm 12,75$, в группе МГ-1 – $23,35 \pm 3,73$, в группе МГ-2 – $29,47 \pm 1,51$, в группе МГ-10 – $46,03 \pm 5,40$. По

результатам однофакторного дисперсионного анализа установлены статистически значимые различия между группами ($F=3,36$; $p=0,031$), что указывает на наличие неоднородности по данному показателю. Вместе с тем при проведении множественных попарных сравнений по критерию Тьюки статистически значимых различий между отдельными группами выявлено не было. Наиболее близкими к уровню значимости оказались сравнения группы МГ-1 с группой МГ-10 ($p=0,058$) и с интактной группой К- ($p=0,073$), что может свидетельствовать о тенденции к снижению уровня пероксидов при введении МГ-1. Следует отметить, что значения в группах К- и К+ практически не различались ($p=1,000$), а в группе МГ-10 уровень пероксидов был сопоставим с обеими контрольными группами. Сохранение высоких значений пероксидов в группе МГ-10 может отражать отсутствие коррекции процессов оксидативного стресса в этих условиях.

Активность супероксиддисмутазы в группе К- составила $4,53 \pm 1,10$, в группе К+ $-5,35 \pm 0,42$, в группе МГ-1 $-6,06 \pm 0,95$, в группе МГ-2 $-6,09 \pm 0,41$, в группе МГ-10 $-5,52 \pm 0,63$. Несмотря на несколько более высокие средние значения в группах профилактической коррекции по сравнению с интактным контролем, однофакторный дисперсионный анализ не выявил статистически значимых межгрупповых различий ($F=0,59$; $p=0,672$).

Изменение уровня экспрессии изучаемых генов в печени крыс в зависимости от токсического воздействия АА и используемых препаратов коррекции представлена на Рисунке 4.1.5. Через 24 часа после однократного введения акриламида в печени крыс выявлены значимые межгрупповые различия в экспрессии *Casp7*, *Ripk1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstt1*, *Gstp1* и *Nfe2l2* ($F=3,43-18,74$; $p=0,037-0,001$). Наиболее выраженные изменения касались снижения экспрессии *Casp7* в группе К+ по сравнению с К- ($-1,62$ против $0,26$; $p=0,001$), сохранявшегося также в группах МГ-1 ($-1,63$), МГ-2 ($-1,81$) и МГ-10 ($-1,4$) ($p=0,001$). Снижение экспрессии генов *Ripk1*, *Sod1*, *Gstm1* и *Gstt1* отражало изменения молекулярных систем клеточной защиты: для *Ripk1* наиболее низкий уровень отмечен в группе МГ-1 ($-0,91$) при максимальном значении в

К- (0,31), причем статистически значимое отличие от К- установлено только для МГ-1 ($p=0,044$), тогда как в К+ экспрессия составляла -0,84 ($p=0,062$), в МГ-2 – -0,64 ($p=0,168$), в МГ-10 – -0,44 ($p=0,367$). Для *Sod1* наиболее выраженное снижение наблюдалось в группах МГ-1 (-1,26; $p=0,020$) и особенно МГ-2 (-1,59; $p=0,003$) по сравнению с К- (0,09), а для *Gstm1* минимальное значение также зарегистрировано в МГ-2 (-0,69) при максимуме в К- (0,14); в К+ экспрессия составляла -0,4 без статистической значимости относительно контроля ($p=0,375$).

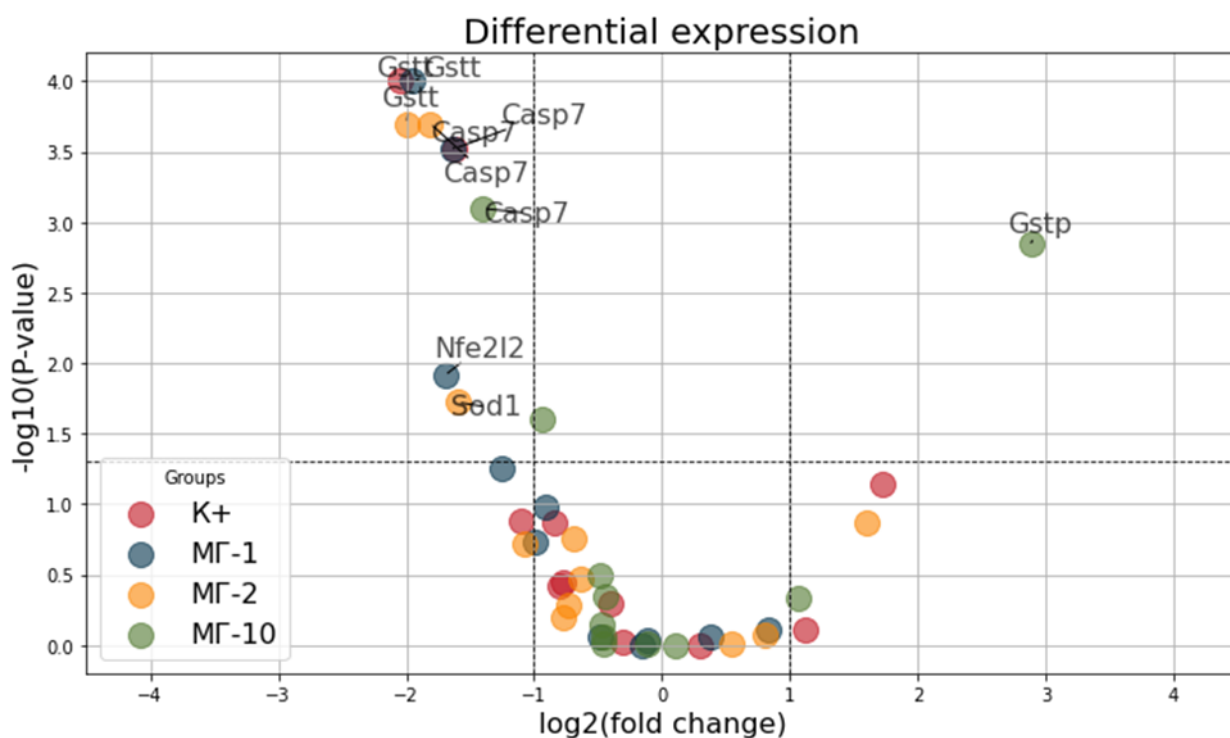


Рисунок 4.1.5 – Профиль экспрессии ключевых генов в печени крыс в условиях однократного токсического воздействия акриламида и фармакологической коррекции

Наиболее отчетливые изменения среди генов детоксикации выявлены для *Gstm1* ($F=18,74$; $p=0,001$): в К+ экспрессия снижалась до -2,05 против 0,39 в К-, сходные значения отмечались в МГ-1 (-1,95; $p=0,001$) и МГ-2 (-2,0; $p=0,001$), тогда как в МГ-10 снижение было менее выраженным (-0,93; $p=0,011$), а различие с К+ оставалось статистически значимым ($p=0,039$). В отличие от этого, экспрессия *Gstm1* возрастала: в К+ она достигала 1,73 против -0,36 в К- ($p=0,027$), оставаясь повышенной в МГ-2 (1,6; $p=0,042$) и особенно

в МГ-10 (2,89; $p=0,001$). Для *Nfe2l2* наиболее низкий уровень был характерен для МГ-1 (-1,7; $p=0,003$), тогда как в K^+ экспрессия составляла -1,1 по сравнению с 0,19 в K^- ($p=0,06$), а в МГ-10 показатель был выше (-0,11; $p=0,014$ по сравнению с МГ-1). Наиболее благоприятный профиль экспрессионных изменений наблюдался в группе МГ-10, что проявлялось менее выраженным снижением *Gstm1* и повышением *Gstp1* и *Nfe2l2*, тогда как эффекты МГ-1 и МГ-2 были менее выраженными.

На Рисунке 4.1.6 показано изменение уровня транскрипционной активности изучаемых генов в почках крыс при токсическом воздействии акриламида и фармакологической коррекции.

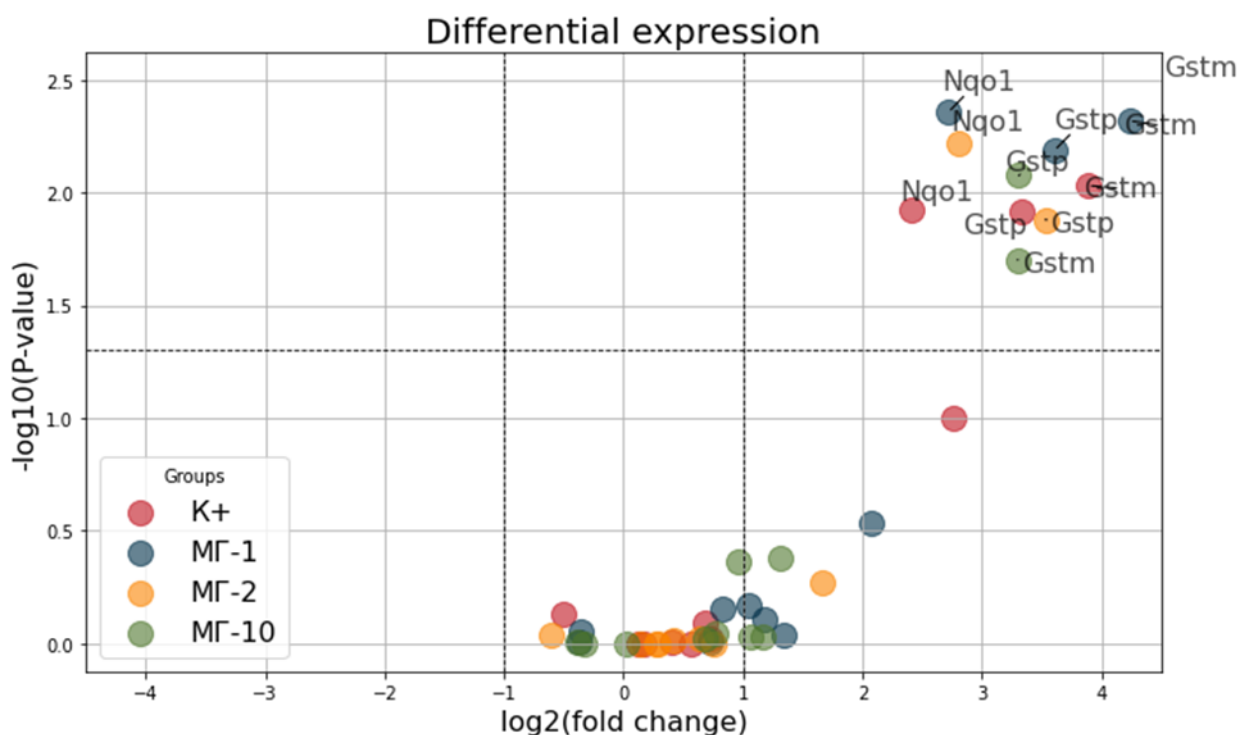


Рисунок 4.1.6 – Профиль экспрессии ключевых генов в почках крыс в условиях однократного токсического воздействия акриламида и фармакологической коррекции

В почках через 24 часа после однократного введения акриламида выявлены значимые межгрупповые различия в экспрессии *Gstm1* и *Gstp1* ($F=9,18$; $p=0,001$ и $F=7,7$; $p=0,001$ соответственно). Для *Gstm1* минимальный уровень зарегистрирован в группе K^- (-0,58), тогда как в группе K^+ экспрессия возрастала до 3,89 ($p=0,002$), а в группах коррекции оставалась еще выше: 4,23

в МГ-1 ($p=0,001$), 4,79 в МГ-2 ($p=0,001$) и 3,3 в МГ-10 ($p=0,008$). Аналогичная направленность отмечена для *Gstp1*: при минимальном значении в группе К- (-0,46) экспрессия повышалась до 3,33 в К+ ($p=0,003$), 3,61 в МГ-1 ($p=0,001$), 3,53 в МГ-2 ($p=0,002$) и 3,31 в МГ-10 ($p=0,003$). Эти изменения указывают на активацию ферментативных механизмов детоксикации и антиоксидантной защиты в ответ на воздействие акриламида, причем в ряде случаев на фоне введения корректоров эффект был более выраженным, чем в группе К+.

С учетом полученных ранее молекулярных данных показано, что экспрессия *Casp7* на фоне введения препаратов МГ оставалась сниженной, достигая минимального значения в группе МГ-2 (-1,81), тогда как для *Sod1* наиболее выраженное снижение также наблюдалось в группе МГ-2 (-1,59). В совокупности результаты свидетельствуют о том, что однократное воздействие акриламида сопровождается развитием токсических изменений в печени и почках, затрагивающих как биохимические показатели, так и экспрессию генов, связанных с апоптозом, окислительным стрессом и детоксикацией. Применение препаратов МГ-1, МГ-2 и МГ-10 модифицировало выраженность этих нарушений. Наиболее отчетливые сдвиги экспрессии *Gstm1* и *Gstp1* в почках наблюдались в группах МГ-2 и МГ-1.

По результатам исследования установлено, что уже через 24 часа после однократного воздействия акриламида у крыс развиваются ранние токсические изменения, затрагивающие преимущественно печень и почки. Это проявлялось сдвигами биохимических показателей крови, прежде всего повышением активности АСТ, изменениями уровня альбумина, мочевины и триглицеридов, что свидетельствует о нарушении функционального состояния гепаторенальной системы и метаболического гомеостаза. Одновременно выявлены изменения экспрессии генов, связанных с апоптозом, антиоксидантной защитой и детоксикацией. В печени наиболее значимые сдвиги затрагивали *Casp7*, *Ripk1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstt1*, *Gstp1* и *Nfe2l2*, тогда как в почках статистически значимые изменения были установлены для

Gstm1 и *Gstp1*. При этом по уровню пероксидов статистически значимых различий между группами не выявлено, что указывает на неоднозначность сывороточных проявлений оксидативного стресса в ранние сроки наблюдения. Наиболее благоприятный совокупный эффект отмечен для МГ-10, применение которого сопровождалось снижением активности АСТ, менее выраженными нарушениями в системе детоксикации печени, в том числе по экспрессии *Gstt1*, а также более благоприятным профилем экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой и адаптационно-детоксикационным ответом, прежде всего *Gstp1* и *Nfe2l2*. Полученные результаты показывают, что острое воздействие акриламида уже в первые сутки индуцирует системный токсический ответ с вовлечением биохимических и молекулярно-генетических механизмов повреждения, тогда как фармакологическая коррекция способна частично ограничивать его выраженность.

4.2 Подострая интоксикация акриламидом и эффективность профилактической коррекции

В отличие от однократного воздействия, продолжительная экспозиция акриламида приводит к постепенному вовлечению различных систем органов и развитию более сложных, адаптивно-компенсаторных и патологических реакций. Важным аспектом данного этапа работы являлась оценка эффективности препаратов МГ-1, МГ-2 и МГ-10 в качестве средств фармакологической коррекции системных нарушений и снижения тяжести токсических проявлений. Полученные результаты позволяют раскрыть механизмы протекторного действия исследуемых препаратов и обосновать перспективы их дальнейшего применения в условиях хронического токсического воздействия акриламида. В Таблице 4.2.1 представлены результаты комплексного анализа, включающего изменение веса тела, поведенческие, биохимические, гематологические и молекулярные показатели.

Таблица 4.2.1 – Сводная таблица результатов эксперимента с данными статистического анализа

Показатель	К-	К+	МГ-1	МГ-2	МГ-10	F	p
1	2	3	4	5	6	7	8
ВДА, усл. ед.	2,50 ±0,50	0,17 ±0,17	1,17 ±0,40	1,00 ±0,37*	0,33 ±0,21*	6,52	0,003
ГДА, усл. ед.	15,83 ±3,37	16,50 ±2,57	18,17 ±2,95	20,00 ±4,35	10,17 ±2,75	0,3	0,822
Норковый рефлекс, усл. ед.	5,33 ±1,20	1,83 ±0,54	2,67 ±0,33	1,83 ±0,17*	1,67 ±0,80*	5,86	0,005
Эмоциональная реактивность, болюсы	0,00 ±0,00	0,33 ±0,21	2,33 ±0,33*#	0,17 ±0,17	0,33 ±0,21	26,01	0,001
Груминг, усл. ед.	0,50 ±0,34	0,67 ±0,21	1,33 ±0,49	1,17 ±0,31	0,67 ±0,33	1,26	0,315
Масса тела в начале, г	190,67 ±3,15	190,00 ±2,61	191,17 ±1,66	192,50 ±1,73	190,00 ±1,98	0,2	0,895
Масса тела на 7-е сутки, г	199,33 ±2,95	194,83 ±4,50	192,67 ±3,12	198,00 ±3,10	198,00 ±1,71	0,76	0,532
Масса тела на 13-е сутки, г	205,33 ±5,19	201,00 ±4,75	202,17 ±2,14	202,50 ±3,40	203,00 ±3,34	0,21	0,891
Масса тела на 21-е сутки, г	211,83 ±5,16	203,83 ±4,61	206,33 ±2,56	207,67 ±4,08	210,17 ±2,94	0,63	0,604
Масса тела на 27-е сутки, г	211,50 ±4,45	205,17 ±4,59	206,83 ±3,41	206,67 ±3,86	204,83 ±2,89	0,45	0,722
Изменение массы тела, г	20,83 ±2,82	15,17 ±2,47	15,67 ±2,79	14,17 ±2,75	14,83 ±3,06	1,21	0,332
Коэффициент печени, %	33,82 ±0,52	32,45 ±0,55	31,95 ±0,66	31,85 ±0,64	30,73 ±0,72*	2,32	0,106
Коэффициент почек, %	6,12 ±0,11	6,10 ±0,07	6,22 ±0,04	6,32 ±0,09	6,52 ±0,07*#	1,58	0,226
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	4,57 ±0,83	4,30 ±0,60	4,32 ±0,81	4,43 ±0,67	5,42 ±0,58	0,03	0,993
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	7,20 ±0,10	6,50 ±0,18	6,33 ±0,12*	6,55 ±0,18*	6,50 ±0,13*	6,48	0,003
Гемоглобин, г/л	140,67 ±1,74	130,33 ±1,99	130,33 ±1,50*	134,50 ±3,31	133,50 ±2,05	4,71	0,012
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	225,17 ±16,46	299,00 ±17,88	275,67 ±20,42	287,50 ±37,82	275,00 ±9,79	1,74	0,192
Гематокрит, %	37,63 ±1,10	36,73 ±0,86	38,02 ±0,51	39,68 ±1,01	39,85 ±0,80	1,89	0,165
Лимфоциты, %	86,03 ±5,00	91,33 ±0,90	84,67 ±6,21	89,02 ±2,87	89,32 ±2,33	0,49	0,690
Моноциты, %	7,62 ±1,00	5,63 ±0,80	6,85 ±2,50	6,38 ±1,05	6,60 ±1,18	0,31	0,820
Гранулоциты, %	6,23 ±4,32	2,87 ±0,45	8,33 ±4,02	4,50 ±2,39	4,00 ±1,32	0,54	0,661
АСТ, Ед/л	182,40 ±8,96	210,81 ±7,04	221,71 ±13,82	199,34 ±6,10	208,57 ±11,36	3,16	0,047
АЛТ, Ед/л	53,70 ±2,05	50,19 ±1,76	55,32 ±1,60	53,27 ±3,81	49,41 ±2,68	0,75	0,533

Продолжение таблицы 4.2.1

1	2	3	4	5	6	7	8
ЛДГ, Ед/л	3069,56 ±130,29	3084,94 ±102,79	3080,81 ±133,06	2767,01 ±165,86	2635,19 ±111,38	1,34	0,291
ЩФ, Ед/л	165,40 ±26,80	154,06 ±27,17	119,24 ±5,81	170,20 ±34,15	107,65 ±18,69	0,8	0,510
ОБ, г/л	59,00 ±0,86	56,83 ±0,73	59,56 ±0,57	61,50 ±1,83	57,59 ±1,20	2,99	0,055
Альбумин, г/л	37,70 ±0,60	35,92 ±0,63	37,63 ±0,52	38,59 ±1,13	36,42 ±0,66	2,16	0,124
МК, мкмоль/л	75,79 ±3,08	80,06 ±4,10	89,55 ±6,84	89,58 ±1,84	65,91 ±9,10	2,52	0,087
Мочевина, ммоль/л	5,97 ±0,24	5,13 ±0,21	5,27 ±0,26	4,98 ±0,21	4,48 ±0,47*	3,67	0,030
ТГ, ммоль/л	0,38 ±0,07	0,43 ±0,06	0,41 ±0,05	0,49 ±0,07	0,37 ±0,12	0,47	0,709
ХСТ, ммоль/л	2,07 ±0,23	2,21 ±0,11	2,45 ±0,16	2,50 ±0,21	2,12 ±0,20	1,18	0,342
<i>Casp7</i> в печени	-0,02 ±0,37	0,65 ±0,16	-0,74 ±0,98	-0,30 ±0,12	2,88 ±1,40	1,2	0,334
<i>Ripk1</i> в печени	0,02 ±0,29	-0,04 ±0,17	-0,24 ±0,63	-0,52 ±0,98	-0,42 ±0,85	0,16	0,921
<i>Chek1</i> в печени	0,04 ±0,40	0,58 ±0,18	-1,17 ±0,50	-1,74 ±0,16	3,18 ±1,50*	9,68	0,001
<i>Sod1</i> в печени	0,05 ±0,55	0,79 ±0,35	-2,81 ±1,93	-3,42 ±0,26	-1,54 ±1,34	4,1	0,020
<i>Gstm1</i> в печени	-0,01 ±0,44	0,92 ±0,21	0,10 ±0,37	-1,14 ±0,35[#]	-0,92 ±0,13[#]	5,79	0,005
<i>Gstt1</i> в печени	0,05 ±0,37	0,25 ±0,28	-1,26 ±0,53	-2,29 ±0,49	0,66 ±1,45	7,63	0,001
<i>Gstp1</i> в печени	-0,02 ±0,44	1,78 ±0,41	3,12 ±0,41*	2,72 ±0,47*	3,62 ±1,03*	10,22	0,001
<i>Gclc</i> в печени	0,18 ±0,40	-0,29 ±0,23	-1,78 ±1,19	-1,85 ±0,20	0,97 ±1,02	2,57	0,083
<i>Hmox1</i> в печени	0,06 ±0,41	0,94 ±0,36	2,29 ±0,43	1,96 ±0,42	-1,16 ±2,16	6,23	0,004
<i>Nqo1</i> в печени	0,15 ±0,53	0,16 ±0,40	3,06 ±0,60*[#]	3,42 ±0,55*[#]	1,04 ±1,05	11,6	0,001
<i>Nfe2l2</i> в печени	-0,01 ±0,88	-0,23 ±0,27	0,64 ±0,26	0,61 ±0,36	1,03 ±0,84	0,73	0,548
<i>Casp7</i> в почках	0,17 ±0,56	0,35 ±0,31	2,27 ±0,56*[#]	2,48 ±0,22*[#]	3,11 ±0,37*[#]	7,77	0,001
<i>Ripk1</i> в почках	-0,01 ±0,54	0,99 ±0,28	2,93 ±0,29*[#]	3,77 ±0,12*[#]	2,51 ±0,45*[#]	25,64	0
<i>Chek1</i> в почках	0,78 ±1,24	-1,66 ±0,94	3,27 ±0,55[#]	3,00 ±0,52[#]	1,37 ±0,54	7,03	0,002
<i>Sod1</i> в почках	-0,09 ±1,81	2,05 ±0,34	2,75 ±0,65	0,74 ±0,93	3,98 ±0,93	1,4	0,271
<i>Gstm1</i> в почках	0,40 ±1,12	-2,59 ±0,32	-2,40 ±1,04	-1,66 ±1,12	2,22 ±1,20[#]	2,03	0,143

Продолжение таблицы 4.2.1

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Gstt1</i> в почках	0,19 ±1,32	-1,28 ±0,22	-0,25 ±0,65	-1,51 ±1,28	2,46 ±1,33	0,69	0,569
<i>Gstp1</i> в почках	-0,31 ±1,10	2,22 ±0,90	2,99 ±0,73	2,39 ±0,97	4,03 ±0,47*	2,44	0,095
<i>Gclc</i> в почках	-0,02 ±1,83	0,14 ±0,25	0,80 ±1,06	-0,85 ±1,25	3,29 ±1,53	0,3	0,824
<i>Hmox1</i> в почках	-0,10 ±0,44	0,44 ±0,13	1,43 ±0,21*	2,00 ±0,18*#	2,63 ±0,56*#	12,36	0,001
<i>Nqo1</i> в почках	-0,38 ±0,37	2,66 ±0,20	0,85 ±0,51	-0,87 ±1,06#	2,56 ±0,29*	6,33	0,003

Примечание: Значения представлены в формате «среднее ± стандартное отклонение». Строки, выделенные жирным шрифтом, указывают на наличие статистически значимых различий между группами на основе результатов дисперсионного анализа (ANOVA). Для парных сравнений с использованием поправки Тьюки применяются следующие обозначения: звездочкой (*) отмечены статистически значимые различия групп МГ-1, МГ-2, МГ-10 по сравнению с контрольной группой К-; решеткой (#) отмечены статистически значимые различия групп МГ-1, МГ-2, МГ-10 по сравнению с контрольной группой К+.

Рисунки ниже отражают характерные изменения ВДА (Рисунок 4.2.1), норкового рефлекса (Рисунок 4.2.2) и эмоциональной реактивности (Рисунок 4.2.3) в соответствующих группах.

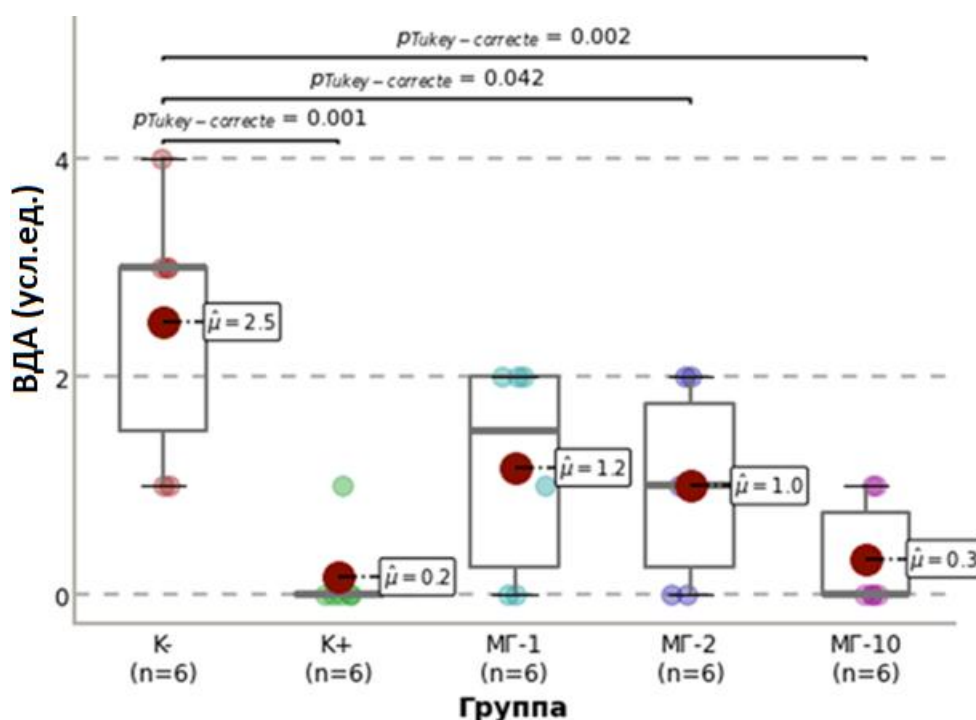


Рисунок 4.2.1 – Среднее значение ВДА в исследуемых группах

Анализ данных выявил статистически значимые различия в ВДА между группами ($F=6,52$; $p=0,003$). В группе К⁺ среднее значение ВДА составило 0,17, что значительно ниже, чем в группе К⁻ (2,5, $p=0,001$). В группе МГ-2 показатель также был статистически ниже К⁻ ($p=0,042$), а в группе МГ-10 – существенно ниже ($p=0,002$). Введение акриламида значительно снижало уровень ВДА, что связано с его нейротоксическим эффектом, однако применение препаратов МГ-1, МГ-2 и МГ-10 частично уменьшало негативное влияние.

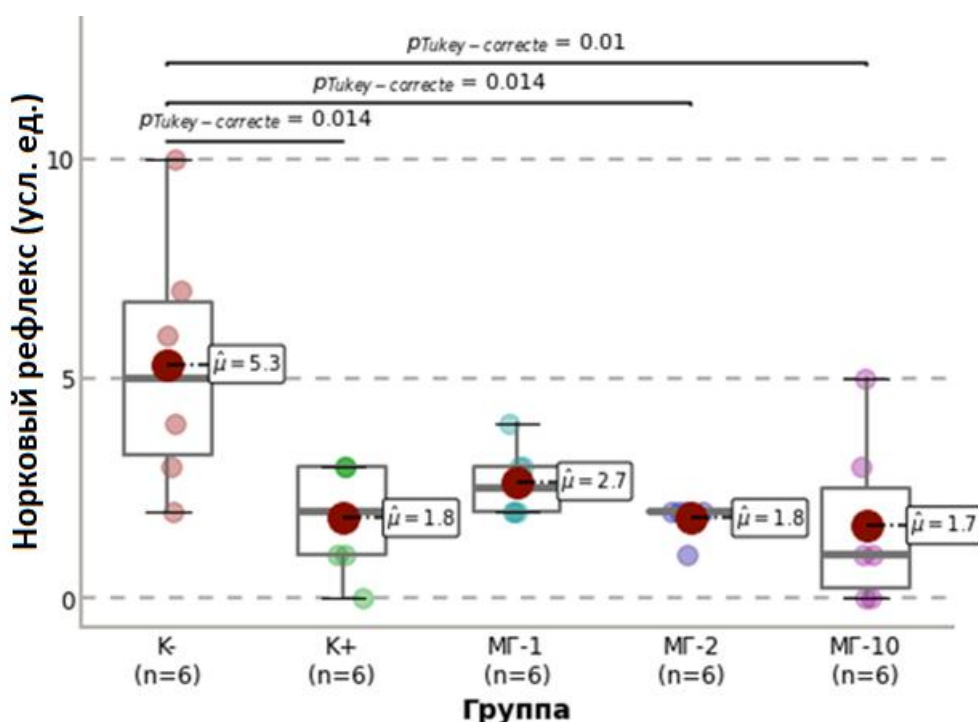


Рисунок 4.2.2 – Среднее значение норкового рефлекса в исследуемых группах

Различия в показателе норкового рефлекса достигли статистической значимости ($F=5,86$; $p=0,005$). В группе К⁺ показатель составил 1,83, что значительно ниже, чем в группе К⁻ (5,33, $p=0,014$). В группах МГ-2 и МГ-10 также наблюдалось статистически значимое снижение по сравнению с К⁻ ($p=0,014$ и $p=0,010$ соответственно). Снижение норкового рефлекса в группе К⁺ отражает выраженное нейротоксическое действие акриламида, повреждающее центральную нервную систему и нарушающее когнитивные и двигательные функции. Препараты МГ-1, МГ-2 и МГ-10 лишь частично компенсировали эти эффекты, не достигая полного восстановления.

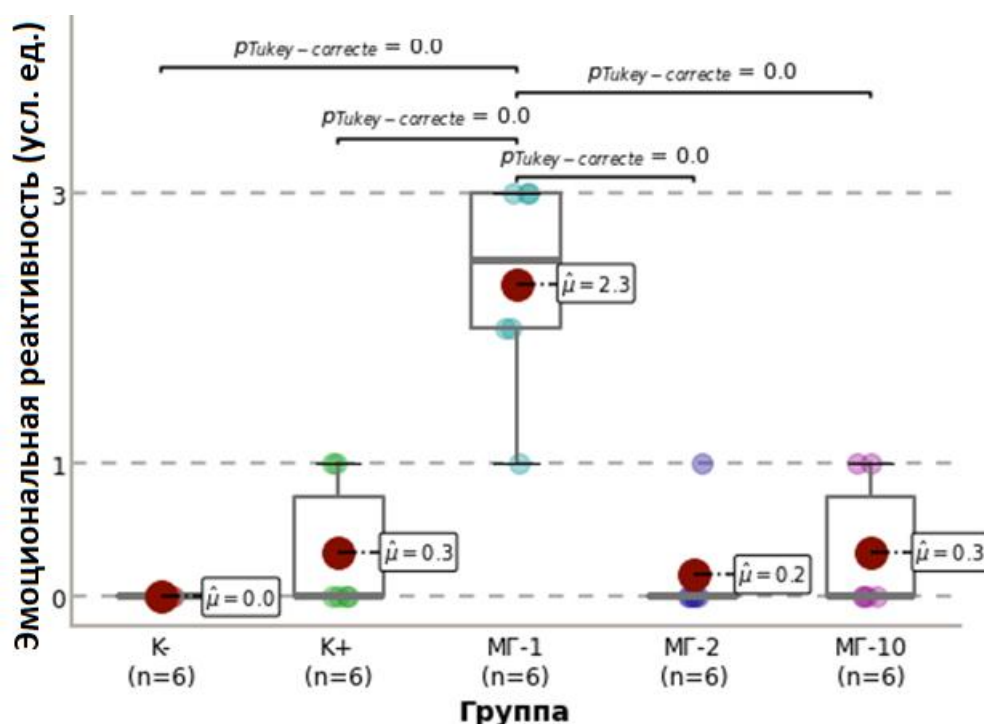


Рисунок 4.2.3 – Среднее значение эмоциональной реактивности в исследуемых группах

Уровень эмоциональной реактивности между группами также существенно различался ($F=26,01$; $p<0,001$). Максимальный показатель был в группе МГ-1 (2,33), что значительно превышало значения в К- (0,0) и К+ (0,33) ($p<0,001$). По сравнению с К+, эмоциональная реактивность в МГ-1 была значительно выше (2,33 против 0,33, $p<0,001$), что может свидетельствовать о стимулирующем воздействии препарата на ЦНС. Однако это повышение указывает на усиление эмоциональной лабильности под воздействием МГ-1, вероятно, за счет модуляции нейронной активности или нейромедиаторных систем. Более низкие показатели эмоциональной реактивности в группах МГ-2 и МГ-10 указывают на их более мягкое влияние на ЦНС.

Акриламид вызывает значительное снижение вертикальной двигательной активности и норкового рефлекса, отражая его нейротоксическое воздействие. Препараты МГ-1, МГ-2 и МГ-10 частично снижают негативное влияние акриламида, но не обеспечивают полного восстановления. МГ-1 усиливает эмоциональную реактивность, что может быть связано с его стимулирующим воздействием на ЦНС, в то время как МГ-2 и МГ-10 оказывают более мягкое влияние на поведенческие реакции.

В ходе проведенного исследования были получены данные, свидетельствующие о статистически значимых различиях в уровне эритроцитов ($F=6,48$; $p=0,003$) и гемоглобина ($F=4,71$; $p=0,012$) между экспериментальными группами (Рисунок 4.2.4).

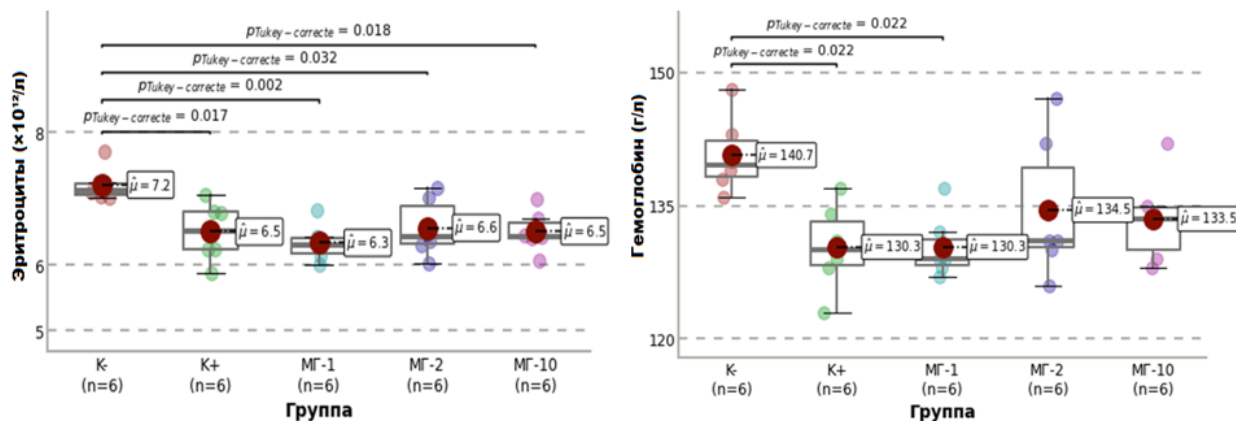


Рисунок 4.2.4 – Средние значения уровня эритроцитов и гемоглобина в исследуемых группах

При подостром воздействии акриламида в течение 28 дней выявлены изменения эритроцитарного звена крови. В группе К+ средний уровень эритроцитов составил $6,5 \times 10^{12}/л$, что было ниже по сравнению с группой К- ($p=0,017$); статистически значимые различия с группой К- сохранялись и во всех группах коррекции. Аналогичная направленность изменений отмечена для гемоглобина: в группе К+ его уровень был достоверно ниже, чем в группе К- ($p=0,022$). В группе МГ-1 концентрация гемоглобина составила 130,33 г/л, оставаясь сопоставимой с К+ и также ниже уровня интактного контроля ($p=0,022$). Полученные данные свидетельствуют о том, что подострое воздействие акриламида сопровождается снижением эритроцитарных показателей крови. Применение корректирующих препаратов не обеспечивало полной нормализации исследованных параметров, что указывает на ограниченную выраженность их защитного эффекта в условиях 28-дневной экспозиции.

В результате проведенного анализа данных были выявлены различия в уровне АСТ среди исследуемых групп, которые достигли статистически значимого уровня ($F=3,16$; $p=0,047$) (Рисунок 4.2.5).

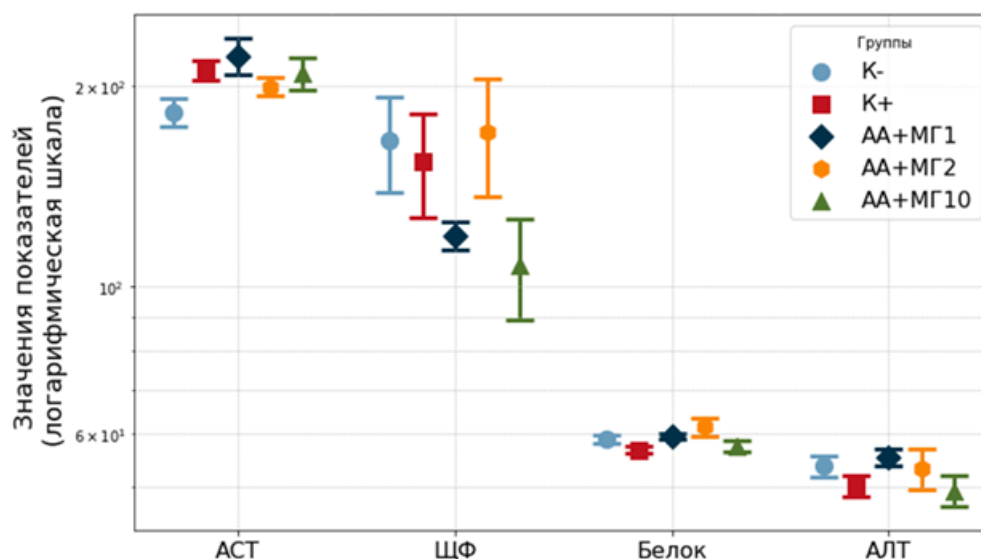


Рисунок 4.2.5 – Средние значения биохимических показателей крови (АСТ, ЩФ, белок, АЛТ)

Результаты исследования показывают тенденцию к повышению уровня АСТ в группах, получавших акриламид после введения коррекционных препаратов, что может указывать на влияние акриламида и препаратов на функцию печени.

Полученные данные подчеркивают необходимость дальнейших исследований для более точной оценки эффективности коррекционных препаратов при токсическом воздействии акриламида. Наблюдаемые различия в уровнях АСТ между группами предполагают, что препараты МГ-2 и МГ-10 могут оказывать более выраженное защитное действие на печень, чем МГ-1, однако требуется дополнительный анализ других биомаркеров и функциональных показателей для полной оценки их терапевтической ценности.

Анализ показателей уровня мочевины в различных группах продемонстрировал статистически значимые различия ($F=3,67$; $p=0,030$) (Рисунок 4.2.6). Наименьший уровень мочевины был зафиксирован в группе, получавшей препарат МГ-10 (4,48 ммоль/л), и этот показатель был существенно ниже, чем в группе К- ($p=0,011$). Можно заключить, что введение корректирующих препаратов привело к снижению уровня мочевины, особенно выраженному в группе МГ-10.

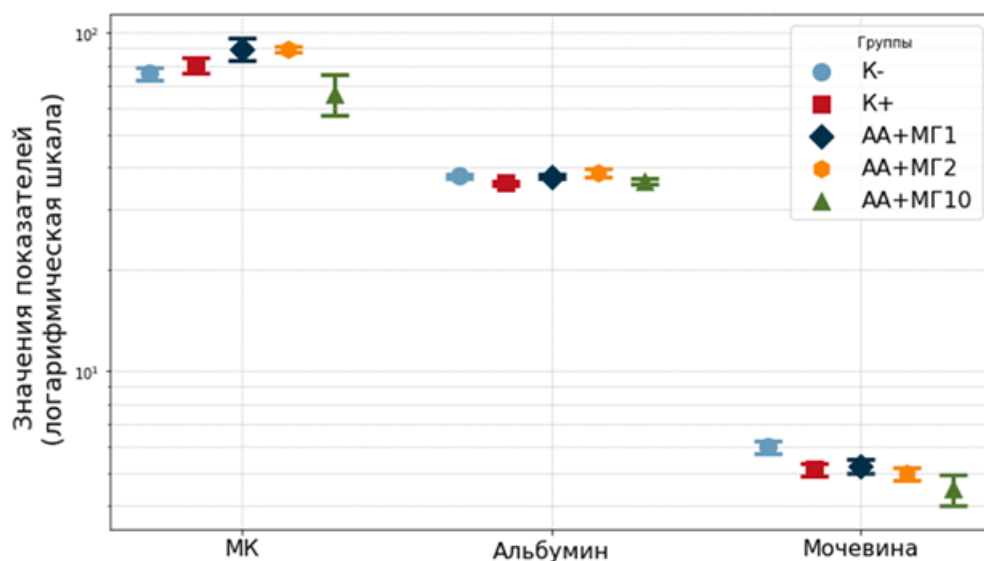


Рисунок 4.2.6 – Средние значения биохимических показателей крови (МК, альбумин, мочевина)

На Рисунке 4.2.7 показана динамика экспрессии генов в печени крыс в зависимости от экспериментального воздействия токсиканта и используемой фармакологической коррекции. В печени выявлены значимые межгрупповые различия в экспрессии генов *Chek1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstt1*, *Gstp1* и *Nqo1* ($F=4,1$ – $9,68$; $p=0,020$ – $0,001$). Наиболее выраженные изменения по *Chek1* отмечены в группе МГ-10, где уровень экспрессии достигал $3,18$ и был выше по сравнению с K- ($p=0,043$), МГ-1 ($-1,17$; $p=0,003$) и МГ-2 ($-1,74$; $p=0,001$). Для *Sod1* также установлены значимые различия ($F=4,1$; $p=0,020$): в группе K+ экспрессионная активность была выше, чем в K- ($0,79$ против $0,05$), тогда как на фоне введения препаратов МГ-1, МГ-2 и МГ-10 отмечалось ее снижение. Транскрипция гена *Gstm1* различалась между группами ($F=5,79$; $p=0,005$): в группе K+ показатель составил $0,92$, тогда как в МГ-2 он снижался до $-1,14$ ($p=0,001$), а в МГ-10 также был ниже уровня K+ ($-0,92$; $p=0,004$). Для *Gstt1* наиболее низкий уровень зарегистрирован в группе МГ-2 ($-2,29$) при наличии значимых межгрупповых различий ($F=7,63$; $p=0,001$); экспрессия в МГ-1 была выше, чем в МГ-2, но ниже, чем в МГ-10. Напротив, *Gstp1* характеризовался повышенной экспрессией, достигая максимума в группе МГ-10 ($3,62$; $p=0,002$) по сравнению с K- ($-0,02$); сходная направленность сохранялась в МГ-1 ($3,12$;

$p=0,009$) и МГ-2 (2,72; $p=0,028$). Транскрипционная активность гена *Nqo1* также возросла преимущественно в группах коррекции и была наиболее высокой в МГ-2 (3,42; $p=0,014$) и МГ-1 (3,06; $p=0,035$) по сравнению с К- (0,15), тогда как в группе К⁺ ее уровень оставался ниже, чем в МГ-1 и МГ-2. Наиболее благоприятный профиль экспрессионных изменений наблюдался в группе МГ-10 за счет повышения *Chek1* и *Gstp1*, тогда как для МГ-2 были характерны наиболее выраженное снижение *Gstm1* и *Gstt1* при одновременном увеличении *Nqo1*.

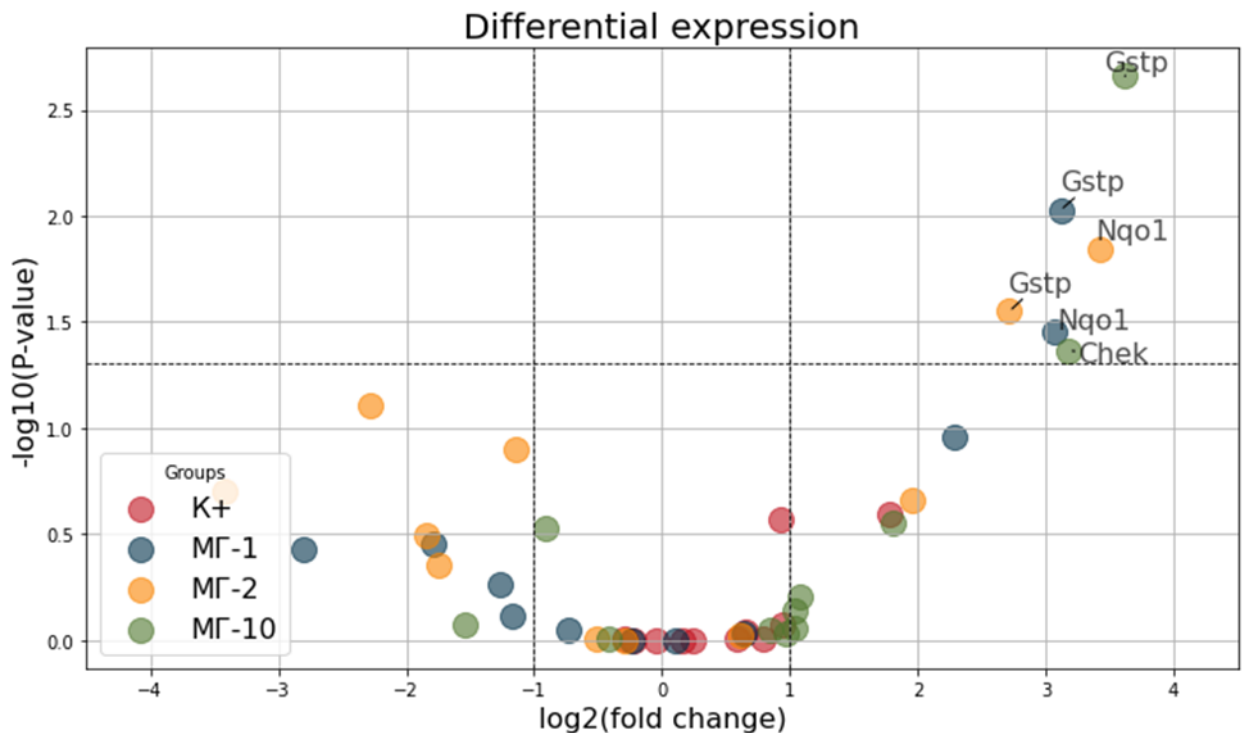


Рисунок 4.2.7 – Профиль экспрессии ключевых генов в печени крыс в условиях подострого токсического воздействия акриламида и фармакологической коррекции

Изменение транскрипционной активности генов в почках крыс в зависимости от экспериментального воздействия токсиканта и используемой фармакологической коррекции показано на Рисунке 4.2.8. В ткани почек на 28-е сутки подострого эксперимента статистически значимые межгрупповые различия выявлены для экспрессии генов *Casp7*, *Ripk1*, *Chek1*, *Hmox1* и *Nqo1*.

Экспрессия *Casp7* в почках достоверно различалась между группами ($F=7,77$; $p=0,001$). В группах профилактической коррекции отмечалось

выраженное повышение транскрипционной активности данного гена по сравнению с интактным контролем: до 2,27 в группе МГ-1, 2,48 в группе МГ-2 и 3,11 в группе МГ-10 при значении 0,17 в группе К-. Кроме того, во всех трех группах коррекции уровень экспрессии *Casp7* был выше, чем в группе К+ (0,35), что может указывать на более активное вовлечение каспазозависимого звена клеточного ответа на повреждение в условиях применения исследуемых соединений. Полученные данные свидетельствуют о том, что на 28-е сутки подострого воздействия акриламида в почечной ткани формируется выраженный молекулярный ответ, затрагивающий гены, связанные с регуляцией клеточной гибели, ответом на повреждение ДНК и антиоксидантной защитой. Применение комплексов МГ-1, МГ-2 и МГ-10 сопровождалось существенной модификацией экспрессии *Casp7*, *Ripk1*, *Chek1* и *Hmox1*, тогда как наиболее последовательное усиление экспрессии генов, связанных с детоксикационно-цитопротекторным ответом, в частности *Gstp1*, прослеживалось в группе МГ-10.

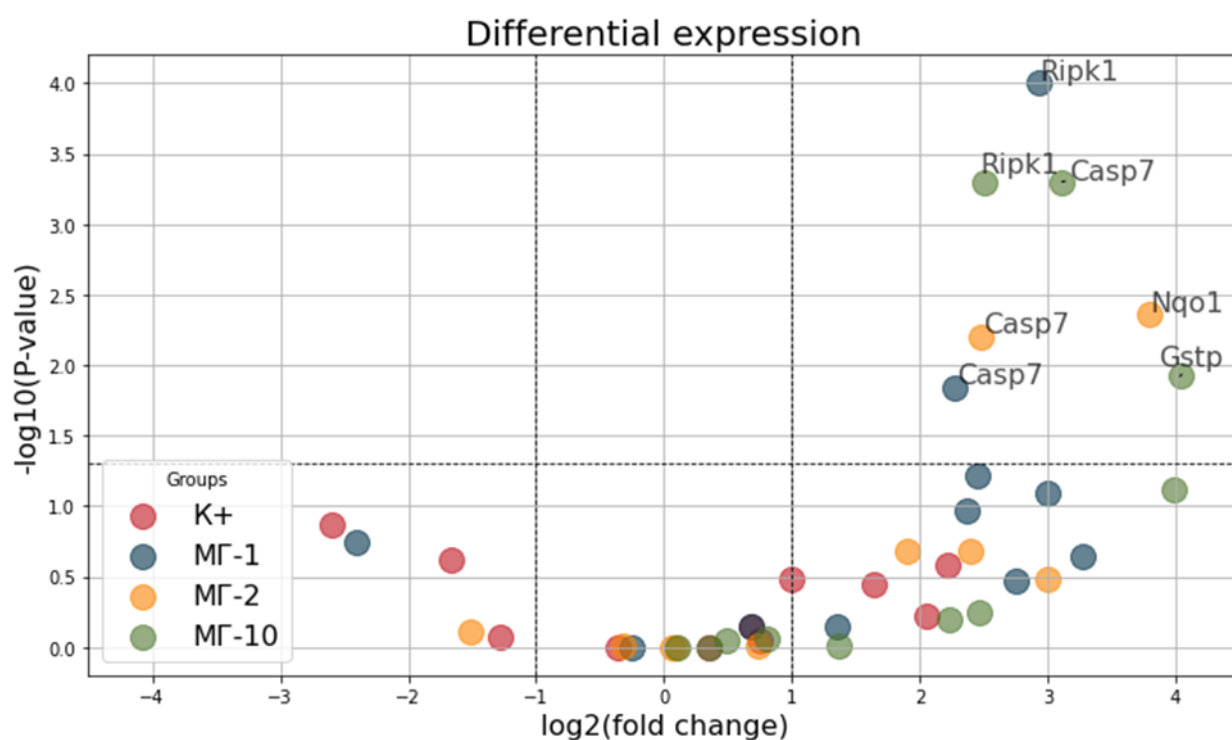


Рисунок 4.2.8 – Профиль экспрессии ключевых генов в почках крыс в условиях подострого токсического воздействия акриламида и фармакологической коррекции

Детальная полуколичественная оценка выявленных нарушений, представлена в Таблицах 4.2.2 (печень) и 4.2.3 (почки).

Таблица 4.2.2 – Полуколичественная характеристика и морфологические изменения печени у крыс через 28 суток воздействия акриламида и корректирующих препаратов

Срок	Отрицательный контроль	Положительный контроль (акриламид)	МГ-1 + акриламид	МГ-2 + акриламид	МГ-10 + акриламид
Нарушения гемодинамики (полнокровие, эритростаз)*	+	++	+	+	+
Воспалительная клеточная инфильтрация	–	+	–	–	–
Дистрофия и некроз гепатоцитов	–	–	–	–	–
28 суток печень	Без существенных изменений; переменное кровенаполнение, умеренное утолщение интерстиция, единичная мелковакуолярная дистрофия.	Архитектоника долек сохранена. Умеренное расширение и кровенаполнение синусоидов, очаговый эритростаз, единичные клеточные инфильтраты. Некроз не выявлен.	Архитектоника печени сохранена. Гепатоциты морфологически сохранены, центральные вены слабо кровенаполнены, синусоиды не расширены, воспаление отсутствует.	Строение долек сохранено. Гепатоциты без дистрофии, синусоиды не расширены, признаков эритростаза и воспаления не отмечено.	Печень структурно сохранена. Гепатоциты без дегенерации, сосудистые изменения минимальны, портальные тракты и желчные протоки без патологии.

* Используемая шкала, «–» – признак отсутствует (соответствует физиологической норме), «+» – слабо выраженные / единичные или очаговые (в т.ч. адаптивные) изменения, «++» – умеренно выраженные изменения, «+++» – сильно выраженные / тяжелые деструктивные поражения.

Таблица 4.2.3 – Полуколичественная характеристика и морфологические изменения почек у крыс через 28 суток воздействия акриламида и корректирующих препаратов

Срок	Отрицательный контроль	Положительный контроль (акриламид)	МГ-1 + акриламид	МГ-2 + акриламид	МГ-10 + акриламид
Микроциркуляторные нарушения*	–	–	+++	+++	+++
Сосудистые изменения	–	–	+++	+++	++
Интерстициальный отек	–	–	++	+++	++
Поражение клубочков	–	–	++	++	++
Канальцевая дистрофия	+	+	+++	+++	+++
Некробиоз и некроз канальцев	–	–	++	++	++
28 суток почки	Без существенных изменений; переменное кровенаполнение, умеренное утолщение интерстиция, единичная вакуольная дистрофия.	Слабое кровенаполнение, мелкокапельная вакуолизация, сдувание эпителия, единичный детрит; без отека и некроза.	Резкие сосудисто-канальцевые изменения: полнокровие, стазы, тромбозы, васкулит, отек; склероз, гиалиноз, некроз сосудов; клубочковая атрофия; тяжелая дистрофия, некробиоз, цилиндры, десквамация.	Аналогичные выраженные сосудисто-канальцевые изменения: полнокровие, стазы, тромбозы, васкулит, отек; склероз, гиалиноз; выраженная дистрофия, некробиоз, цилиндры, десквамация.	Умеренные сосудисто-канальцевые изменения: полнокровие, стазы, местами тромбозы, васкулит, отек; склероз, гиалиноз; дистрофия, некробиоз, цилиндры, десквамация, единичный пигмент.

* Используемая шкала, «–» – признак отсутствует (соответствует физиологической норме), «+» – слабо выраженные / единичные или очаговые (в т.ч. адаптивные) изменения, «++» – умеренно выраженные изменения, «+++» – сильно выраженные / тяжелые деструктивные поражения.

Морфологическая картина печени в интактной группе (К-) оставалась стабильной на протяжении всего этапа эксперимента при сроках наблюдения 28, 45 и 90 суток и соответствовала физиологической норме. Во все сроки сохранялись дольковая организация паренхимы, балочно-радиальное строение печеночной ткани, типичная структура гепатоцитов и портальных трактов. Признаков дистрофических, воспалительных, некротических, геморрагических и пролиферативных изменений не выявлено.

Морфологическая картина почек в интактной группе (К-) также оставалась стабильной на протяжении всего этапа эксперимента при сроках наблюдения 28, 45 и 90 суток и соответствовала физиологической норме. Во все сроки сохранялись нормальная архитектоника коркового и мозгового вещества, сосудистого русла, клубочкового аппарата и канальцевой системы. Признаков интерстициального отека, воспалительной инфильтрации, нефросклероза, некронефроза, канальцевой атрофии и иных значимых патологических изменений не установлено.

При 28-дневном введении акриламида в печени сохранялась общая архитектоника печеночных долек, однако в группе К⁺ отмечались очаговые патологические изменения микроциркуляторного русла в виде вариабельного кровенаполнения центральных вен, расширения и кровенаполнения синусоидов, а также эритростаза. В отдельных участках выявлялись клеточные инфильтраты преимущественно в перивенулярной и интермедиарной зонах (Рисунок 4.2.9). Некротические изменения, кровоизлияния и грубые нарушения архитектоники не обнаружены.

В почках при 28-дневном воздействии акриламида в группе К⁺ выраженных морфологических нарушений не выявлено (Рисунок 4.2.10). Изменения носили минимальный характер и ограничивались единичными слущенными эпителиоцитами и детритом в просветах отдельных канальцев. Признаков отека интерстиция, воспаления, тромбоза, некроза, нефросклероза и выраженной канальцевой дистрофии не отмечено.

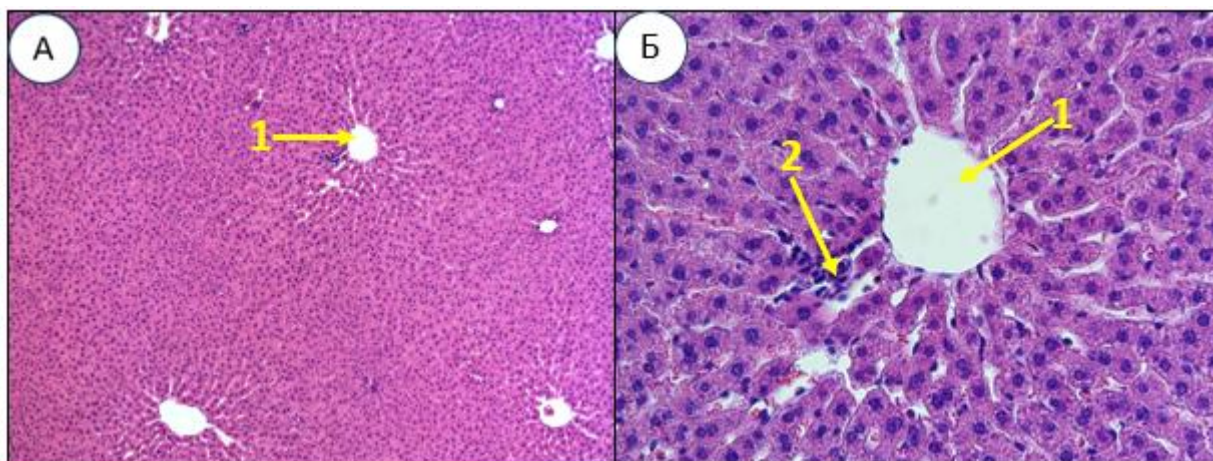


Рисунок 4.2.9 – Паренхима печени крыс через 1 месяц введения акриламида. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – клеточный инфильтрат

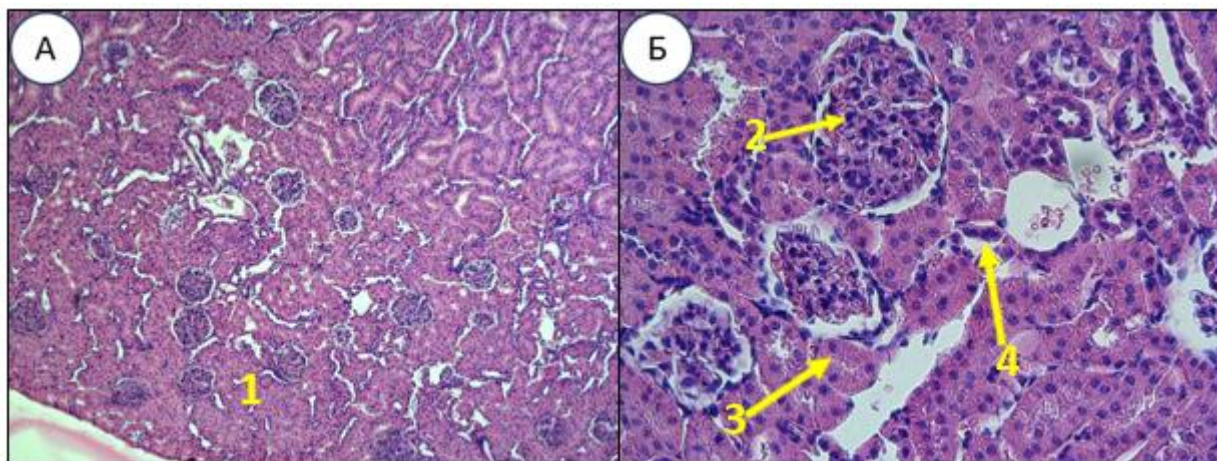


Рисунок 4.2.10 – Почки крыс через 1 месяц введения акриламида. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

Применение корректирующих комплексов (МГ-1, МГ-2, МГ-10) сопровождалось уменьшением выраженности токсически индуцированных изменений печени и лучшей сохранностью тканевой архитектоники. Во всех группах коррекции отсутствовали воспалительные инфильтраты, кровоизлияния, некрозы и выраженные нарушения микроциркуляции. Центральные вены были преимущественно слабо кровенаполнены, синусоиды не расширены, признаки эритростаза не выявлялись (Рисунок 4.2.11, Рисунок 4.2.13, Рисунок 4.2.15). Морфологическая картина печени в группах МГ-1, МГ-2 и МГ-10 была сходной. Убедительных различий в выраженности

гистопротекторного эффекта между препаратами по данному органу не установлено.

На фоне коррекции в почечной ткани, напротив, регистрировался комплекс сосудистых, клубочковых и канальцевых повреждений различной выраженности. Для всех трех препаратов были характерны очаговое венозно-капиллярное полнокровие, эритростаз, плазмостаз, пристеночное стояние лейкоцитов, внутрисосудистый лейкоцитоз, местами тромбозы, а также утолщение стенок артерий и артериол вследствие склероза, гиалиноза и плазматического пропитывания. В отдельных препаратах описаны очаги некротического поражения сосудистой стенки и продуктивного васкулита (Рисунок 4.2.12, Рисунок 4.2.14, Рисунок 4.2.16).

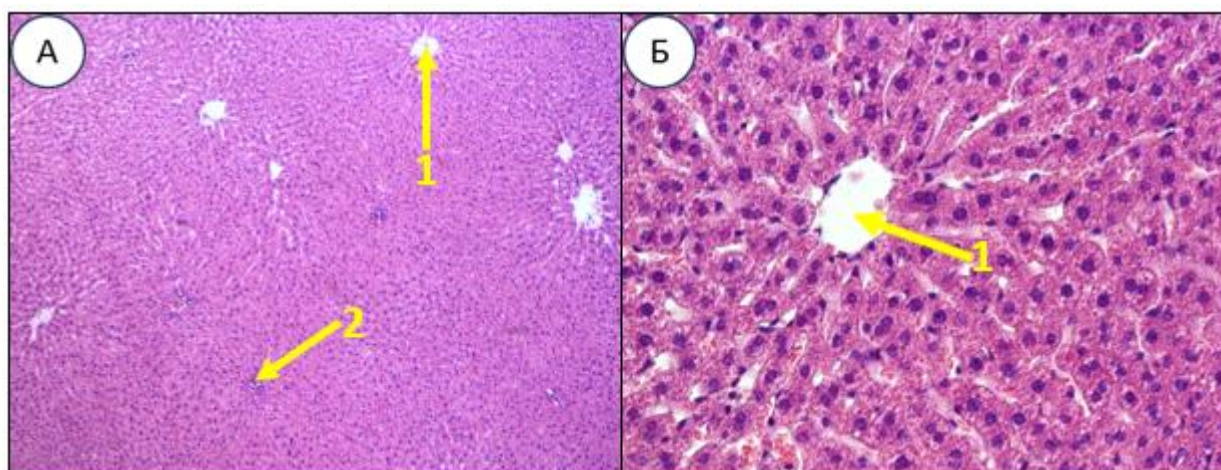


Рисунок 4.2.11. Паренхима печени крыс через 1 месяц введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-1. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – триада (междольковая артерия, междольковый (желчный) проточек, междольковая вена)

Интерстициальные изменения проявлялись очаговым, местами умеренным или выраженным отеком. В клубочках отмечались атрофия, склероз и гиалиноз, включая склероз капсулы Шумлянско-Боумана с накоплением бледно-розовых гомогенных масс в ее просвете. Канальцевый аппарат характеризовался дистрофическими изменениями эпителия, представленными белковой зернистой, вакуольной, гиалиново-капельной, местами гидропической и баллонной дистрофией. В отдельных участках

выявлялись некробиоз и некроз эпителиоцитов и целых канальцев. В просветах канальцев определялись белковые массы, гиалиновые цилиндры и спущенные эпителиоциты. Признаки нефрокальциноза, как правило, отсутствовали. Атрофия канальцев носила единичный характер.

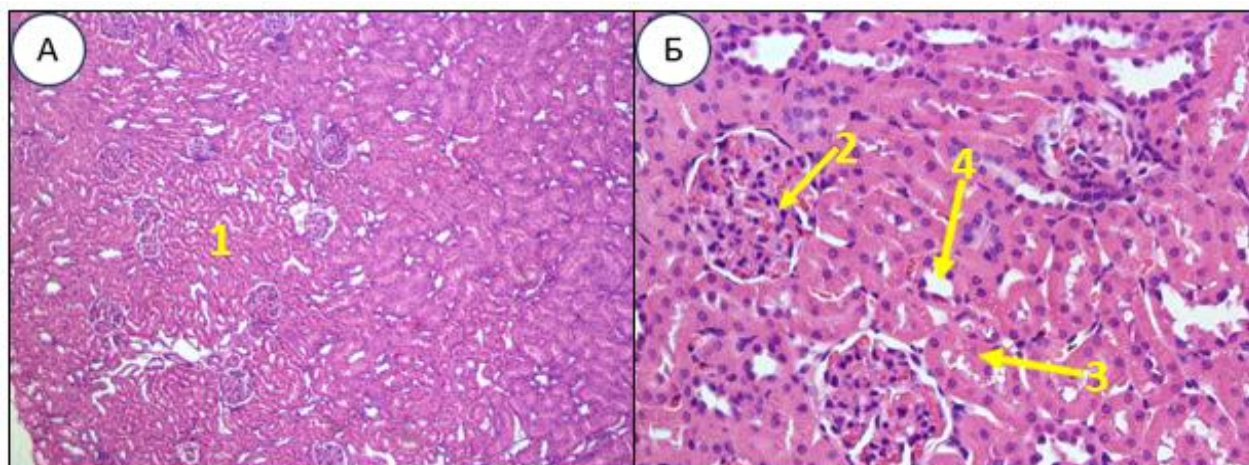


Рисунок 4.2.12 – Почки крыс через 1 месяц введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-1. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

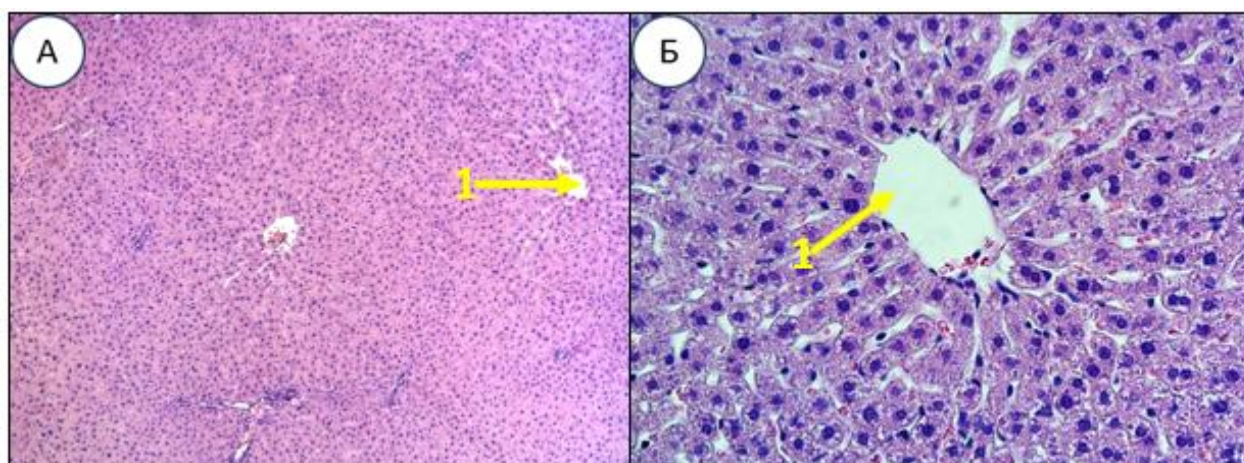


Рисунок 4.2.13 – Паренхима печени крыс через 1 месяц введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-2. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена

При сравнительной оценке выявлено, что наиболее выраженные сосудисто-паренхиматозные изменения почек сохранялись при применении МГ-1 и МГ-2 (Рисунок 4.2.12, Рисунок 4.2.14). В группе МГ-10

морфологические нарушения также присутствовали, однако их выраженность оценивалась как умеренная. Патологические изменения ограничивались менее грубым сочетанием сосудистых расстройств, интерстициального отека и канальцевой дистрофии (Рисунок 4.2.16). Тем не менее полностью исключить токсически обусловленное повреждение почечной ткани ни в одной из групп коррекции не представляется возможным.

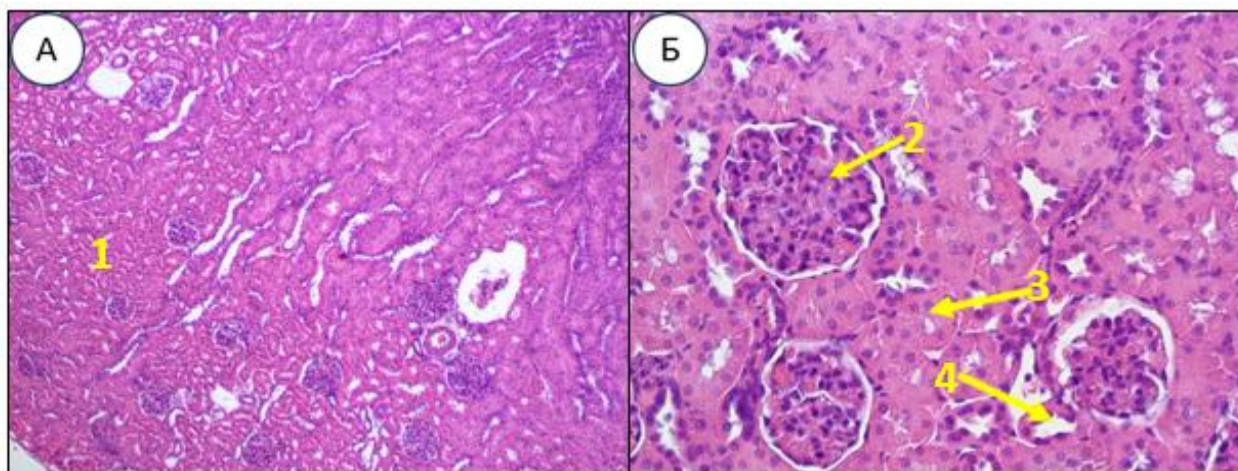


Рисунок 4.2.14 – Почки крыс через 1 месяц введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-2. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

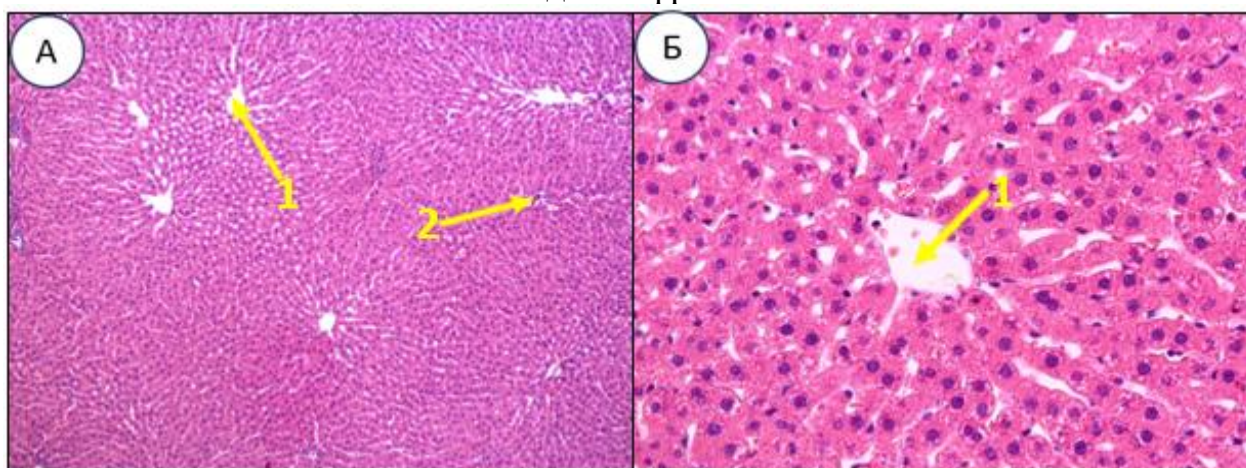


Рисунок 4.2.15 – Паренхима печени крыс через 1 месяц введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-10. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – триада (междольковая артерия, междольковый (желчный) проточек, междольковая вена)

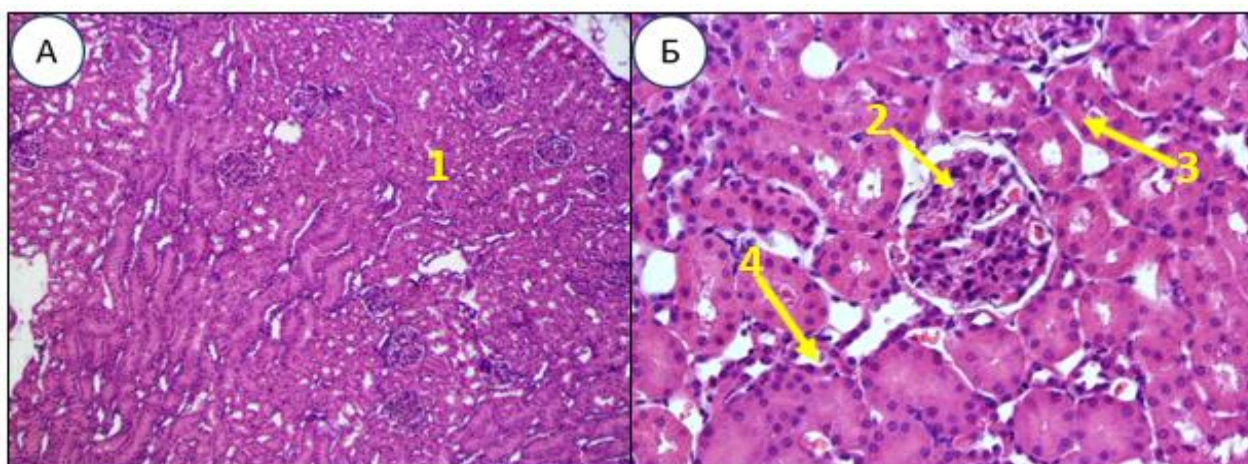


Рисунок 4.2.16 – Почки крыс через 1 месяц введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-10. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

При 28-дневном воздействии акриламида печень характеризовалась преимущественно умеренными реактивными изменениями сосудисто-воспалительного характера без выраженной деструкции паренхимы, тогда как в почках группы К⁺ грубая морфологическая патология не формировалась. Применение МГ-1, МГ-2 и МГ-10 сопровождалось сохранением структуры печени и уменьшением выраженности выявленных в ней токсически индуцированных изменений. В отношении почек убедительного нефропротекторного эффекта всех трех комплексов не установлено, поскольку в группах коррекции сохранялся комплекс сосудистых, клубочковых и канальцевых повреждений. При этом наименее выраженные изменения описаны в группе МГ-10.

По результатам исследования установлено, что при подостром 28-дневном воздействии акриламида у крыс развиваются системные токсические изменения, затрагивающие функциональное состояние центральной нервной системы, показатели периферической крови, биохимический статус и молекулярные механизмы клеточного ответа в печени и почках. Нейротоксическое действие выражалось в снижении вертикальной двигательной активности и норкового рефлекса, что отражает нарушение ориентировочно-исследовательского поведения. Со стороны

гематологических показателей наиболее отчетливые изменения касались эритроцитов и гемоглобина. Среди биохимических показателей наиболее значимые сдвиги выявлены по активности АСТ и уровню мочевины. На молекулярном уровне в печени статистически значимые изменения экспрессии установлены для генов *Chek1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstt1*, *Gstp1*, *Hmox1* и *Nqo1*, а в почках – для *Casp7*, *Ripk1*, *Chek1*, *Hmox1* и *Nqo1*, что указывает на вовлечение механизмов апоптоза, антиоксидантной защиты, детоксикации и регуляции клеточного повреждения. Применение корректирующих препаратов изменяло выраженность выявленных нарушений, однако степень их защитного действия зависела от анализируемого уровня. Наиболее благоприятный совокупный эффект отмечен для МГ-10, тогда как МГ-1 сопровождался повышением эмоциональной реактивности. Морфологически в печени на фоне коррекции сохранялась удовлетворительная архитектоника ткани, что позволяет предполагать наличие гистопротекторного эффекта. В почках, напротив, убедительного нефропротекторного действия исследуемых препаратов не установлено, поскольку в группах коррекции сохранялись сосудистые, клубочковые и канальцевые повреждения различной степени выраженности, хотя в группе МГ-10 они были менее выражены. Подострое воздействие акриламида сопровождается формированием системного токсического ответа, а фармакологическая коррекция способна лишь частично модифицировать его проявления.

4.3 Хроническое воздействие акриламида и оценка эффективности корректоров

Хроническое воздействие токсических агентов представляет собой важную модель для изучения отдаленных эффектов интоксикации, а также для оценки развивающихся во времени механизмов повреждения тканей и органов. Такое исследование наиболее полно отражает системные реакции организма на токсин, позволяя оценивать не только острую фазу отравления, но и стадию адаптации, а также отложенные последствия, которые могут

проявляться в виде хронических патологических процессов. Длительный характер эксперимента позволяет судить не только о кумулятивных эффектах акриламида, но и о результативности профилактической коррекции при продолжительном воздействии токсиканта.

Для более детального анализа промежуточные результаты были собраны на 45-е сутки, что позволило отследить динамику ключевых показателей и оценить промежуточную эффективность применяемых корректоров (МГ-1, МГ-2, МГ-10). Такой дизайн исследования позволяет комплексно оценить влияние токсиканта на различные органы и системы, а также проследить формирование компенсаторно-адаптационных реакций, развивающихся в организме при воздействии акриламида. Использование нескольких препаративных комплексов создает возможность для сопоставления их протекторных свойств и сравнительной оценки эффективности различных сочетаний активных компонентов.

В Таблице 4.3.1 представлены результаты комплексного анализа, включающего изменение веса тела, поведенческие, биохимические, гематологические, иммунологические и молекулярные показатели.

Таблица 4.3.1 – Сводная таблица результатов эксперимента с данными статистического анализа

Показатель	К-	К+	МГ-1	МГ-2	МГ-10	F	p
1	2	3	4	5	6	7	8
ВДА, усл. ед.	2,17 ±0,48	2,67 ±0,49	1,33 ±0,56	2,50 ±0,34	0,67 ±0,49 [#]	1,56	0,229
ГДА, усл. ед.	16,83 ±3,58	15,17 ±2,12	7,33 ±1,23	13,00 ±3,45	8,33 ±1,45	2,23	0,116
Норковый рефлекс, усл. ед.	2,83 ±0,54	3,83 ±0,48	4,83 ±0,75	3,67 ±0,56	2,00 ±0,52	1,93	0,157
Эмоциональная реактивность, болюсы	1,83 ±0,87	2,50 ±0,56	1,50 ±0,96	2,17 ±1,05	1,67 ±0,61	0,24	0,868
Масса тела в начале, г	199,29 ±0,92	200,00 ±3,18	200,79 ±2,05	187,00 ±1,56	202,19 ±5,02	0,08	0,971
Масса тела на 7-е сутки, г	230,83 ±5,23	230,83 ±6,03	243,50 ±5,21	237,00 ±6,22	240,83 ±6,09	1,13	0,361
Масса тела на 13-е сутки, г	258,83 ±5,16	251,50 ±6,27	261,50 ±5,48	255,67 ±7,43	260,67 ±7,38	0,49	0,693
Масса тела на 21-е сутки, г	264,33 ±5,89	258,33 ±7,19	260,17 ±5,61	263,00 ±7,81	268,00 ±8,30	0,16	0,919

Продолжение таблицы 4.3.1

1	2	3	4	5	6	7	8
Масса тела на 28-е сутки, г	278,67 ±6,02	272,33 ±7,93	277,67 ±7,42	280,83 ±9,56	287,00 ±8,99	0,21	0,887
Масса тела на 35-е сутки, г	282,83 ±5,90	281,67 ±8,51	286,17 ±7,91	295,17 ±10,29	296,17 ±9,74	0,54	0,659
Масса тела на 42-е сутки, г	294,67 ±6,51	288,50 ±8,83	296,33 ±8,04	302,83 ±10,27	307,33 ±10,53	0,48	0,701
Масса тела на 45-е сутки, г	291,67 ±6,12	283,50 ±8,76	289,50 ±8,14	292,33 ±9,91	297,67 ±10,25	0,23	0,873
Изменение массы тела, г	60,83 ±3,58	52,67 ±3,85	46,00 ±5,53	55,33 ±3,89	56,83 ±5,62	2,07	0,137
Коэффициент печени, %	30,63 ±0,77	29,01 ±0,65	27,13 ±0,30*	27,45 ±0,37*	27,39 ±0,51*	8,26	0,001
Коэффициент почек, %	7,01 ±0,17	6,89 ±0,06	6,47 ±0,25	6,64 ±0,12	7,03 ±0,13	2,19	0,121
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	7,22 ±0,99	6,46 ±0,70	7,17 ±0,76	6,42 ±1,23	5,97 ±0,90	0,21	0,885
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	8,32 ±0,13	7,87 ±0,12	7,79 ±0,14	7,54 ±0,14*	7,53 ±0,18*	5,92	0,005
Гемоглобин, г/л	157,17 ±2,95	152,60 ±1,72	150,67 ±2,74	150,33 ±2,44	151,17 ±2,56	1,57	0,227
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	330,17 ±27,26	371,60 ±31,26	260,67 ±10,46[#]	280,17 ±17,11	324,00 ±32,67	4,73	0,012
Гематокрит, %	48,80 ±1,48	45,28 ±0,85	45,27 ±0,86	43,90 ±1,15*	43,63 ±1,23*	3,53	0,034
Лимфоциты, %	88,00 ±1,53	88,64 ±0,98	83,90 ±4,56	83,63 ±3,13	83,58 ±5,56	0,82	0,496
Моноциты, %	9,58 ±1,14	8,64 ±0,51	9,17 ±1,74	11,57 ±1,50	9,70 ±1,32	0,96	0,432
Гранулоциты, %	2,28 ±0,50	2,62 ±0,71	6,78 ±2,88	4,63 ±2,00	6,58 ±5,21	1,32	0,295
Содержание гранулоцитов в лейкоцитах, %	2,28 ±0,50	2,62 ±0,71	6,78 ±2,88	4,63 ±2,00	6,58 ±5,21	1,32	0,295
АСТ, Ед/л	182,40 ±6,70	178,08 ±5,94	182,02 ±5,12	177,14 ±16,08	193,71 ±9,18	0,08	0,971
АЛТ, Ед/л	53,70 ±2,17	54,06 ±3,11	44,78 ±3,63	47,37 ±3,58	40,94 ±2,09*[#]	2,13	0,129
ЩФ, Ед/л	165,31 ±15,34	165,22 ±19,01	126,22 ±12,53	143,08 ±18,60	109,69 ±5,83	1,31	0,299
ОБ, г/л	59,00 ±2,13	56,92 ±1,86	59,69 ±2,96	59,74 ±2,46	62,89 ±2,57	0,31	0,820
САТ, мкмоль/л	468,15 ±49,72	422,06 ±24,83	227,85 ±47,79	388,32 ±108,00	277,10 ±39,20	2,56	0,084
GSH, мкмоль/л	2,15 ±0,38	1,97 ±0,27	2,35 ±0,52	1,76 ±0,34	2,21 ±0,31	0,43	0,736
ROOH, мкмоль/л	20,42 ±7,36	7,30 ±1,10	5,22 ±0,76	4,39 ±0,87	10,01 ±5,80	3,96	0,023
SOD, нг/мл	6,10 ±0,60	6,82 ±0,97	4,82 ±0,70	4,94 ±0,37	4,37 ±0,39	1,9	0,162

Продолжение таблицы 4.3.1

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Casp7</i> в печени	-0,03 ±0,27	0,45 ±0,18	0,11 ±0,37	0,41 ±0,41	0,15 ±0,27	0,54	0,662
<i>Ripk1</i> в печени	-0,02 ±0,23	0,44 ±0,13	0,46 ±0,20	0,48 ±0,34	0,59 ±0,17	1,02	0,407
<i>Chek1</i> в печени	0,04 ±0,26	-0,23 ±0,30	-0,04 ±0,18	-0,20 ±0,13	-0,16 ±0,11	0,33	0,806
<i>Sod1</i> в печени	-0,05 ±0,30	-0,29 ±0,27	0,21 ±0,11	-0,02 ±0,20	-0,11 ±0,27	0,79	0,512
<i>Gstm1</i> в печени	0,14 ±0,25	-0,04 ±0,20	0,68 ±0,27	0,78 ±0,20	0,28 ±0,12	2,95	0,058
<i>Gstt1</i> в печени	0,14 ±0,30	-0,05 ±0,22	0,55 ±0,31	0,79 ±0,20	0,33 ±0,10	2,14	0,127
<i>Gstp1</i> в печени	-0,01 ±0,12	0,13 ±0,36	0,68 ±0,12	1,01 ±0,29	0,73 ±0,37	3,79	0,027
<i>Gclc</i> в печени	0,06 ±0,15	-0,21 ±0,23	-0,16 ±0,20	0,20 ±0,12	0,25 ±0,24	1,09	0,374
<i>Hmox1</i> в печени	0,14 ±0,32	-0,19 ±0,15	0,34 ±0,16	0,74 ±0,23	0,60 ±0,24	2,98	0,056
<i>Nqo1</i> в печени	0,08 ±0,45	-0,70 ±0,34	0,64 ±0,58	0,34 ±0,37	0,53 ±0,56	1,66	0,207
<i>Nfe2l2</i> в печени	0,19 ±0,13	2,29 ±2,20	0,34 ±0,23	0,44 ±0,22	0,29 ±0,25	0,79	0,511

Примечание: Значения представлены в формате «среднее ± стандартное отклонение». Строки, выделенные жирным шрифтом, указывают на наличие статистически значимых различий между группами на основе результатов дисперсионного анализа (ANOVA). Для парных сравнений с использованием поправки Тьюки применяются следующие обозначения: звездочкой (*) отмечены статистически значимые различия групп МГ-1, МГ-2, МГ-10 по сравнению с контрольной группой К-; решеткой (#) отмечены статистически значимые различия групп МГ-1, МГ-2, МГ-10 по сравнению с контрольной группой К+.

Рисунки ниже отражают характерные изменения ВДА (Рисунок 4.3.1) и норкового рефлекса (Рисунок 4.3.2) в соответствующих группах.

По показателям двигательной активности статистически значимых межгрупповых различий не выявлено. Для вертикальной двигательной активности общий эффект группы не достигал значимости ($F=1,56$; $p=0,229$), однако в группе МГ-10 показатель составил 0,67 ед. и был ниже, чем в группе К+ ($p=0,048$), тогда как в группе МГ-2 он достигал 2,5 ед. и превышал значение МГ-10 ($p=0,081$). Максимальный уровень вертикальной активности отмечался в группе К+ (2,67 ед.), что при отсутствии общей статистической значимости может рассматриваться лишь как тенденция.

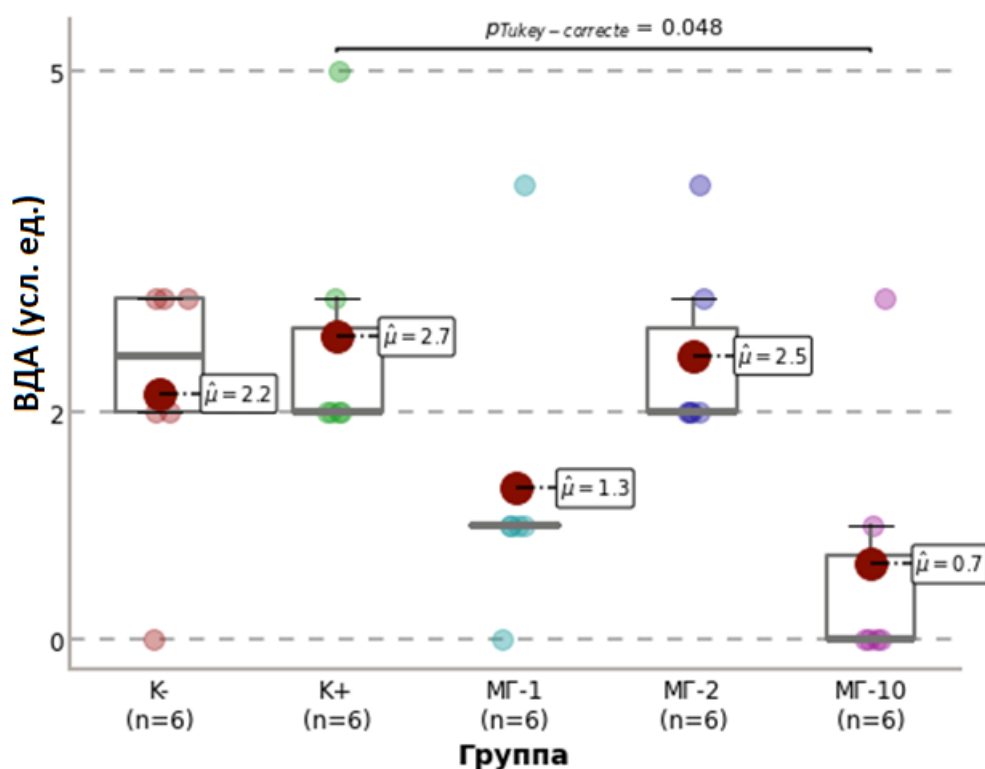


Рисунок 4.3.1 – Среднее значение ВДА в исследуемых группах

Для горизонтальной двигательной активности также не установлено статистически значимых различий между группами ($F=2,23$; $p=0,116$). Минимальное значение зарегистрировано в группе МГ-1 (7,33 ед.), максимальное – в группе К- (16,83 ед.); множественные сравнения также не выявили статистически значимых различий. В условиях 45-дневного эксперимента изменения вертикальной и горизонтальной двигательной активности носили характер тенденций и не сопровождалось статистически подтвержденным межгрупповым эффектом.

По показателю норкового рефлекса статистически значимых межгрупповых различий не выявлено ($F=1,93$; $p=0,157$). Вместе с тем при попарном сравнении установлено, что в группе МГ-10 уровень норкового рефлекса был ниже, чем в группе МГ-1 (2,0 против 4,83 ед.; $p=0,015$). В группах МГ-1 и МГ-2 отмечалась тенденция к повышению данного показателя по сравнению с контрольными группами, тогда как в группе МГ-10 наблюдалось его снижение. Изменения норкового рефлекса в условиях 45-дневного эксперимента не достигали статистически значимого межгруппового

эффекта, однако группа МГ-10 отличалась более низким значением показателя по сравнению с МГ-1.

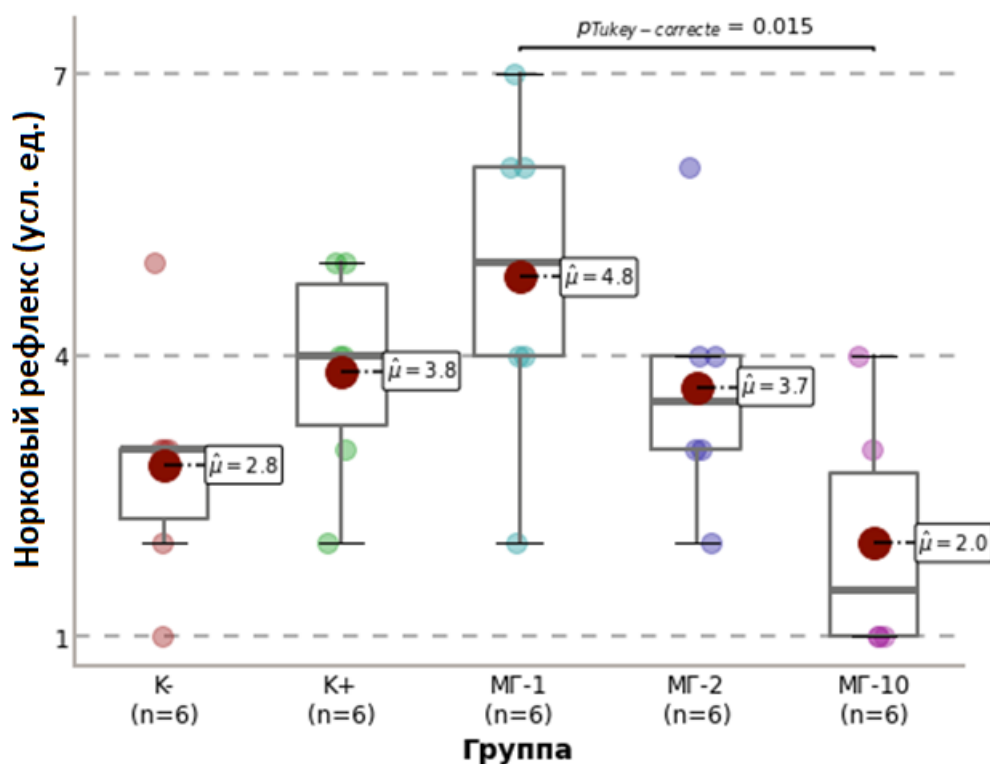


Рисунок 4.3.2 – Среднее значение норкового рефлекс в исследуемых группах

Статистический анализ не выявил межгрупповых различий по массе тела крыс ни на исходном этапе, ни в процессе эксперимента. Начальная масса тела была сопоставимой во всех группах ($F=0,08$; $p=0,971$). В дальнейшем статистически значимых различий также не отмечалось на 7-е ($F=1,13$; $p=0,361$), 13-е ($F=0,49$; $p=0,693$), 21-е ($F=0,16$; $p=0,919$), 28-е ($F=0,21$; $p=0,887$), 35-е ($F=0,54$; $p=0,659$), 42-е ($F=0,48$; $p=0,701$) и 45-е сутки эксперимента ($F=0,23$; $p=0,873$). Показатель прироста массы тела также не различался между группами ($F=2,07$; $p=0,137$): минимальное значение зарегистрировано в группе МГ-1 (46,0 г), максимальное – в группе К- (60,83 г). В условиях 45-дневного эксперимента введение акриламида и применение корректирующих препаратов не сопровождалось статистически значимыми изменениями массы тела животных.

На Рисунке 4.3.3 представлено влияние корректирующих препаратов на коэффициент печени при 45-дневной хронической интоксикации акриламидом.

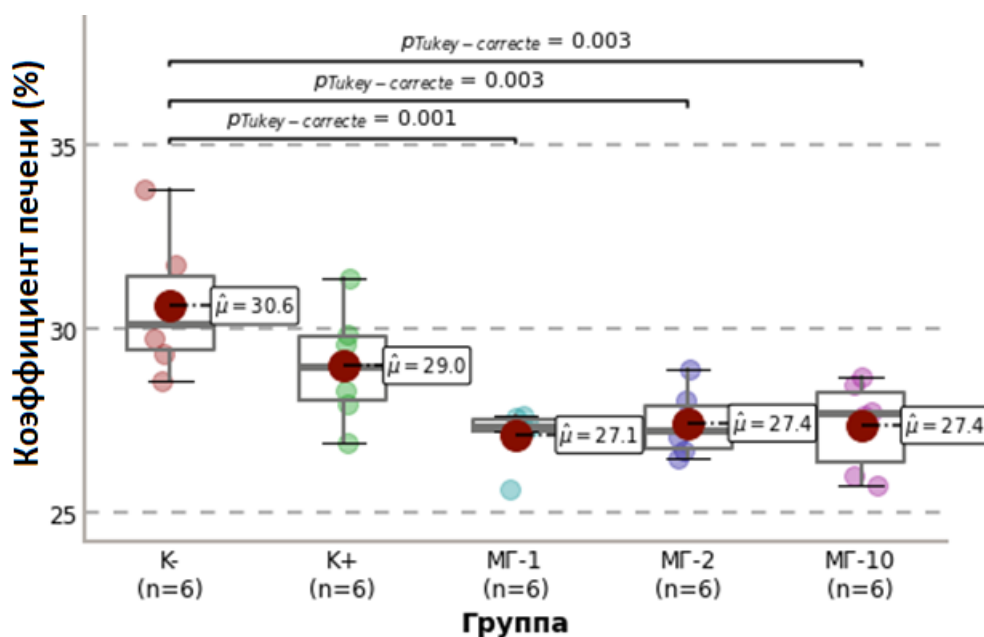


Рисунок 4.3.3 – Коэффициент печени в различных экспериментальных группах при 45-дневной интоксикации

Статистический анализ выявил значимые межгрупповые различия по коэффициенту печени ($F=8,26$; $p=0,001$). Во всех группах коррекции данный показатель был ниже по сравнению с K-: в МГ-1 – 27,13 против 30,63 ($p=0,001$), в МГ-2 – 27,45 ($p=0,003$), в МГ-10 – 27,39 ($p=0,003$). Полученные данные указывают на однонаправленное снижение коэффициента печени на фоне применения препаратов МГ-1, МГ-2 и МГ-10. В то же время статистически значимых различий по коэффициенту почек между группами не выявлено ($F=2,19$; $p=0,121$), что свидетельствует об отсутствии выраженных изменений данного показателя в исследуемых условиях.

Нарушения кроветворения при воздействии акриламида: влияние корректоров.

В результате проведенного статистического анализа установлено, что различия в среднем уровне лейкоцитов между экспериментальными группами не достигли статистически значимого уровня ($F=0,21$; $p=0,885$).

Лейкоциты играют важную роль в иммунной системе и являются индикаторами воспалительных процессов, возникающих в организме. Повышение уровня лейкоцитов обычно наблюдается при активации иммунного ответа в ответ на стрессовые или токсические воздействия, такие как акриламид. В контексте данного эксперимента уровень лейкоцитов можно рассматривать как маркер воспалительного стресса, вызванного нейротоксичностью акриламида, что может включать как локальные воспалительные реакции в нервной ткани, так и системный воспалительный ответ.

В ходе проведенного статистического анализа было установлено, что различия в среднем уровне эритроцитов между экспериментальными группами оказались статистически значимыми ($F=5,92$; $p=0,005$) (Рисунок 4.3.4).

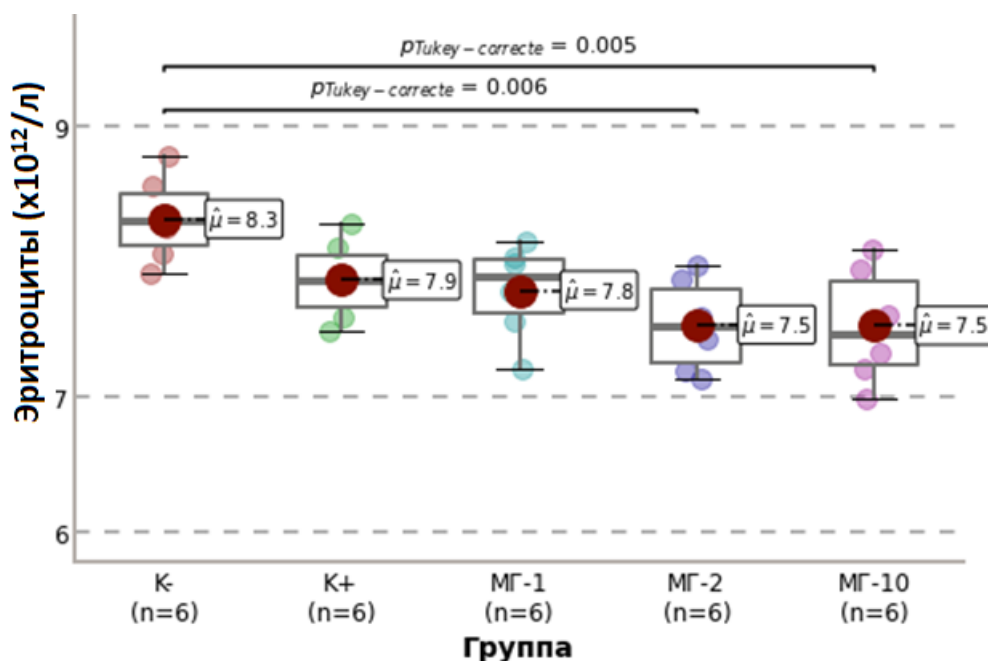


Рисунок 4.3.4 – Среднее значение эритроцитов в исследуемых группах

Изменения эритроцитарного звена крови также носили неблагоприятный характер. В группах МГ-2 и МГ-10 средняя концентрация эритроцитов составила $7,54 \times 10^{12}/л$ и $7,53 \times 10^{12}/л$ соответственно, что было ниже по сравнению с группой K- ($p=0,006$ и $p=0,005$). В группе K+ также отмечалось снижение уровня эритроцитов относительно отрицательного контроля, однако статистической значимости данное различие не достигало.

Наиболее выраженные изменения эритроцитарного показателя наблюдались в группах МГ-2 и МГ-10.

Проведенный статистический анализ продемонстрировал, что различия в среднем уровне гемоглобина между исследуемыми группами не достигли статистически значимого уровня ($F=1,57$; $p=0,227$). Множественные сравнения также не показали статистической значимости между исследуемыми группами.

В группе К⁺ отмечалась тенденция к снижению уровня гемоглобина по сравнению с группой К⁻. Полученные данные указывают на возможное неблагоприятное влияние акриламида на показатели кислородтранспортной функции крови, однако выраженность этих изменений была умеренной.

В результате проведенного статистического анализа было выявлено, что различия в среднем уровне тромбоцитов между исследуемыми группами достигли статистически значимого уровня ($F=4,73$; $p=0,012$) (Рисунок 4.3.5).

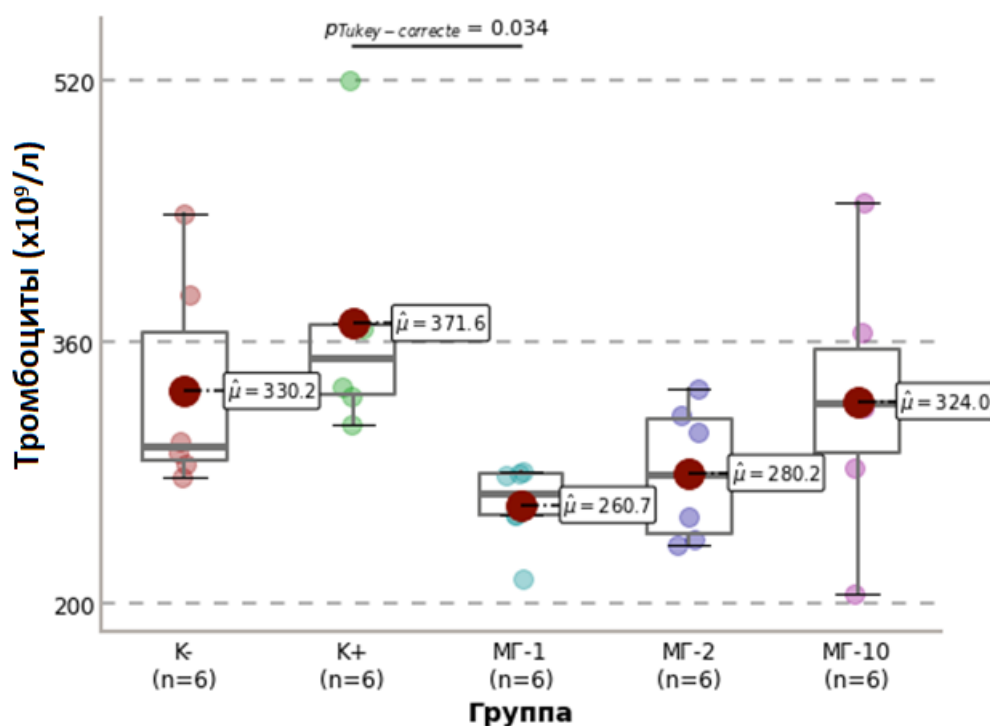


Рисунок 4.3.5 – Среднее значение тромбоцитов в исследуемых группах

Изменения тромбоцитарного звена также различались между группами. Минимальный уровень тромбоцитов зарегистрирован в группе МГ-1 и составил $260,67 \times 10^9/\text{л}$, тогда как максимальное значение отмечалось в группе К⁺ – $371,6 \times 10^9/\text{л}$. При этом уровень тромбоцитов в группе К⁺ был выше по

сравнению с МГ-1 ($p=0,034$). Наиболее выраженное повышение данного показателя наблюдалось в группе положительного контроля, тогда как на фоне применения МГ-1 его значения были ниже.

Статистический анализ данных продемонстрировал, что различия в среднем уровне гематокрита среди исследуемых групп были статистически значимыми ($F=3,53$; $p=0,034$) (Рисунок 4.3.6).

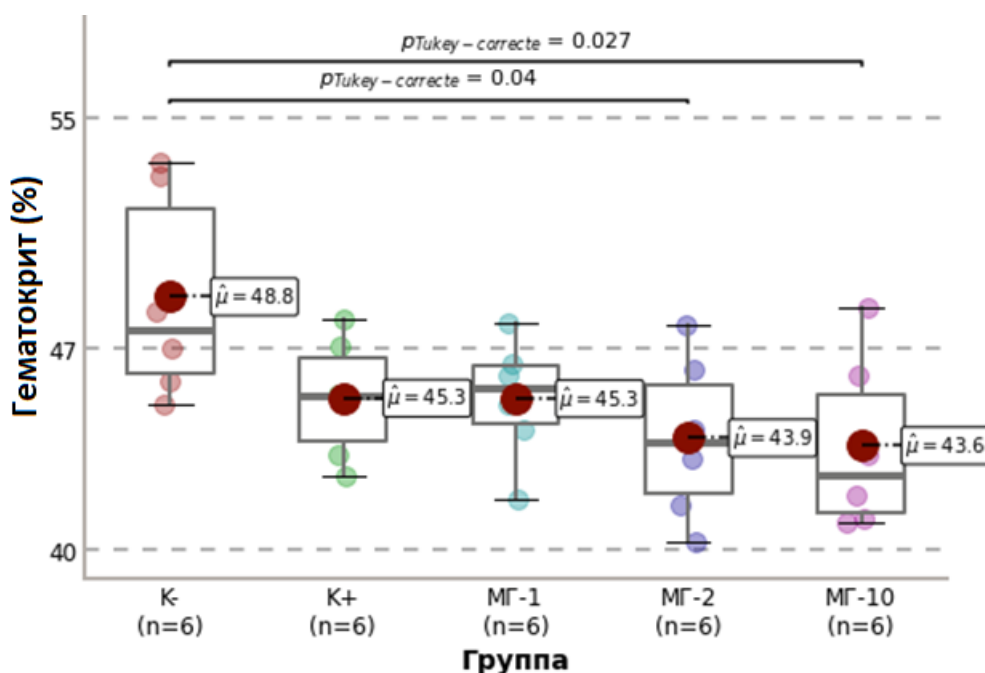


Рисунок 4.3.6 – Среднее значение гематокрита в исследуемых группах

Изменения гематологических показателей носили избирательный характер. Так, уровень гематокрита в группах МГ-2 и МГ-10 составил 43,9% и 43,63% соответственно, что было ниже по сравнению с группой К- ($p=0,040$ и $p=0,027$). В группе К+ также отмечалась тенденция к снижению гематокрита относительно отрицательного контроля. В то же время по показателям лейкоцитарной формулы статистически значимых межгрупповых различий не установлено: для лимфоцитов $F=0,82$ при $p=0,496$, для моноцитов $F=0,96$ при $p=0,432$, для гранулоцитов $F=1,32$ при $p=0,295$. Несмотря на отсутствие статистически значимого эффекта, наиболее высокое содержание гранулоцитов отмечалось в группе МГ-1 (6,78) по сравнению с К- (2,28) и К+ (2,62), что следует рассматривать как тенденцию. Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее выраженные изменения в данной серии

наблюдений затрагивали эритроцитарное звено крови, тогда как показатели клеточного состава лейкоцитов оставались сопоставимыми между группами.

На Рисунке 4.3.7 представлены средние значения биохимических показателей крови через 45 дней после начала эксперимента.

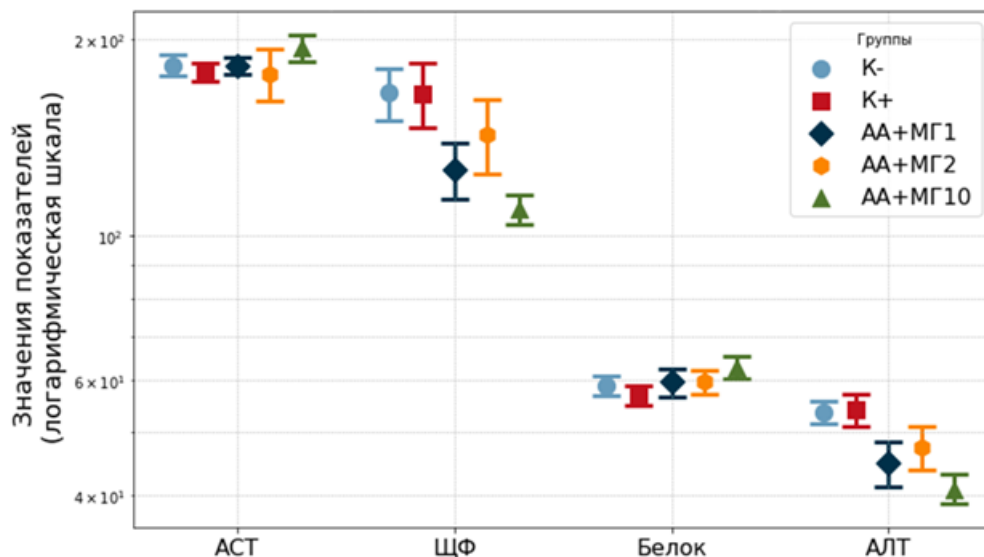


Рисунок 4.3.7 – Средние значения биохимических показателей крови (АСТ, ЩФ, белок, АЛТ) через 45 дней после начала эксперимента

По биохимическим показателям выраженных межгрупповых различий не установлено. Активность АСТ оставалась сопоставимой между группами ($F=0,08$; $p=0,971$), варьируя от 177,14 Ед/л в группе МГ-2 до 193,71 Ед/л в группе МГ-10. Аналогично, для АЛТ общий межгрупповой эффект не достигал статистической значимости ($F=2,13$; $p=0,129$), однако в группе МГ-10 показатель был минимальным и составлял 40,94 Ед/л, что было ниже по сравнению с К- ($p=0,042$) и К+ (54,06 Ед/л; $p=0,035$). По уровню ЩФ статистически значимых различий также не выявлено ($F=1,31$; $p=0,299$): минимальное значение зарегистрировано в группе МГ-10 – 109,69 Ед/л, максимальное – в группе К- 165,31 Ед/л; различия МГ-10 по сравнению с К- и К+ носили пограничный характер ($p=0,098$ и $p=0,099$). Содержание общего белка между группами существенно не различалось ($F=0,31$; $p=0,820$), при этом в группах коррекции отмечалась лишь тенденция к его повышению. В данной серии наблюдений биохимические показатели оставались

стабильными, хотя для группы МГ-10 отмечались наиболее низкие значения АЛТ и ЩФ.

На Рисунке 4.3.8 представлены изменения показателей антиоксидантной системы в различных экспериментальных группах

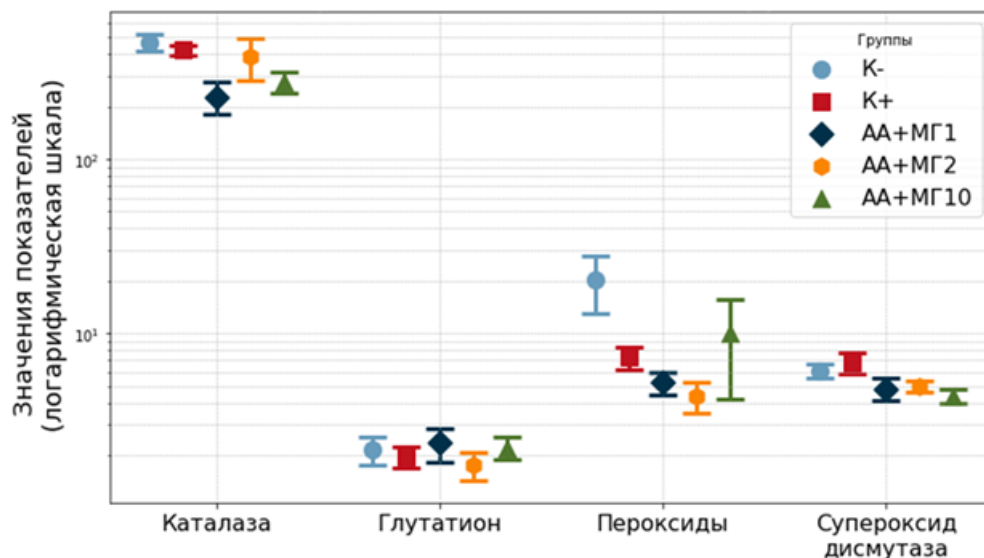


Рисунок 4.3.8 – Сравнительный анализ уровней каталазы, СОД, глутатиона и пероксидов у животных при 45-дневном воздействии акриламида и корректирующих препаратов

При оценке показателей антиоксидантной системы статистически значимые межгрупповые различия выявлены только по уровню пероксидов ($F=3,96$; $p=0,023$): минимальное значение зарегистрировано в группе МГ-2 (4,39 мкмоль/л), максимальное – в группе К- (20,42 мкмоль/л). Для активности каталазы общий межгрупповой эффект не достигал статистической значимости ($F=2,56$; $p=0,084$), при этом минимальный уровень отмечался в группе МГ-1 (227,85 Ед/мг белка), а максимальный – в группе К- (468,15 Ед/мг белка). Аналогично, различия по содержанию глутатиона не были значимыми ($F=0,43$; $p=0,736$). Для супероксиддисмутаза также не установлено статистически значимого межгруппового эффекта ($F=1,9$; $p=0,162$): минимальная активность наблюдалась в группе МГ-10 (4,37 нг/мг белка), максимальная – в группе К+ (6,82 нг/мг белка). В данной серии показателей наиболее отчетливые изменения касались снижения уровня пероксидов, тогда как активность каталазы, супероксиддисмутаза и содержание глутатиона оставались сопоставимыми между группами.

Экспрессия генов апоптоза и антиоксидантной защиты при 45-дневном токсическом воздействии акриламида.

На Рисунке 4.3.9 показана динамика экспрессии генов в печени крыс в зависимости от экспериментального воздействия токсиканта и используемой фармакологической коррекции.

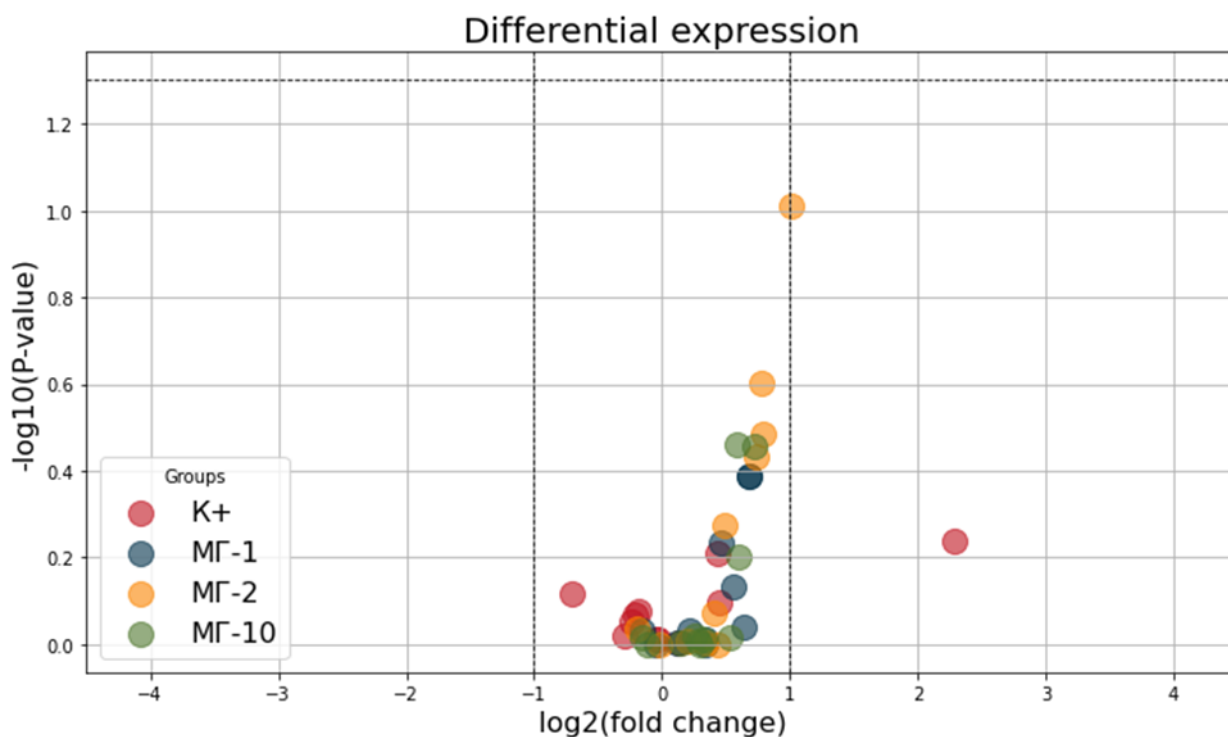


Рисунок 4.3.9 – Профиль экспрессии ключевых генов в печени крыс в условиях 45-дневного токсического воздействия акриламида и фармакологической коррекции

В печени статистически значимые межгрупповые различия выявлены только для экспрессии гена *Gstp1* ($F=3,79$; $p=0,027$): минимальный уровень зарегистрирован в группе К- ($-0,01$), максимальный – в группе МГ-2 ($1,01$). Для *Gstm1* и *Hmox1* отмечены пограничные различия ($F=2,95$; $p=0,058$ и $F=2,98$; $p=0,056$ соответственно): минимальные значения наблюдались в группе К+ ($-0,04$ и $-0,19$), тогда как максимальные – в группе МГ-2 ($0,78$ и $0,74$). По остальным генам статистически значимого межгруппового эффекта не установлено: *Casp7* ($F=0,54$; $p=0,662$), *Ripk1* ($F=1,02$; $p=0,407$), *Chek1* ($F=0,33$; $p=0,806$), *Sod1* ($F=0,79$; $p=0,512$), *Gstt1* ($F=2,14$; $p=0,127$), *Gclc* ($F=1,09$; $p=0,374$), *Nqo1* ($F=1,66$; $p=0,207$) и *Nfe2l2* ($F=0,79$; $p=0,511$).

Несмотря на отсутствие значимости для большинства показателей, в группе К+ прослеживалась направленность к повышению экспрессии *Casp7* и *Ripk1*, а также к снижению *Chek1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstp1*, *Hmox1* и *Nqo1*, что отражало сдвиги в системах клеточного стресса, антиоксидантной защиты и репарации. В группах коррекции, преимущественно МГ-1 и МГ-2, отмечалась тенденция к восстановлению экспрессии ряда генов антиоксидантной и детоксикационной защиты, включая *Sod1*, *Gstm1*, *Gstp1* и *Nqo1*, тогда как в группе МГ-10 более высокие значения наблюдались для *Gclc*. Наиболее отчетливые изменения в данной серии касались повышения *Gstp1* в группе МГ-2 и тенденции к увеличению *Gstm1* и *Hmox1* на фоне коррекции.

На Рисунке 4.3.10 представлена динамика экспрессии генов в ткани почек крыс в условиях воздействия акриламида и при применении фармакологической коррекции. Не было обнаружено статистически значимых изменений экспрессии исследуемых генов как на фоне воздействия акриламида, так и при применении препаратов коррекции.

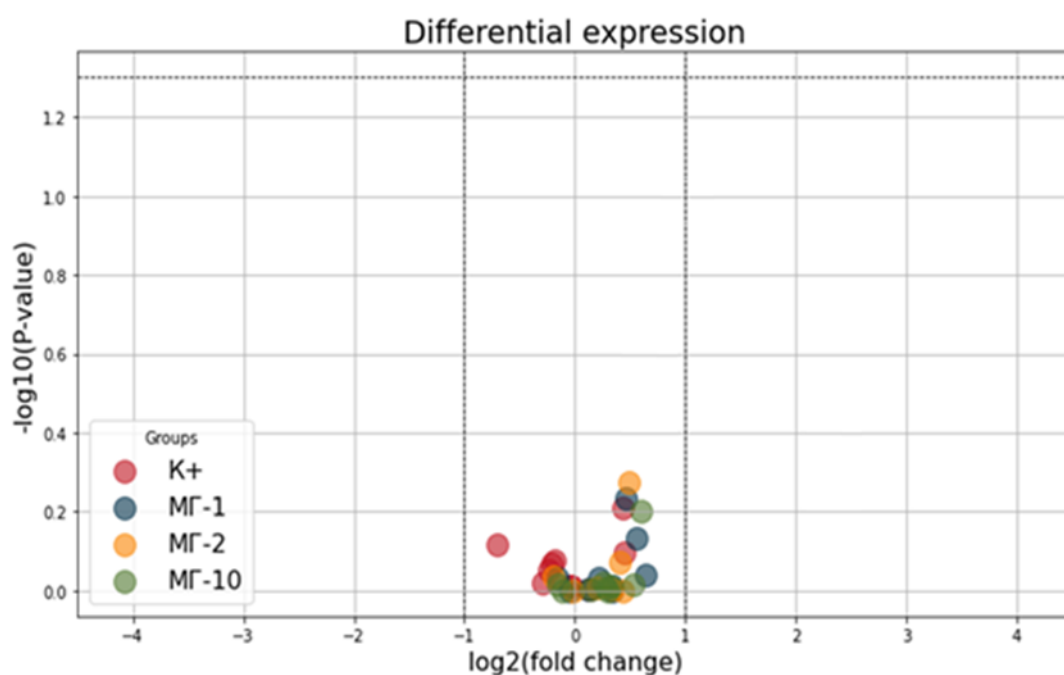


Рисунок 4.3.10 – Профиль экспрессии ключевых генов в почках крыс в условиях 45-дневного токсического воздействия акриламида и фармакологической коррекции

Полуколичественная характеристика морфологических изменений в печени и почках крыс на 45-е сутки подострого эксперимента представлена в таблицах 4.3.2 и 4.3.3 соответственно.

Таблица 4.3.2 – Полуколичественная характеристика и морфологические изменения печени у крыс через 45 суток воздействия акриламида и корректирующих препаратов

Срок	Отрицательный контроль	Положительный контроль (акриламид)	МГ-1 + акриламид	МГ-2 + акриламид	МГ-10 + акриламид
Нарушения гемодинамики (полнокровие, расширение синусоидов)*	+	++	++	++	+
Воспалительная клеточная инфильтрация	—	+	—	—	—
Дистрофия и некроз гепатоцитов	—	—	—	—	—
45 суток печень	Минимальные изменения: единичная гибель гепатоцитов, редкое апоптозное тельце, слабое расширение синусоидов; без воспаления и некроза.	Умеренное/сильное кровенаполнение центральных вен и портальных сосудов, кровенаполненные синусоиды, редкие митозы, единичные моноклеары; без некроза.	Умеренное/сильное кровенаполнение центральных вен и портальных сосудов, слабое расширение синусоидов, редкие митозы; без воспаления и деструкции.	Умеренное/сильное кровенаполнение сосудов, умеренное расширение синусоидов, редкие митозы; без воспаления, некроза и дистрофии.	Умеренное кровенаполнение, переменное кровенаполнение синусоидов, редкие митозы; без инфильтратов, дистрофии, некроза и кровоизлияний.

* Используемая шкала, «—» — признак отсутствует (соответствует физиологической норме), «+» — слабо выраженные / единичные или очаговые (в т.ч. адаптивные) изменения, «++» — умеренно выраженные изменения, «+++» — сильно выраженные / тяжелые деструктивные поражения.

Таблица 4.3.3 – Полуколичественная характеристика и морфологические изменения почек у крыс через 45 суток воздействия акриламида и корректирующих препаратов

Срок	Отрицательный контроль	Положительный контроль (акриламид)	МГ-1 + акриламид	МГ-2 + акриламид	МГ-10 + акриламид
Нарушения микроциркуляции*	–	–	–	–	–
Сосудистые изменения	–	–	–	–	–
Интерстициальный отек	–	–	–	–	–
Поражение клубочков	–	+	–	–	–
Дистрофия и некроз канальцев	–	–	–	–	–
45 суток почки	Близко к норме; умеренное кровенаполнение, без патологии; единичные пикнотичные ядра – артефакт.	Почка сохранна; умеренное кровенаполнение, единичные сморщенные клубочки, редкие пикнотичные ядра, уменьшение вакуолизации; без некроза и воспаления.	Структура сохранена; умеренное кровенаполнение, без существенных изменений; отек, воспаление, некроз, атрофия не выявлены.	Структура сохранена; умеренное кровенаполнение, сосуды, клубочки и канальцы без патологии; редкие пикнотичные ядра – артефакт.	Структура сохранена; умеренное кровенаполнение, без существенных изменений; незначительное уменьшение везикул цитоплазмы эпителия.

* Используемая шкала, «–» – признак отсутствует (соответствует физиологической норме), «+» – слабо выраженные / единичные или очаговые (в т.ч. адаптивные) изменения, «++» – умеренно выраженные изменения, «+++» – сильно выраженные / тяжелые деструктивные поражения.

Морфологическая картина интактной группы оставалась стабильной на протяжении всего эксперимента и соответствовала физиологической норме.

Через 45 дней введения акриламида в печени грубых нарушений архитектоники не выявлено. В группе К⁺ изменения ограничивались сосудистыми реакциями в виде вариабельного кровенаполнения центральных вен и синусоидов, а также появлением единичных мононуклеарных клеток в просветах центральных вен, некрозы, кровоизлияния, выраженная воспалительная инфильтрация и деструктивные изменения отсутствовали (Рисунок 4.3.11). Морфологическая картина печени при данном сроке воздействия характеризовалась преимущественно умеренными реактивными гемодинамическими изменениями без нарушения общей тканевой организации.

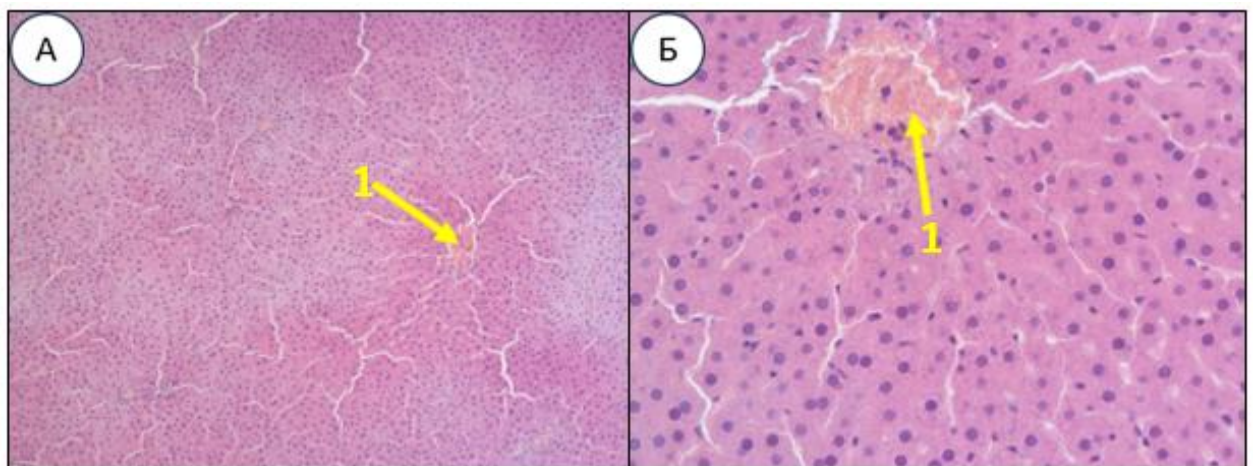


Рисунок 4.3.11 – Паренхима печени крыс через 45 дней введения акриламида. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена

В почках через 45 дней введения акриламида также не отмечено выраженной морфологической патологии. В группе К⁺ сохранялись нормальная архитектоника коркового и мозгового вещества, сосудистого русла, клубочкового аппарата и канальцевой системы. Изменения ограничивались умеренным кровенаполнением, единичными сморщенными клубочками и редкими пикнотичными ядрами, не сопровождавшимися интерстициальным отеком, тромбозами, воспалительной инфильтрацией, нефросклерозом, канальцевой атрофией или некротическими изменениями

(Рисунок 4.3.12). Просветы канальцев оставались свободными, без белковых масс, цилиндров и иных патологических включений.

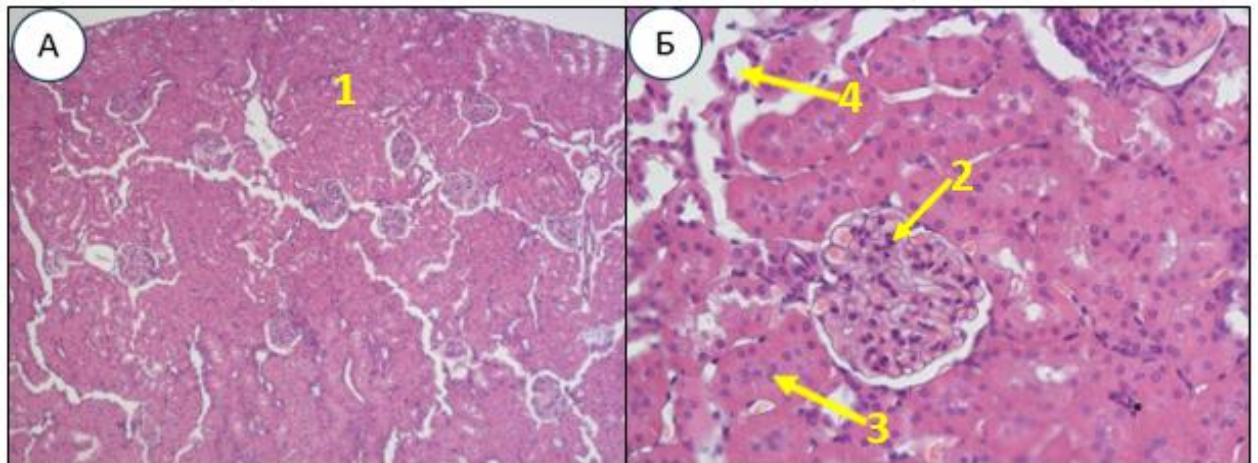


Рисунок 4.3.12 – Почки крыс через 45 дней введения акриламида. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

Применение корректирующих комплексов сопровождалось сохранением тканевой архитектоники печени и отсутствием признаков выраженного повреждения паренхимы (Рисунок 4.3.13, Рисунок 4.3.15, Рисунок 4.3.17). Во всех группах коррекции не выявлены кровоизлияния, некрозы, воспалительные инфильтраты, атипичное тканевое разрастание и иные деструктивные изменения. Морфологические особенности ограничивались умеренным или вариабельным кровенаполнением центральных вен и портальных сосудов, а также слабым либо умеренным расширением синусоидов. При использовании МГ-1, МГ-2 и МГ-10 токсически индуцированные изменения печени оставались минимальными, а выраженных различий между корректорами по степени гистопротекторного действия не установлено.

На фоне применения МГ-1, МГ-2 и МГ-10 морфологическая картина почек оставалась близкой к норме (Рисунок 4.3.14, Рисунок 4.3.16, Рисунок 4.3.18). Во всех группах коррекции сохранялись структура клубочков и канальцев, отсутствовали интерстициальный отек, воспалительные и некротические изменения, нефрокальциноз, атрофия эпителия и расширение

просветов канальцев. Отдельные минимальные особенности, включая редкие пикнотичные ядра или уменьшение размеров цитоплазматических везикул, не сопровождались нарушением общей архитектоники ткани. Существенных различий между МГ-1, МГ-2 и МГ-10 по степени нефропротекторного эффекта в данной серии не выявлено.

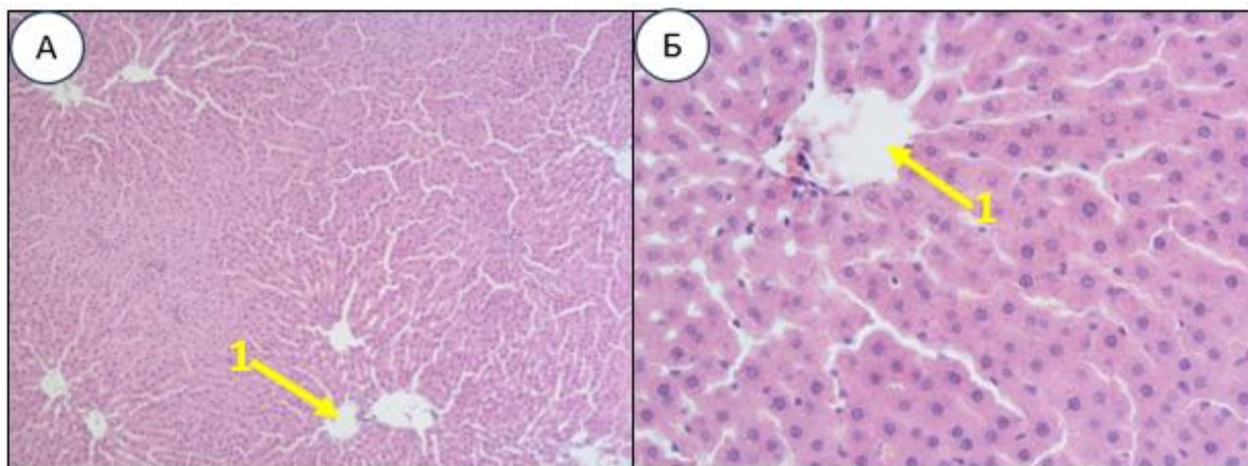


Рисунок 4.3.13 – Паренхима печени крыс через 45 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-1. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена

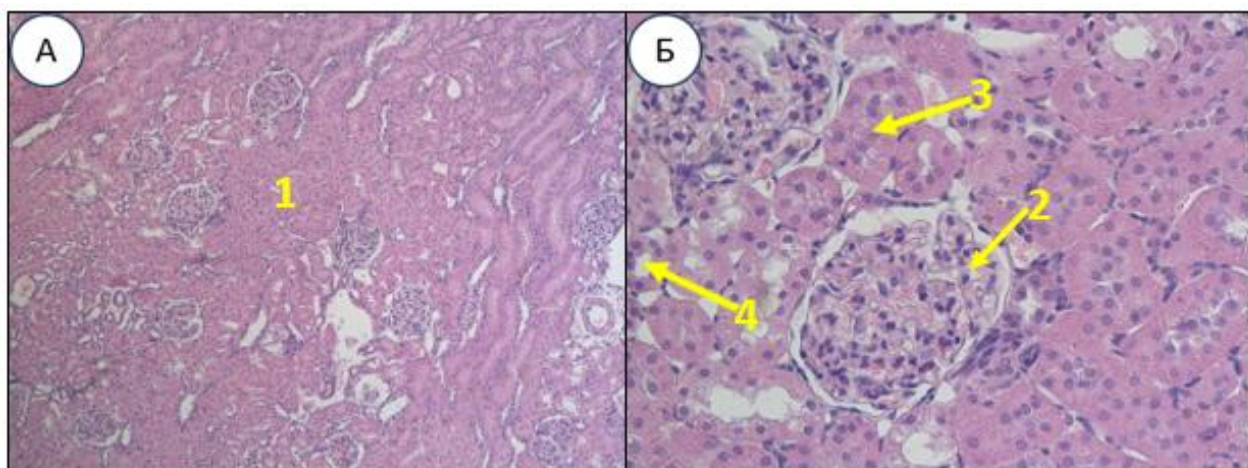


Рисунок 4.3.14 – Почки крыс через 45 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-1. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

Через 45 дней введения акриламида в печени отмечались преимущественно умеренные сосудистые реакции, а в почках выраженные патологические изменения не формировались. Применение МГ-1, МГ-2 и МГ-

10 сопровождалось сохранением архитектоники обоих органов и отсутствием воспалительно-деструктивных и некротических изменений. Корректоры снижали выраженность морфологических проявлений токсического воздействия, однако существенных различий между препаратами по гистопротекторной эффективности при данном сроке наблюдения не установлено.

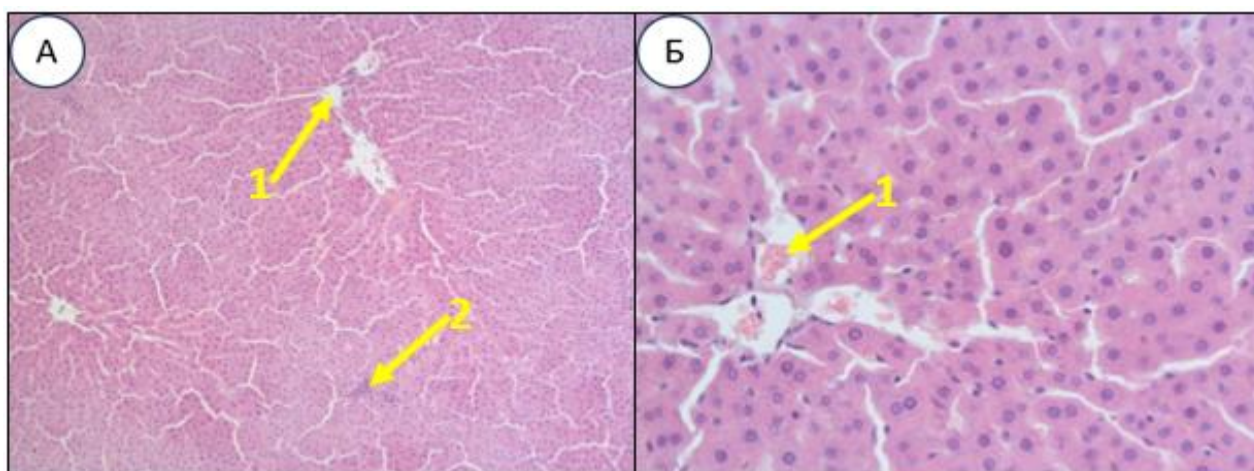


Рисунок 4.3.15 – Паренхима печени крыс через 45 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-2. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – триада (междольковая артерия, междольковый (желчный) проточек, междольковая вена)

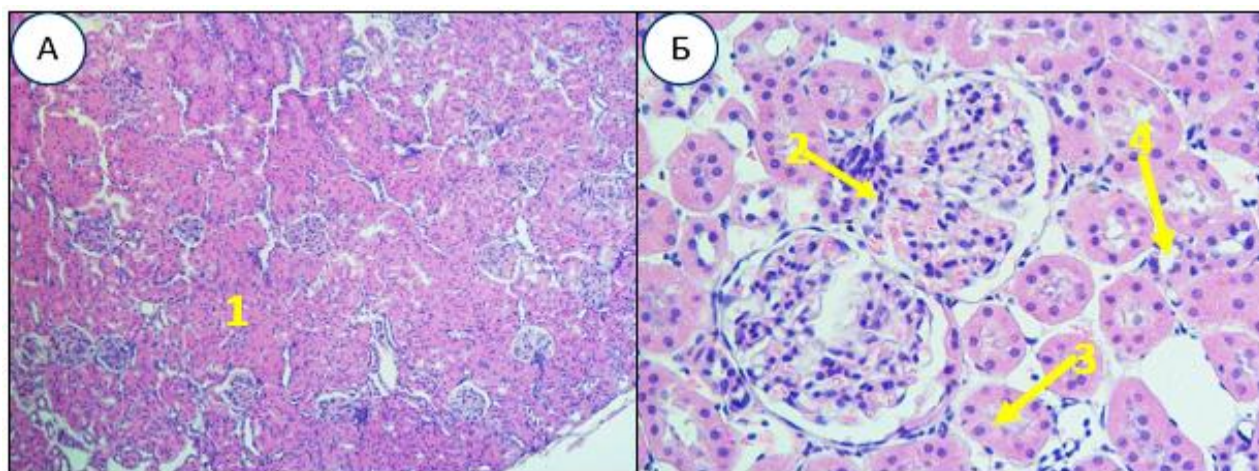


Рисунок 4.3.16 – Почки крыс через 45 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-2. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

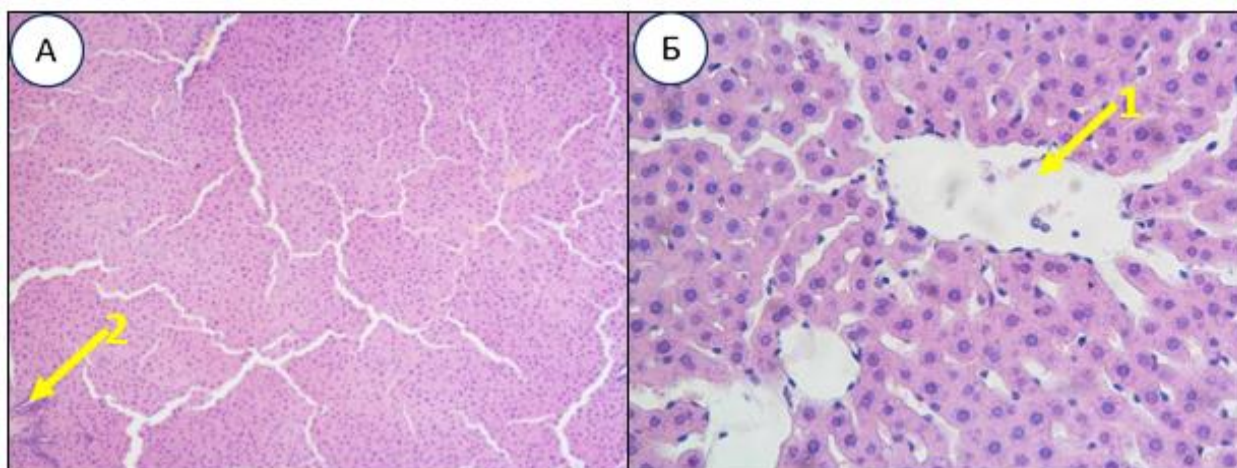


Рисунок 4.3.17 – Паренхима печени крыс через 45 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-10. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – триада (междольковая артерия, междольковый (желчный) проточек, междольковая вена)

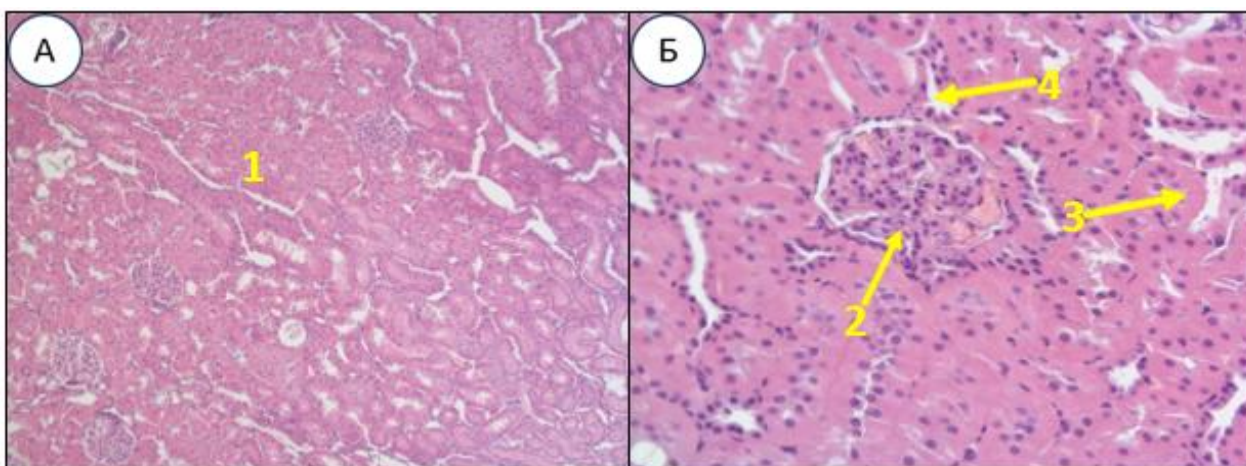


Рисунок 4.3.18 – Почки крыс через 45 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-10. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

По результатам исследования установлено, что на 45-е сутки воздействия акриламида у крыс выраженная генерализованная токсическая картина не формируется, однако сохраняются отдельные сдвиги, отражающие системное неблагополучие. Наиболее отчетливые изменения затрагивали гематологические показатели, включая эритроциты, тромбоциты и гематокрит, а также отдельные параметры антиоксидантной системы, прежде всего уровень пероксидов (ROOH). Среди интегральных

морфофункциональных показателей статистически значимые различия выявлены по коэффициенту печени. Поведенческие показатели, масса тела и большинство стандартных биохимических параметров крови оставались стабильными, хотя в группе МГ-10 отмечались более низкие значения АЛТ и ЩФ. На молекулярном уровне в печени наиболее выраженные изменения касались экспрессии гена *Gstp1*, тогда как для *Gstm1* и *Hmox1* прослеживались тенденции к межгрупповым различиям; в почках достоверных изменений экспрессии исследованных генов на данном сроке не установлено. Морфологически изменения в печени ограничивались преимущественно умеренными сосудистыми реакциями без выраженной деструкции паренхимы, тогда как в почках существенная патология не формировалась. Применение МГ-1, МГ-2 и МГ-10 сопровождалось сохранением архитектоники обоих органов и отсутствием воспалительно-некротических изменений, что указывает на сдерживание структурных проявлений токсического процесса. На данном сроке хронического воздействия акриламида преобладают умеренные функционально-метаболические и молекулярные сдвиги при минимальной морфологической выраженности повреждения, а фармакологическая коррекция оказывает частичный защитный эффект без явного преимущества одного препарата по совокупности критериев.

В Таблице 4.3.4 представлены результаты комплексного анализа, включающего изменение веса тела, поведенческие, биохимические, гематологические, иммунологические и молекулярные показатели. По показателям двигательной активности и норкового рефлекса статистически значимых межгрупповых различий не выявлено. Для вертикальной двигательной активности общий эффект группы не достигал значимости ($F=2,72$; $p=0,072$), однако прослеживалась тенденция к снижению показателя в группе K^+ с частичным восстановлением на фоне коррекции, наиболее выраженным в группе МГ-2. Аналогично, для горизонтальной двигательной активности межгрупповые различия отсутствовали ($F=0,86$; $p=0,477$):

минимальное значение зарегистрировано в группе МГ-1 (6,0 усл. ед.), максимальное – в группе К- (9,5 усл. ед.). По показателю норкового рефлекса также не установлено статистически значимого межгруппового эффекта ($F=2,65$; $p=0,077$); при этом минимальный уровень наблюдался в группе К+ (1,83 усл. ед.), максимальный – в группе К- (3,67 усл. ед.). Несмотря на отсутствие статистически подтвержденных различий, полученные данные указывают на тенденцию к ухудшению нейроповеденческих показателей на фоне воздействия акрилаида и их частичной нормализации при применении корректирующих препаратов, особенно МГ-2.

Таблица 4.3.4 – Сводная таблица результатов эксперимента с данными статистического анализа

Показатель	К-	К+	МГ-1	МГ-2	МГ-10	F	p
1	2	3	4	5	6	7	8
ВДА, усл. ед.	2,50 ±0,56	1,33 ±0,42	1,17 ±0,48	2,50 ±0,22	1,67 ±0,42	2,72	0,072
ГДА, усл. ед.	9,50 ±1,57	9,17 ±2,07	6,00 ±1,91	8,83 ±1,25	6,00 ±1,15	0,86	0,477
Норковый рефлекс, усл. ед.	3,67 ±0,84	1,83 ±0,48	1,83 ±0,31	3,50 ±0,72	2,17 ±0,31	2,65	0,077
Эмоциональная реактивность, болюсы	1,83 ±0,70	1,33 ±0,71	1,33 ±0,71	0,67 ±0,49	1,33 ±0,88	0,52	0,673
Масса тела в начале, г	187,67 ±3,19	188,83 ±2,34	188,50 ±2,23	192,17 ±2,87	189,33 ±3,21	0,54	0,659
Масса тела на 7-е сутки, г	220,67 ±6,17	215,67 ±5,10	222,83 ±3,20	227,67 ±5,00	222,00 ±5,77	1	0,414
Масса тела на 14-е сутки, г	236,00 ±7,10	231,50 ±4,55	233,00 ±2,90	238,17 ±6,01	242,67 ±6,09	0,31	0,818
Масса тела на 21-е сутки, г	258,33 ±6,13	249,67 ±5,38	257,00 ±2,31	268,67 ±6,28	267,83 ±6,36	2,2	0,119
Масса тела на 28-е сутки, г	280,33 ±5,99	275,67 ±4,78	277,00 ±2,39	282,83 ±6,41	284,83 ±7,71	0,4	0,755
Масса тела на 35-е сутки, г	286,83 ±5,53	280,83 ±6,80	277,67 ±1,38	285,67 ±6,90	288,17 ±7,23	0,58	0,637
Масса тела на 42-е сутки, г	291,17 ±6,94	290,83 ±6,82	292,50 ±2,40	300,00 ±6,63	301,50 ±7,30	0,51	0,677
Масса тела на 49-е сутки, г	307,50 ±7,74	297,83 ±7,30	301,50 ±2,64	310,67 ±7,76	309,17 ±8,58	0,74	0,539
Масса тела на 56-е сутки, г	308,67 ±7,88	306,00 ±8,50	306,17 ±1,51	319,17 ±7,73	318,17 ±8,36	0,79	0,513
Масса тела на 63-и сутки, г	310,33 ±6,63	301,50 ±7,69	304,50 ±2,28	314,83 ±7,41	313,00 ±8,23	0,87	0,473
Масса тела на 77-е сутки, г	304,50 ±7,63	300,17 ±7,12	303,83 ±2,06	312,67 ±6,84	302,33 ±7,73	0,7	0,566

Продолжение таблицы 4.3.4

1	2	3	4	5	6	7	8
Масса тела на 90-е сутки, г	316,33 ±6,56	312,33 ±7,06	313,33 ±3,49	324,33 ±10,34	313,33 ±10,25	0,56	0,649
Коэффициент печени, %	24,54 ±0,34	25,36 ±0,38	24,11 ±0,38	24,76 ±0,57	26,76 ±0,53*	1,48	0,250
Коэффициент почек, %	6,20 ±0,09	6,32 ±0,11	6,49 ±0,09	6,32 ±0,24	6,96 ±0,13*#	0,67	0,579
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,85 ±0,97	6,62 ±1,12	8,32 ±1,47	9,00 ±1,41	10,62 ±2,32	0,84	0,490
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	8,80 ±0,19	8,45 ±0,14	8,57 ±0,08	8,72 ±0,23	9,03 ±0,22	0,85	0,481
Гемоглобин, г/л	154,83 ±2,91	149,67 ±2,46	150,33 ±1,99	156,00 ±3,39	162,83 ±4,99	1,34	0,288
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	307,50 ±11,12	302,67 ±16,83	290,17 ±21,59	234,83 ±19,01	296,67 ±27,28	3,62	0,031
Гематокрит, %	48,17 ±0,88	46,58 ±0,87	46,63 ±0,95	49,67 ±1,43	52,08 ±1,80#	1,93	0,158
Лимфоциты, %	83,70 ±1,57	78,27 ±4,09	82,22 ±1,72	69,07 ±5,33*	79,72 ±2,21	3,42	0,037
Моноциты, %	13,82 ±1,38	15,73 ±1,23	13,90 ±0,88	19,10 ±2,14	15,32 ±1,01	2,79	0,067
Гранулоциты, %	2,37 ±0,43	5,85 ±3,26	3,78 ±0,98	11,67 ±5,87	4,83 ±1,88	1,45	0,259
АСТ, Ед/л	182,40 ±10,21	164,36 ±5,03	158,22 ±7,91	184,29 ±12,69	170,08 ±8,45	1,92	0,160
АЛТ, Ед/л	53,70 ±2,29	60,34 ±5,69	50,98 ±3,34	38,94 ±5,72#	37,92 ±3,41#	3,92	0,024
ЩФ, Ед/л	165,38 ±15,62	182,54 ±16,32	155,68 ±7,35	129,38 ±8,85#	168,25 ±8,39	3,07	0,051
ОБ, г/л	59,00 ±1,12	58,23 ±1,17	55,58 ±2,20	58,04 ±2,26	62,56 ±2,28	0,7	0,564
САТ, мкмоль/л	204,01 ±79,89	147,22 ±24,83	158,88 ±29,14	175,09 ±40,11	352,87 ±124,25	0,26	0,856
GSH, мкмоль/л	1,33 ±0,41	1,76 ±0,24	1,86 ±0,25	2,01 ±0,51	1,77 ±0,42	0,61	0,617
ROOH, мкмоль/л	9,38 ±2,89	18,54 ±3,61	12,09 ±3,03	15,00 ±1,86	13,73 ±4,63	1,82	0,177
SOD, нг/мл	7,99 ±6,08	9,50 ±3,98	4,64 ±0,75	6,47 ±1,12	5,47 ±0,57	0,32	0,813
<i>Casp7</i> в печени	0,06 ±0,25	0,19 ±0,18	-0,21 ±0,22	-0,07 ±0,27	0,93 ±0,17	0,55	0,656
<i>Ripk1</i> в печени	0,03 ±0,25	-0,36 ±0,09	1,03 ±0,29#	-0,48 ±0,29	0,14 ±0,48	7,9	0,001
<i>Chek1</i> в печени	-0,02 ±0,16	0,35 ±0,17	0,27 ±0,30	0,08 ±0,75	0,31 ±0,25	0,16	0,919
<i>Sod1</i> в печени	0,02 ±0,18	-0,08 ±0,14	0,74 ±0,37	-0,10 ±0,41	0,55 ±0,20	1,86	0,169

Продолжение таблицы 4.3.4

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Gstm1</i> в печени	0,01 ±0,19	0,82 ±0,78	0,32 ±0,23	-1,01 ±1,00	0,21 ±0,25	1,41	0,269
<i>Gstt1</i> в печени	-0,08 ±0,22	0,49 ±0,90	-0,30 ±0,18	0,78 ±0,75	0,10 ±0,23	0,69	0,571
<i>Gstp1</i> в печени	0,01 ±0,14	-0,20 ±0,11	0,80 ±0,37	0,42 ±0,45	-0,08 ±0,11	2,11	0,131
<i>Gclc</i> в печени	-0,06 ±0,16	0,28 ±0,24	-0,70 ±0,56	0,98 ±0,64	0,35 ±0,18	2,42	0,096
<i>Hmox1</i> в печени	0,06 ±0,24	0,00 ±0,25	1,16 ±0,16	0,12 ±0,78	0,71 ±0,13	1,59	0,222
<i>Nqo1</i> в печени	-0,34 ±0,35	0,90 ±0,50	0,26 ±0,37	0,90 ±0,73	1,41 ±0,36	1,36	0,283
<i>Nfe2l2</i> в печени	0,08 ±0,23	0,54 ±0,29	0,26 ±0,23	0,62 ±0,32	1,24 ±0,18*	0,85	0,485
<i>Casp7</i> в почках	-0,20 ±0,74	2,72 ±1,85	3,14 ±2,09	2,10 ±1,24	-0,67 ±2,05	0,9	0,459
<i>Ripk1</i> в почках	-0,20 ±0,42	2,63 ±1,76	2,07 ±2,02	0,76 ±1,05	1,49 ±0,96	0,77	0,523
<i>Chek1</i> в почках	0,53 ±1,53	4,99 ±2,13	3,80 ±1,14	2,87 ±0,86	3,40 ±1,79	1,6	0,222
<i>Sod1</i> в почках	-0,27 ±0,66	1,74 ±0,60	-0,19 ±1,39	-1,83 ±3,51	0,54 ±0,89	0,57	0,643
<i>Gstm1</i> в почках	-0,08 ±0,64	-1,02 ±1,60	-0,06 ±0,41	-0,62 ±0,57	-0,69 ±0,80	0,25	0,861
<i>Gstt1</i> в почках	0,06 ±0,71	-2,33 ±1,40	2,15 ±0,55[#]	-0,21 ±0,95	0,97 ±1,02	3,69	0,029
<i>Gstp1</i> в почках	-0,43 ±0,35	0,09 ±0,58	2,17 ±2,83	1,15 ±0,42	2,24 ±0,44	0,62	0,612
<i>Gclc</i> в почках	-0,40 ±0,53	-0,52 ±0,67	1,38 ±2,78	0,13 ±0,58	-0,51 ±1,12	0,34	0,793
<i>Hmox1</i> в почках	0,17 ±0,56	-0,51 ±0,50	2,48 ±0,90	2,46 ±1,25	1,93 ±0,53	3,24	0,044
<i>Nqo1</i> в почках	-0,21 ±0,60	1,17 ±0,64	2,17 ±1,71	5,39 ±2,23	-0,82 ±1,27	2,62	0,079
<i>Nfe2l2</i> в почках	-0,03 ±0,17	0,64 ±0,22	0,31 ±0,42	0,13 ±0,31	0,32 ±0,14	0,98	0,422

Примечание: Значения представлены в формате «среднее ± стандартное отклонение». Строки, выделенные жирным шрифтом, указывают на наличие статистически значимых различий между группами на основе результатов дисперсионного анализа (ANOVA). Для парных сравнений с использованием поправки Тьюки применяются следующие обозначения: звездочкой (*) отмечены статистически значимые различия групп МГ-1, МГ-2, МГ-10 по сравнению с контрольной группой К-; решеткой (#) отмечены статистически значимые различия групп МГ-1, МГ-2, МГ-10 по сравнению с контрольной группой К+.

Статистический анализ не выявил значимых межгрупповых различий по массе тела крыс ни на исходном этапе, ни в динамике хронического эксперимента. Начальная масса тела была сопоставимой во всех группах ($F=0,54$; $p=0,659$). Через 1 неделю различия также отсутствовали ($F=1,0$; $p=0,414$): минимальное значение зарегистрировано в группе K^+ (215,67 г), максимальное – в группе МГ-2 (227,67 г), при этом масса тела в K^+ не отличалась от K^- (220,67 г; $p=0,958$). Через 2 недели межгрупповой эффект не достигал значимости ($F=0,31$; $p=0,818$): минимальный показатель отмечен в K^+ (231,5 г), максимальный – в МГ-10 (242,67 г). На 3-й неделе статистически значимых различий также не установлено ($F=2,2$; $p=0,119$): минимальная масса тела наблюдалась в K^+ (249,67 г), максимальная – в МГ-2 (268,67 г). Аналогичная картина сохранялась на 4-й неделе ($F=0,4$; $p=0,755$), где минимальное значение составило 275,67 г в группе K^+ , а максимальное – 284,83 г в группе МГ-10, и на 5-й неделе ($F=0,58$; $p=0,637$), когда наибольшая масса тела также отмечалась в МГ-10 (288,17 г). Через 6 недель межгрупповые различия отсутствовали ($F=0,51$; $p=0,677$): минимальный показатель зарегистрирован в K^+ (290,83 г), максимальный – в МГ-10 (301,5 г). На 7-й неделе статистически значимых различий также не выявлено ($F=0,74$; $p=0,539$): минимальная масса тела зафиксирована в K^+ (297,83 г), максимальная – в МГ-2 (310,67 г). На 8-й неделе различия оставались незначимыми ($F=0,79$; $p=0,513$): минимальное значение составило 306,0 г в группе K^+ , максимальное – 319,17 г в группе МГ-2. На 9-й неделе межгрупповой эффект также отсутствовал ($F=0,87$; $p=0,473$): в K^+ масса тела составила 301,5 г, в МГ-2 – 314,83 г. На 11-й неделе значимых различий не установлено ($F=0,7$; $p=0,566$): минимальный показатель отмечен в K^+ (300,17 г), максимальный – в МГ-2 (312,67 г). В конце эксперимента масса тела также не различалась между группами ($F=0,56$; $p=0,649$): минимальное значение зарегистрировано в K^+ (312,33 г), максимальное – в МГ-2 (324,33 г). В течение всего периода наблюдения введение акриламида и применение корректирующих препаратов не сопровождалось статистически значимыми

изменениями массы тела животных, хотя в группе К+ чаще отмечались минимальные, а в группах МГ-2 и МГ-10 – максимальные значения показателя.

Результаты статистического анализа показали отсутствие статистически значимых различий в среднем уровне весового коэффициента печени между экспериментальными группами ($F=1,48$; $p=0,250$) (Рисунок 4.3.19).

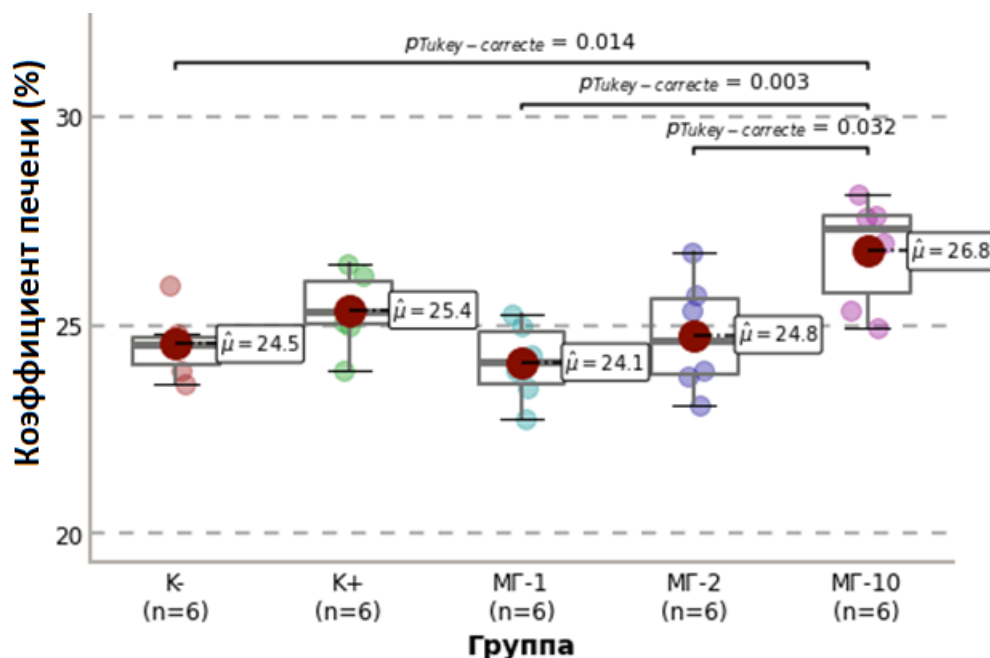


Рисунок 4.3.19 – Среднее значение весового коэффициента печени

Попарные сравнения показали, что весовой коэффициент печени в группе МГ-10 был выше по сравнению с К- (26,76 против 24,54; $p=0,014$), К+ (26,76 против 24,11; $p=0,003$) и МГ-2 (26,76 против 24,76; $p=0,032$). Максимальное значение данного показателя зарегистрировано в группе МГ-10, что отличало ее как от контрольных, так и от одной из групп коррекции. Полученные данные указывают на возможное влияние МГ-10 на морфофункциональное состояние печени в условиях хронического воздействия акриламида.

По результатам статистического анализа было установлено, что различия в среднем весовом коэффициенте почек между исследуемыми группами не достигли статистической значимости ($F=0,67$; $p=0,579$) (Рисунок 4.3.20). Попарный анализ показал, что весовой коэффициент почек в группе МГ-10 был выше по сравнению с К- (6,96; $p=0,008$), К+ (6,96 против 6,32;

$p=0,030$) и МГ-2 (6,96 против 6,32; $p=0,030$). Максимальное значение данного показателя зарегистрировано в группе МГ-10, что отличало ее как от контрольных, так и от одной из групп коррекции. Полученные данные указывают на изменение весового коэффициента почек на фоне применения МГ-10 в условиях хронического воздействия акриламида.

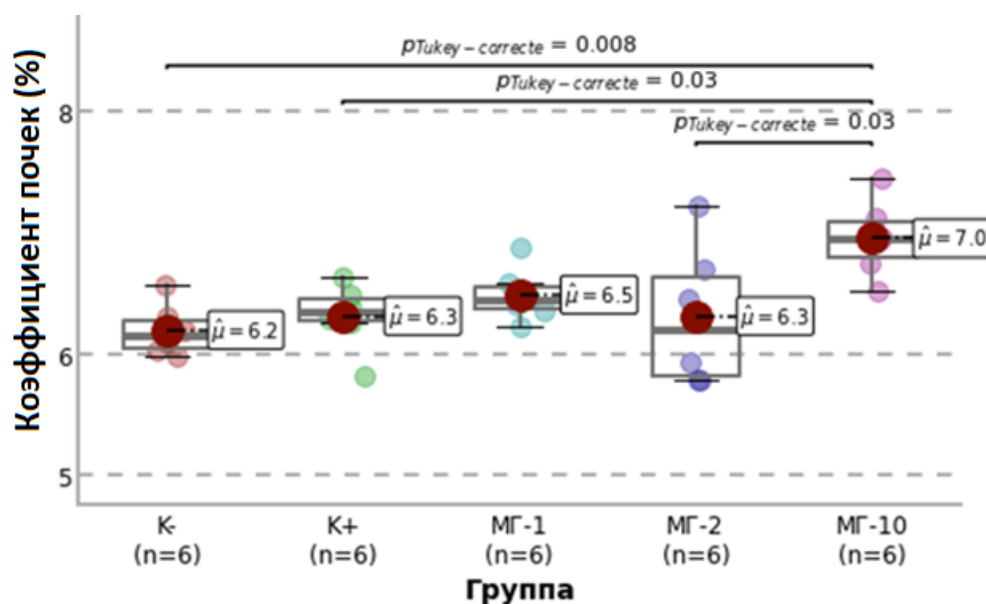


Рисунок 4.3.20 – Среднее значение весового коэффициента почек в исследуемых группах

Гематологические показатели оставались сопоставимыми между группами, за исключением уровня тромбоцитов. Так, статистически значимых межгрупповых различий не выявлено для лейкоцитов ($F=0,84$; $p=0,490$), эритроцитов ($F=0,85$; $p=0,481$) и гемоглобина ($F=1,34$; $p=0,288$). Минимальные значения всех трех показателей регистрировались в группе K+: для лейкоцитов – $6,62 \times 10^9/\text{л}$, для эритроцитов – $8,45 \times 10^{12}/\text{л}$, для гемоглобина – $149,67 \text{ г/л}$, тогда как максимальные значения наблюдались в группе МГ-10 и составляли $10,62 \times 10^9/\text{л}$, $9,03 \times 10^{12}/\text{л}$ и $162,83 \text{ г/л}$ соответственно. Несмотря на отсутствие статистически значимого межгруппового эффекта, в группе K+ прослеживалась тенденция к снижению показателей красной крови, тогда как в группах коррекции, особенно МГ-10, отмечались более высокие значения. В отличие от этого, уровень тромбоцитов различался между группами статистически значимо ($F=3,62$; $p=0,031$): минимальное значение

зарегистрировано в группе МГ-2 – $234,83 \times 10^9/\text{л}$, максимальное – в группе К- – $307,5 \times 10^9/\text{л}$. Полученные данные указывают на наиболее выраженные изменения тромбоцитарного звена крови при относительной стабильности остальных гематологических показателей.

Проведенный статистический анализ показал, что различия в уровне гематокрита между экспериментальными группами не достигли статистически значимой разницы ($F=1,93$; $p=0,158$) (Рисунок 4.3.21).

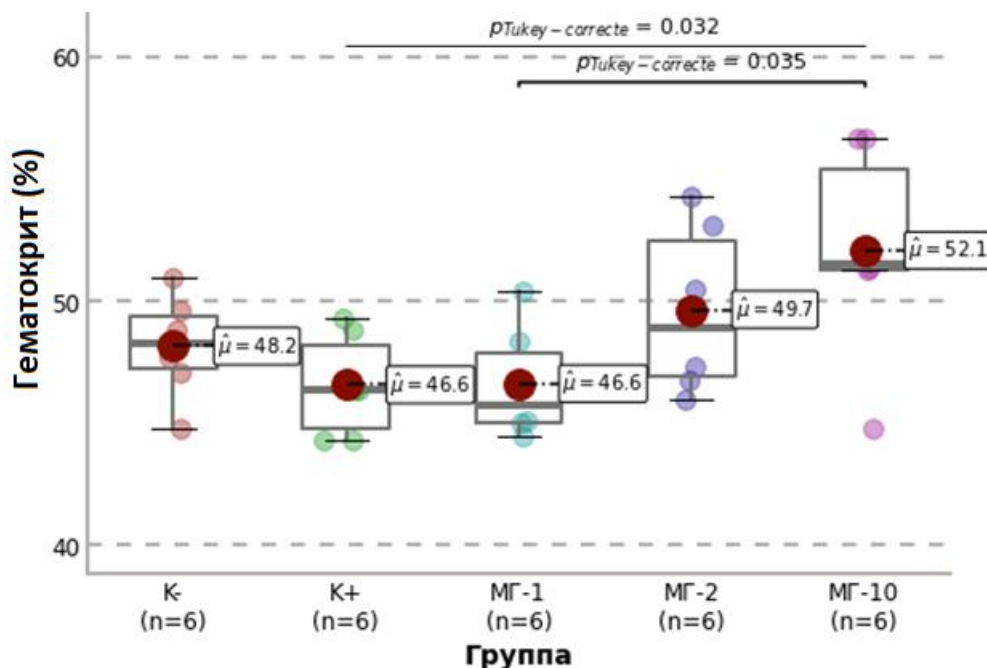


Рисунок 4.3.21 – Среднее значение гематокрита в исследуемых группах

Изменения гематокрита также носили межгрупповой характер. Минимальное значение показателя зарегистрировано в группе К+ и составило 46,58%, тогда как максимальное – в группе МГ-10 (52,08%). При попарном сравнении уровень гематокрита в группе К+ был ниже по сравнению с МГ-10 (46,58% против 52,08%; $p=0,032$), а в группе МГ-10 – выше, чем в МГ-1 (52,08% против 46,63%; $p=0,035$). Наиболее низкий уровень гематокрита отмечался в группе положительного контроля, тогда как максимальное значение наблюдалось на фоне применения МГ-10.

Статистический анализ показал, что различия в среднем уровне лимфоцитов среди экспериментальных групп достигли статистической значимости ($F=3,42$; $p=0,037$) (Рисунок 4.3.22).

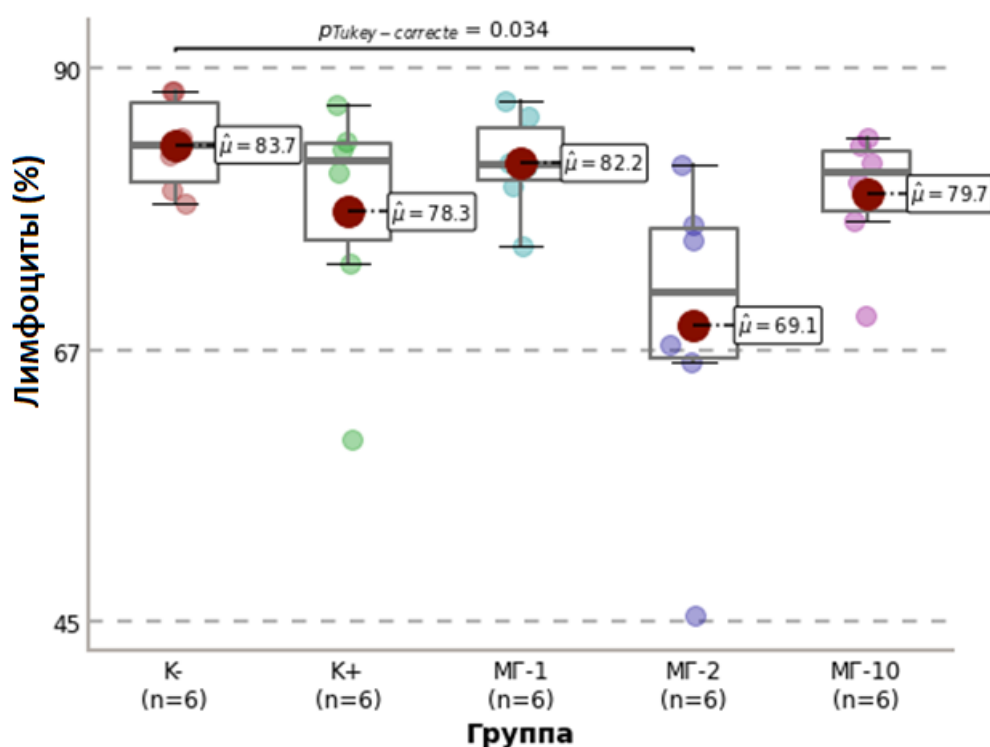


Рисунок 4.3.22 – Среднее значение лимфоцитов в исследуемых группах

Изменения лейкоцитарной формулы носили избирательный характер. Минимальный уровень лимфоцитов зарегистрирован в группе МГ-2 и составил 69,07%, тогда как максимальное значение отмечалось в группе К- – 83,7%; при этом содержание лимфоцитов в группе МГ-2 было ниже по сравнению с контролем ($p=0,034$). Для моноцитов статистически значимых межгрупповых различий не выявлено ($F=2,79$; $p=0,067$), однако минимальное значение наблюдалось в группе К- (13,82%), а максимальное – в группе МГ-2 (19,1%). Наиболее выраженные изменения в данной серии касались снижения уровня лимфоцитов в группе МГ-2, тогда как различия по содержанию моноцитов носили характер тенденции.

Проведенный статистический анализ показал, что различия в среднем уровне активности АСТ в исследуемых группах не достигли статистической значимости ($F=1,92$; $p=0,160$) (Рисунок 4.3.23). Биохимические показатели характеризовались ограниченной выраженностью межгрупповых различий. Для АСТ статистически значимого эффекта не установлено, однако наблюдались отдельные тенденции, указывающие на возможное влияние

коррекции, в том числе препарата МГ-2, на ферментативную активность печени. В отличие от этого, по уровню АЛТ выявлены значимые межгрупповые различия ($F=3,92$; $p=0,024$): максимальное значение зарегистрировано в группе K^+ – 60,34 Ед/л, минимальное – в группе МГ-10 – 37,92 Ед/л. При попарном сравнении уровень АЛТ в группе K^+ был выше, чем в МГ-2 (60,34 против 38,94 Ед/л; $p=0,014$) и МГ-10 (60,34 против 37,92 Ед/л; $p=0,009$), что указывает на снижение данного показателя на фоне применения указанных препаратов.

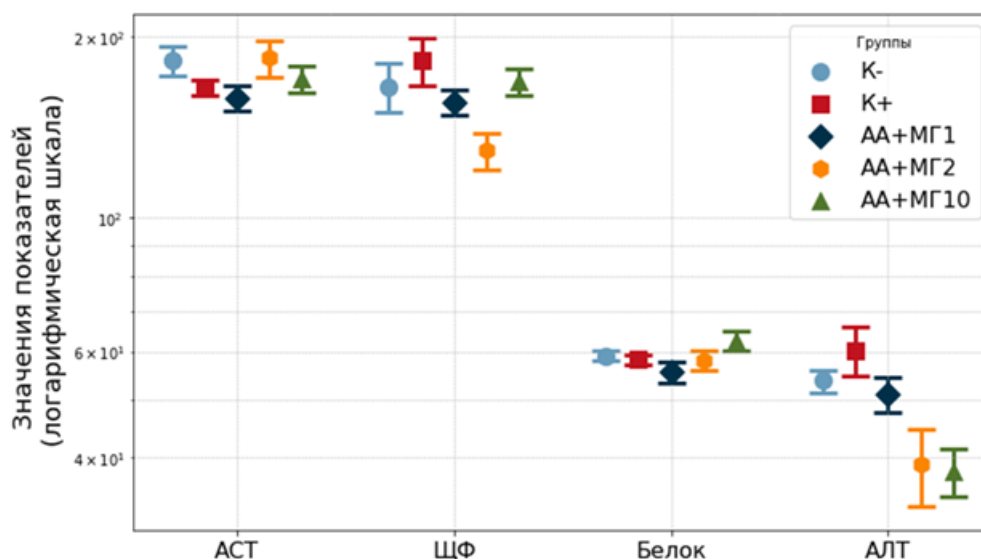


Рисунок 4.3.23 – Средние значения биохимических показателей крови (АСТ, ЩФ, белок, АЛТ)

Для ЩФ общий межгрупповой эффект не достигал статистической значимости ($F=3,07$; $p=0,051$), однако максимальный уровень отмечался в группе K^+ – 182,54 Ед/л, минимальный – в группе МГ-2 – 129,38 Ед/л. При этом содержание ЩФ в группе K^+ было выше по сравнению с МГ-2 (182,54 против 129,38 Ед/л; $p=0,031$). По уровню общего белка статистически значимых различий между группами не выявлено ($F=0,7$; $p=0,564$). Наиболее отчетливые изменения в данной серии биохимических показателей касались повышения АЛТ в группе K^+ и его снижения в группах МГ-2 и МГ-10, тогда как различия по ЩФ носили пограничный характер, а уровень общего белка оставался стабильным.

Проведенный статистический анализ показал, что различия в среднем уровне активности каталазы между исследуемыми группами не достигли статистически значимого уровня ($F=0,26$; $p=0,856$) (Рисунок 4.3.24).



Рисунок 4.3.24 – Значения показателей антиоксидантной системы (каталаза, глутатион, пероксиды, супероксиддисмутаза) в логарифмической шкале

Наиболее выраженные межгрупповые различия касались активности каталазы, тогда как по уровню глутатиона, содержанию пероксидов и активности супероксиддисмутаза статистически значимых различий между группами не выявлено.

Активность каталазы в интактной группе составляла $204,01 \pm 79,89$, в группе положительного контроля $147,22 \pm 24,83$, в группе МГ-1 $158,88 \pm 29,14$, в группе МГ-2 $175,09 \pm 40,11$, тогда как в группе МГ-10 данный показатель возрастал до $438,95 \pm 100,93$. По результатам однофакторного дисперсионного анализа различия между группами были статистически значимыми ($F=3,76$; $p=0,0158$). Активность каталазы в группе МГ-10 была достоверно выше по сравнению с группой МГ-1 ($p=0,0305$), группой МГ-2 ($p=0,0459$) и группой положительного контроля ($p=0,0226$). При этом различия между группой МГ-10 и интактной группой не достигали статистической значимости ($p=0,0912$), равно как и различия между интактной группой, положительным контролем, МГ-1 и МГ-2. С учетом патогенеза акриламид-индуцированного повреждения это может свидетельствовать о том, что при длительном воздействии

токсиканта выраженного устойчивого угнетения каталазного звена антиоксидантной защиты не происходило, однако введение МГ-10 сопровождалось заметной активацией данного ферментативного механизма.

Содержание глутатиона в группе К- составляло $1,33 \pm 0,41$, в группе К+ – $1,76 \pm 0,24$, в группе МГ-1 – $1,86 \pm 0,25$, в группе МГ-2 – $2,01 \pm 0,52$, в группе МГ-10 – $1,77 \pm 0,42$. Несмотря на некоторую тенденцию к повышению среднего уровня глутатиона в группах профилактической коррекции, однофакторный дисперсионный анализ не выявил статистически значимых различий между группами ($F=0,43$; $p=0,7831$), а при попарных сравнениях по критерию Тьюки значимые различия также отсутствовали во всех случаях. Отсутствие снижения глутатиона в группе положительного контроля может указывать либо на развитие адаптационных механизмов при хронической экспозиции, либо на то, что на момент исследования пул восстановленного глутатиона уже был частично стабилизирован за счет компенсаторной перестройки клеточного метаболизма. В то же время отсутствие достоверных различий между группами коррекции и контролем не позволяет говорить о выраженном влиянии соединений МГ на глутатионовое звено антиоксидантной защиты.

Уровень пероксидов в интактной группе составлял $9,38 \pm 2,89$, в группе положительного контроля – $18,54 \pm 3,61$, в группе МГ-1 – $12,09 \pm 3,03$, в группе МГ-2 – $15,00 \pm 1,86$, в группе МГ-10 – $13,73 \pm 4,63$. Хотя в абсолютном выражении в группе положительного контроля наблюдалось повышение содержания пероксидов по сравнению с интактными животными, статистически значимые различия между группами не были выявлены ни по результатам однофакторного дисперсионного анализа ($F=1,04$; $p=0,4041$), ни при множественных попарных сравнениях. С патогенетической точки зрения такая направленность изменений соответствует известным представлениям о способности акриламида инициировать образование активных форм кислорода и усиливать процессы перекисного окисления липидов.

Показана динамика экспрессии генов в печени крыс в зависимости от экспериментального воздействия токсиканта и используемой фармакологической коррекции (Рисунок 4.3.25).

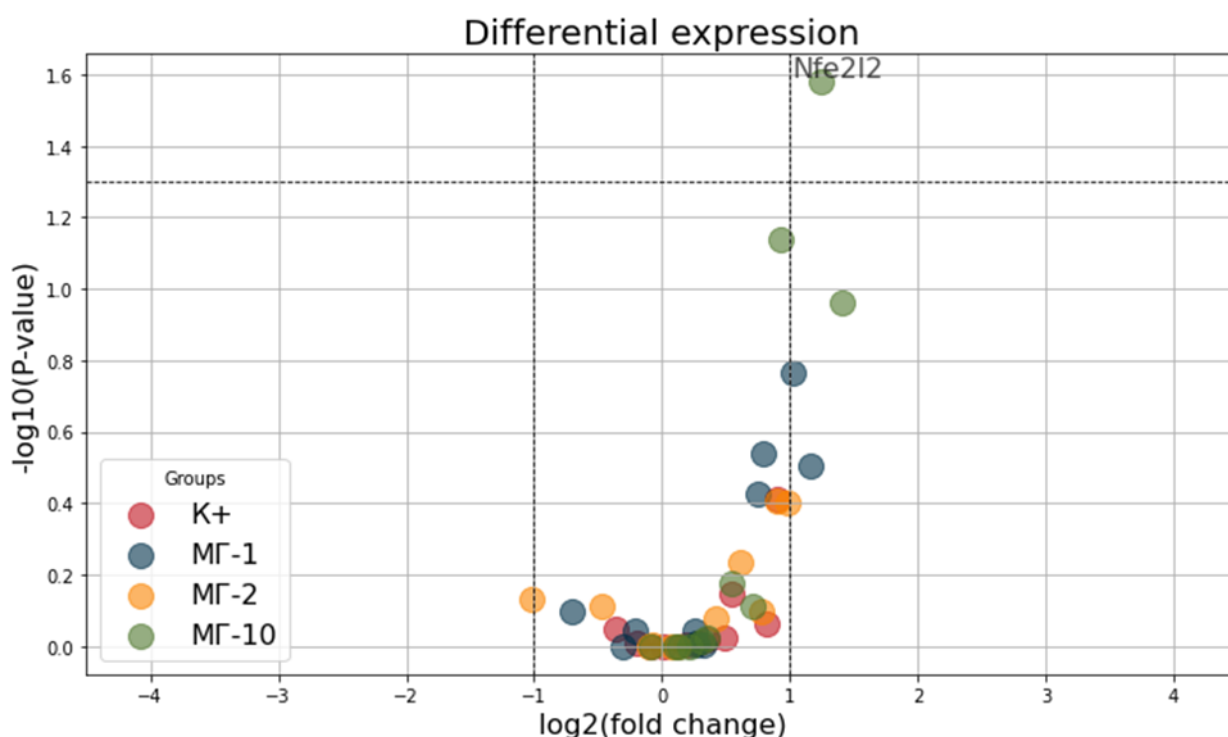


Рисунок 4.3.25 – Профиль экспрессии ключевых генов в печени крыс в условиях хронического токсического воздействия акриламида и фармакологической коррекции

В печени статистически значимые межгрупповые различия выявлены только для экспрессии гена *Ripk1* ($F=7,9$; $p=0,001$): в группе МГ-1 уровень экспрессии составил 1,03 и был выше, чем в К+ (-0,36; $p=0,027$) и МГ-2 (-0,48; $p=0,014$). Для остальных исследованных генов общий межгрупповой эффект не достигал статистической значимости: *Casp7* ($F=0,55$; $p=0,656$), *Sod1* ($F=1,86$; $p=0,169$), *Gstm1* ($F=1,41$; $p=0,269$), *Gstt1* ($F=0,69$; $p=0,571$), *Gstp1* ($F=2,11$; $p=0,131$), *Gclc* ($F=2,42$; $p=0,096$), *Hmox1* ($F=1,59$; $p=0,222$), *Nqo1* ($F=1,36$; $p=0,283$) и *Nfe2l2* ($F=0,85$; $p=0,485$).

При этом для ряда показателей прослеживались отдельные направленные сдвиги. Максимальный уровень экспрессии *Casp7* отмечался в группе МГ-10 (0,93), превышая значение в МГ-1 ($p=0,010$), тогда как различие с К+ не достигало статистической значимости ($p=0,160$). Для *Sod1* наблюдалась тенденция к повышению экспрессии в группе МГ-1.

Минимальный уровень *Gstm1* зарегистрирован в группе МГ-2 (-1,01), максимальный – в К+ (0,82). По *Gstp1* наибольшее значение также отмечалось в группе МГ-1 (0,8), тогда как для *Gclc* более высокий уровень наблюдался в МГ-2 (0,98) по сравнению с МГ-1 (-0,7; $p=0,054$). Максимальная экспрессия *Hmox1* зафиксирована в группе МГ-1 (1,16), *Nqo1* – в группе МГ-10 (1,41), *Nfe2l2* – также в группе МГ-10 (1,24; $p=0,026$).

В данной серии наибольшие статистически подтвержденные изменения касались экспрессии *Ripk1* в группе МГ-1, тогда как для большинства генов, связанных с антиоксидантной защитой и клеточным стрессом, отмечались лишь тенденции к межгрупповым различиям. Среди групп коррекции наиболее выраженные сдвиги отдельных показателей наблюдались в МГ-10 для *Casp7*, *Nqo1* и *Nfe2l2*, а в МГ-1 – для *Ripk1*, *Sod1*, *Gstp1* и *Hmox1*.

Показана динамика экспрессии генов в почках крыс в зависимости от экспериментального воздействия токсиканта и используемой фармакологической коррекции (Рисунок 4.3.26).

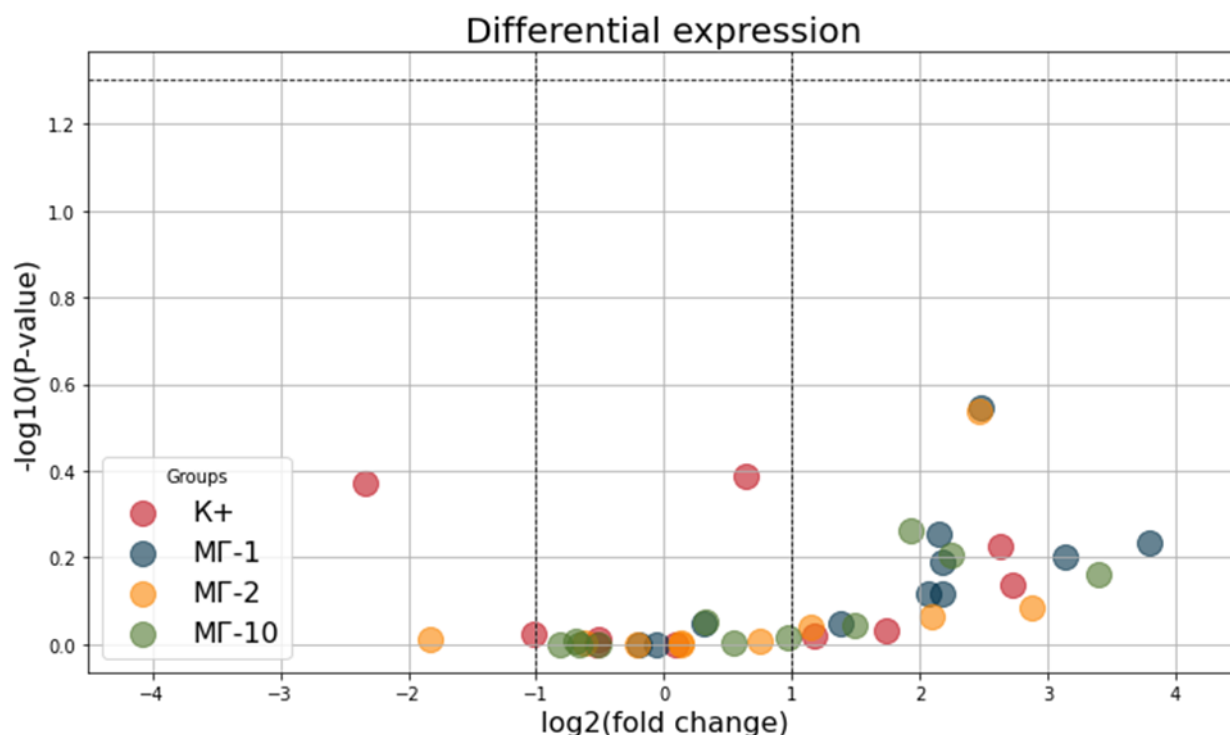


Рисунок 4.3.26 – Профиль экспрессии ключевых генов в почках крыс в условиях хронического токсического воздействия акриламида и фармакологической коррекции

В исследуемой ткани статистически значимые межгрупповые различия выявлены для экспрессии генов *Gstt1* и *Hmox1*. Для *Gstt1* общий эффект группы был значимым ($F=3,69$; $p=0,029$): минимальный уровень зарегистрирован в группе K^+ (-2,33), максимальный – в группе МГ-1 (2,15). Аналогично, для *Hmox1* также установлены межгрупповые различия ($F=3,24$; $p=0,044$), при этом минимальное значение наблюдалось в группе K^+ (-0,51), максимальное – в группе МГ-1 (2,48). Полученные данные указывают на наиболее выраженные сдвиги в группе МГ-1 по генам, связанным с антиоксидантной защитой.

Для остальных исследованных генов статистически значимого межгруппового эффекта не установлено: *Casp7* ($F=0,9$; $p=0,459$), *Ripk1* ($F=0,77$; $p=0,523$), *Chek1* ($F=1,6$; $p=0,222$), *Nqo1* ($F=2,62$; $p=0,079$) и *Nfe2l2* ($F=0,98$; $p=0,422$). Вместе с тем для ряда показателей прослеживались направленные изменения. Так, минимальный уровень *Casp7* отмечался в группе МГ-10 (-0,67), максимальный – в группе МГ-1 (3,14); для *Ripk1* минимальное значение зарегистрировано в группе K^- (-0,2), максимальное – в группе K^+ (2,63); для *Chek1* – соответственно в группе K^- (0,53) и K^+ (4,99). Экспрессия *Nqo1* не достигала уровня статистической значимости, однако максимальное значение наблюдалось в группе МГ-2 (5,39) при минимальном уровне в группе МГ-10 (-0,82). Для *Nfe2l2* минимальная экспрессия отмечалась в группе K^- (-0,03), максимальная – в группе K^+ (0,64).

Наиболее отчетливые изменения в данной серии касались повышения экспрессии *Gstt1* и *Hmox1* в группе МГ-1, тогда как для МГ-2 была характерна тенденция к увеличению *Nqo1*. Полученные данные указывают на модуляцию генов, связанных с антиоксидантной защитой и клеточным стрессом, при наиболее выраженных сдвигах в группах коррекции МГ-1 и МГ-2.

Результаты гистологического анализа печени и почек крыс через 90 суток воздействия акриламида и коррекции препаратами МГ-1, МГ-2 и МГ-10 приведены в Таблицах 4.3.5 (печень) и 4.3.6 (почки).

Таблица 4.3.5 – Полуколичественная характеристика и морфологические изменения печени у крыс через 90 суток воздействия акриламида и корректирующих препаратов

Срок	Отрицательный контроль	Положительный контроль (акриламид)	МГ-1 + акриламид	МГ-2 + акриламид	МГ-10 + акриламид
Нарушения гемодинамики*	+	++	++	+	+
Воспалительная клеточная инфильтрация	–	–	–	–	–
Дистрофия и некроз гепатоцитов	–	–	–	–	–
90 суток печень	Слабое кровенаполнение, незначительное расширение синусоидов, редкие митозы, единичный аутолиз; без воспаления и некроза.	Варьирующее кровенаполнение центральных вен, слабое расширение синусоидов, редкие митозы; без воспаления, некроза и кровоизлияний.	Варьирующее кровенаполнение центральных вен, слабое расширение синусоидов, редкие митозы, единичный аутолиз; без деструктивных и воспалительных изменений.	Преимущественно слабое кровенаполнение центральных вен, слабое расширение синусоидов, редкие митозы; без некроза, воспаления и жировой дистрофии.	Варьирующее кровенаполнение центральных и портальных сосудов, слабое расширение синусоидов, редкие митозы; без воспалительных, дистрофических и некротических изменений.

* Используемая шкала, «–» – признак отсутствует (соответствует физиологической норме), «+» – слабо выраженные / единичные или очаговые (в т.ч. адаптивные) изменения, «++» – умеренно выраженные изменения, «+++» – сильно выраженные / тяжелые деструктивные поражения.

Таблица 4.3.6 – Полуколичественная характеристика и морфологические изменения почек у крыс через 90 суток воздействия акриламида и корректирующих препаратов

Срок	Отрицательный контроль	Положительный контроль (акриламид)	МГ-1 + акриламид	МГ-2 + акриламид	МГ-10 + акриламид
Нарушения микроциркуляции	—	—	—	—	—
Утолщение стенок сосудов	—	—	+	+	+
Интерстициальный отек	—	—	—	—	—
Поражение клубочков	—	—	—	—	—
Дистрофия и некроз канальцев	—	—	—	—	—
90 суток почки	Норма, умеренное кровенаполнение, без патологических изменений.	Без существенных изменений, умеренное кровенаполнение, сосуды, клубочки и канальцы сохранены.	Почка сохранна, умеренное/местами сильное кровенаполнение, незначительное утолщение сосудистых стенок, единичное расширение капсулы клубочка, артефакты.	Почка сохранна, умеренное кровенаполнение, незначительное утолщение сосудистых стенок, единичный эозинофильный материал и артефакты в канальцах.	Почка сохранна, умеренное кровенаполнение, минимальные компенсаторные сосудистые изменения, без воспаления и некроза.

* Используемая шкала, «—» — признак отсутствует (соответствует физиологической норме), «+» — слабо выраженные / единичные или очаговые (в т.ч. адаптивные) изменения, «++» — умеренно выраженные изменения, «+++» — сильно выраженные / тяжелые деструктивные поражения.

Морфологическая картина печени и почек в интактной группе (К-) оставалась стабильной на протяжении всего этапа эксперимента и соответствовала физиологической норме.

Через 90 дней введения акриламида в печени грубых нарушений архитектоники не выявлено. В группе К+ изменения ограничивались переменным кровенаполнением центральных вен и слабым расширением синусоидов при отсутствии эритростаза, тромбозов, воспалительной инфильтрации, кровоизлияний и некротических изменений (Рисунок 4.3.27). Портальные тракты и желчные протоки сохраняли обычное строение, признаков фиброзирования и деструкции не отмечено. Морфологическая картина печени при хроническом воздействии акриламида характеризовалась минимальными сосудистыми реакциями без выраженного паренхиматозного повреждения.

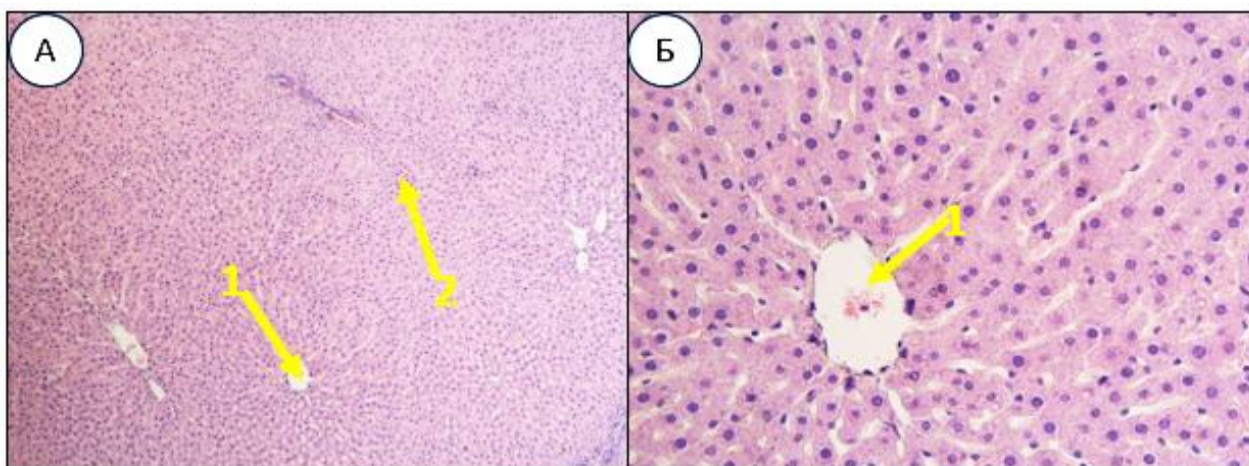


Рисунок 4.3.27 – Паренхима печени крыс через 90 дней введения акриламида. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – триада (междольковая артерия, междольковый (желчный) проточек, междольковая вена)

В почках через 90 дней введения акриламида выраженной морфологической патологии также не отмечено. В группе К+ сохранялись архитектоника коркового и мозгового вещества, структура сосудистого русла, клубочкового аппарата и канальцевой системы. Умеренное кровенаполнение не сопровождалось эритростазом, тромбозами, внутрисосудистым лейкоцитозом, интерстициальным отеком, воспалительной инфильтрацией,

нефросклерозом, некронефрозом или канальцевой атрофией (Рисунок 4.3.28). Просветы канальцев оставались свободными от цилиндров, кальцинатов и иных патологических включений.

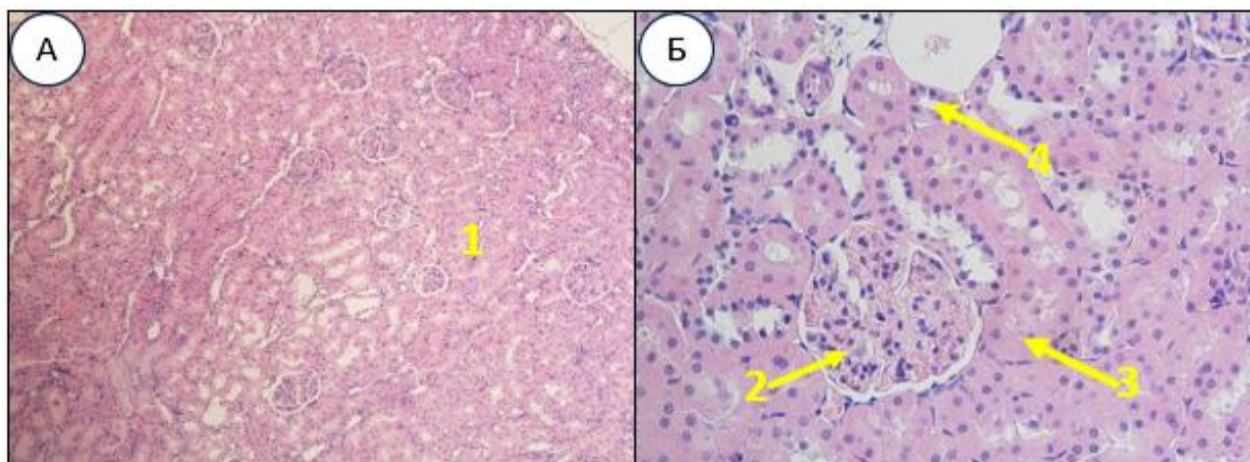


Рисунок 4.3.28 – Почки крыс через 90 дней введения акриламида. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

На фоне предварительной коррекции МГ-1, МГ-2 и МГ-10 структура печени также оставалась сохранной (Рисунок 4.3.29, Рисунок 4.3.31, Рисунок 4.3.33). Во всех группах коррекции отсутствовали некрозы, воспалительные инфильтраты, кровоизлияния, жировая дистрофия и иные признаки выраженного повреждения паренхимы. Морфологические особенности ограничивались слабым или переменным кровенаполнением центральных вен и умеренными колебаниями кровенаполнения портальных сосудов, синусоиды были слабо расширены. В группе МГ-1 дополнительно описан единичный участок аутолиза, не имеющий признаков специфического патологического процесса. Существенных различий между корректорами по выраженности гистопротекторного эффекта в печени не установлено.

Применение корректирующих комплексов не сопровождалось появлением дополнительной выраженной патологии в почечной ткани (Рисунок 4.3.30, Рисунок 4.3.32, Рисунок 4.3.34). Во всех группах коррекции сохранялись клубочки и канальцы без признаков некроза, воспаления, нефрокальциноза и атрофии. Вместе с тем в группах МГ-2 и МГ-10 отмечались

отдельные сосудистые изменения в виде утолщения стенок артерий и артериол, обусловленного склерозом, гиалинозом и плазматическим пропитыванием, не сопровождавшиеся васкулитом, некрозом сосудистой стенки или нарушением общей архитектоники органа. В группе МГ-1 подобные изменения были минимальны. Дополнительно описаны единичные особенности, расцененные как артефакты. Морфологическая картина почек в группах коррекции была близкой к норме, а различия между препаратами носили ограниченный характер.

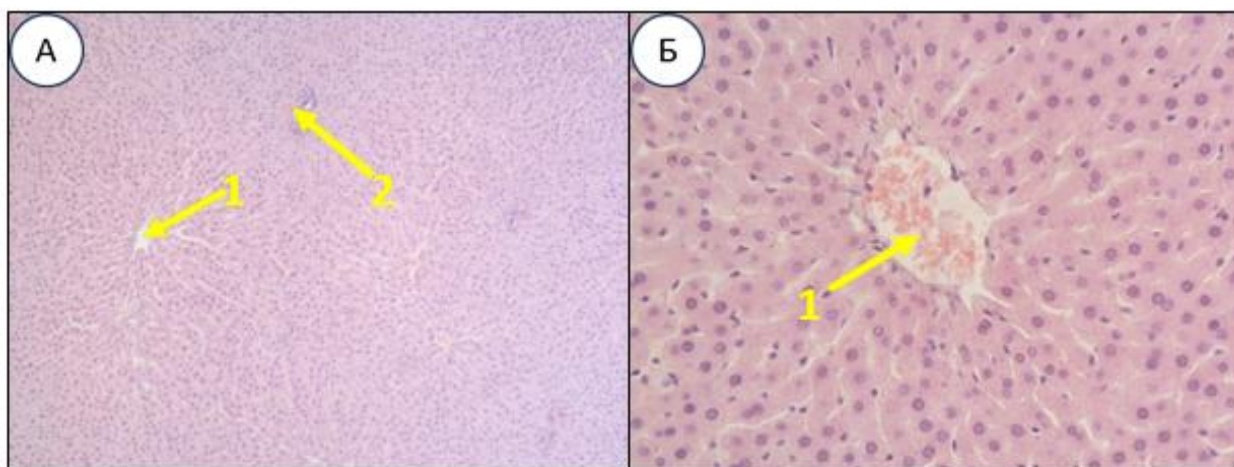


Рисунок 4.3.29 – Паренхима печени крыс через 90 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-1. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – триада (междольковая артерия, междольковый (желчный) проточек, междольковая вена)

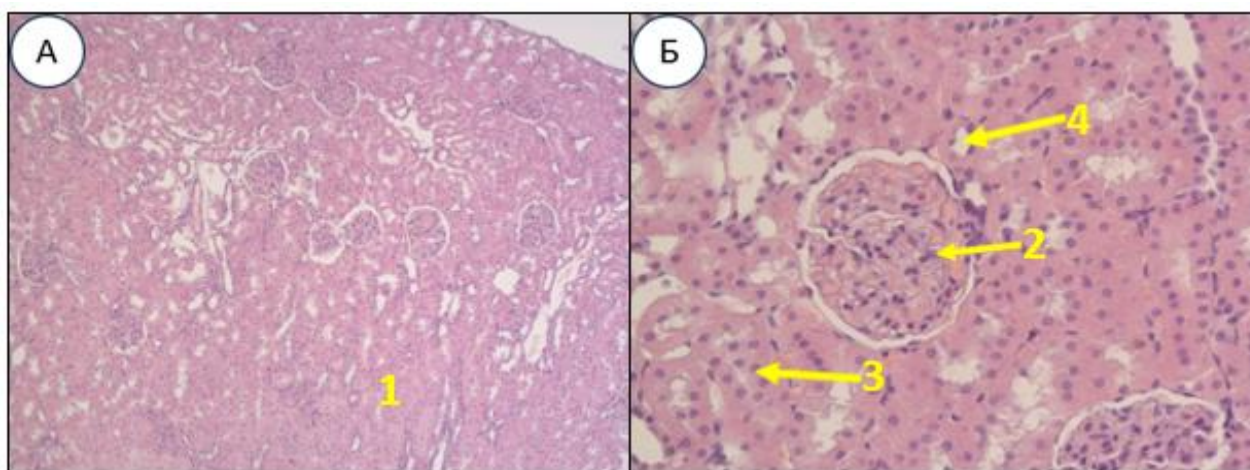


Рисунок 4.3.30 – Почки крыс через 90 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-1. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 –

сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

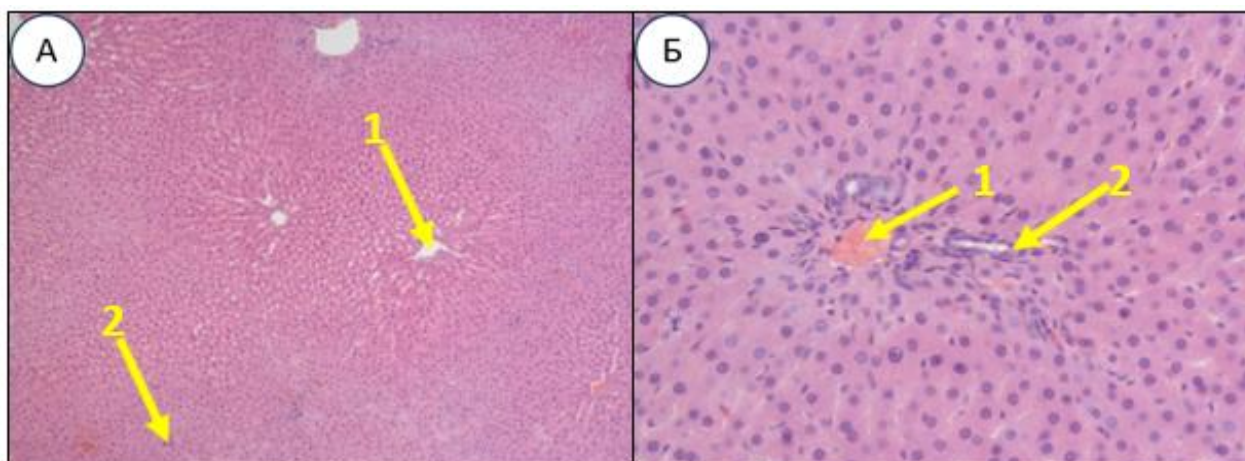


Рисунок 4.3.31 – Паренхима печени крыс через 90 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-2. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – триада (междольковая артерия, междольковый (желчный) проточек, междольковая вена)

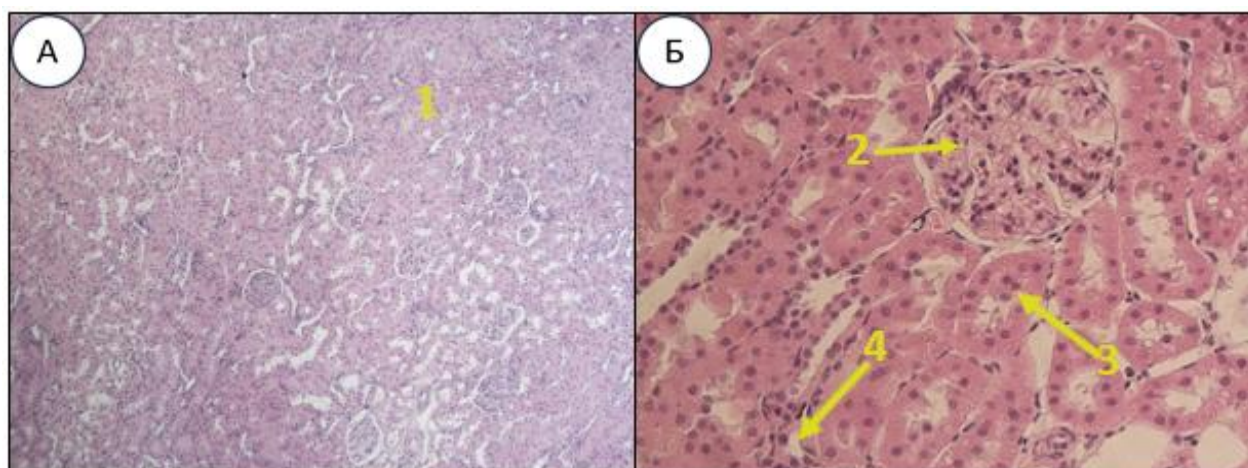


Рисунок 4.3.32 – Почки крыс через 90 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-2. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

При 90-дневном воздействии акриламида в печени и почках не формировалось выраженного морфологического повреждения. Изменения ограничивались преимущественно умеренными сосудистыми реакциями. Применение МГ-1, МГ-2 и МГ-10 сопровождалось сохранением архитектоники органов и отсутствием воспалительно-деструктивных и

некротических изменений. В почках на фоне МГ-2 и МГ-10 отмечались отдельные сосудистые изменения компенсаторного характера, не нарушавшие общей структуры ткани.

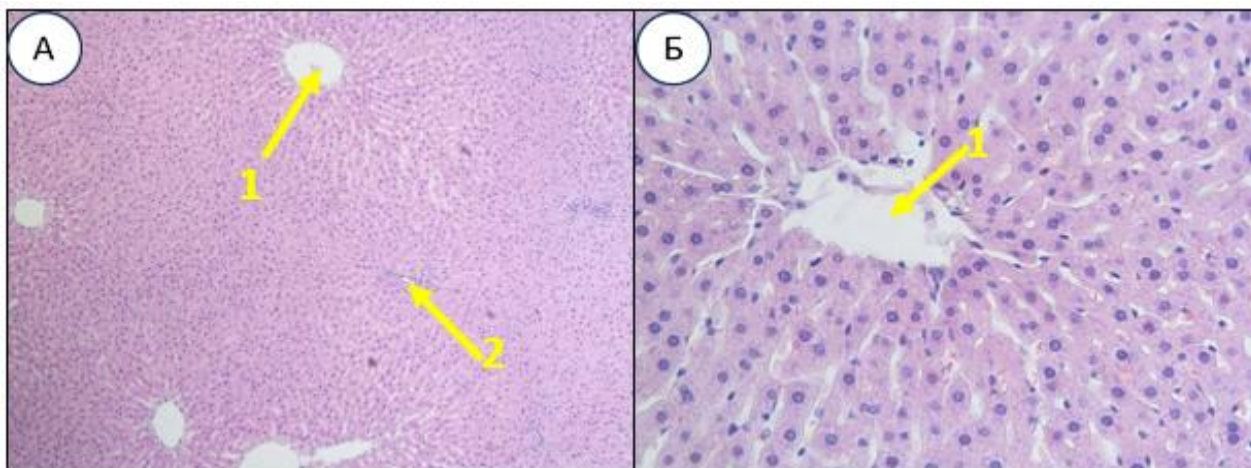


Рисунок 4.3.33 – Паренхима печени крыс через 90 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-10. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – центральная вена, 2 – триада (междольковая артерия, междольковый (желчный) проточек, междольковая вена)

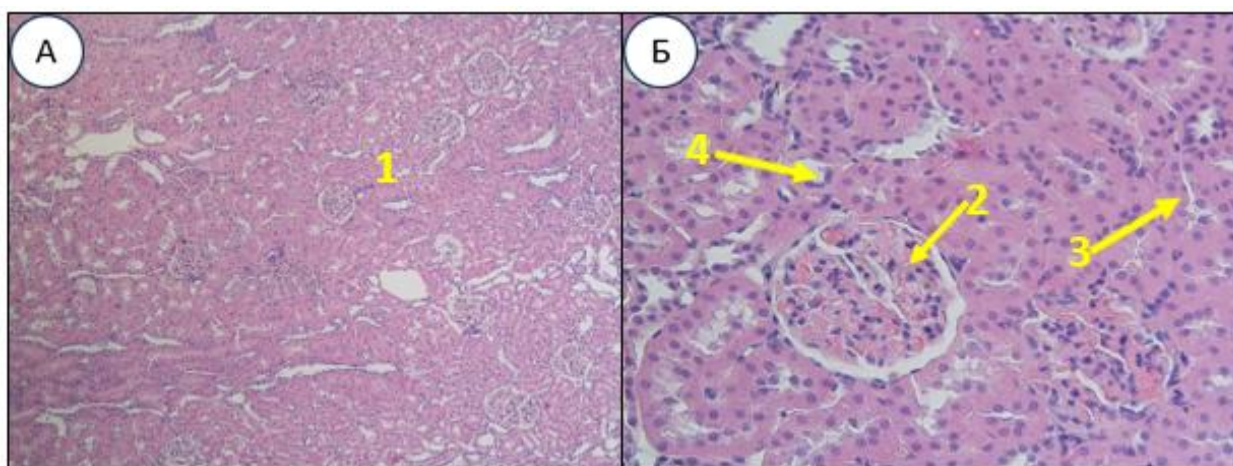


Рисунок 4.3.34 – Почки крыс через 90 дней введения акриламида с предварительным введением раствора МГ-10. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: об. 10, ок. 10 (А); об. 40, ок. 10 (Б). 1 – корковое вещество, 2 – сосудистый клубочек, 3 – проксимальный отдел нефрона, 4 – дистальный отдел нефрона

По результатам исследования установлено, что к 90-м суткам хронического воздействия акриламида у крыс выраженная генерализованная токсическая картина не формируется, однако сохраняются отдельные сдвиги, отражающие продолжающееся функционально-метаболическое и

молекулярное неблагополучие. Поведенческие показатели и масса тела оставались сопоставимыми между группами, что может свидетельствовать о развитии частичной адаптации организма к длительному воздействию токсиканта. Наиболее отчетливые изменения касались гематологических и биохимических параметров, включая тромбоциты, лимфоциты и активность АЛТ. На молекулярном уровне статистически значимые сдвиги установлены для экспрессии *Ripk1* в печени, а также *Gstt1* и *Hmox1* в почках, что указывает на сохранение вовлеченности механизмов клеточного стресса, антиоксидантной защиты и детоксикации в условиях длительной интоксикации. Морфологически печень и почки сохраняли общую архитектуру, а выявленные изменения ограничивались преимущественно умеренными сосудистыми реакциями без признаков выраженного воспалительно-деструктивного и некротического повреждения. На заключительном этапе хронической акриламидной интоксикации преобладают умеренные функциональные и молекулярные нарушения при минимальной морфологической выраженности процесса, тогда как применение корректирующих препаратов способно лишь частично модифицировать выявленные изменения.

Проведенное исследование показало, что токсическое действие акриламида носит стадийный и многоуровневый характер и изменяется в зависимости от длительности воздействия. На разных этапах интоксикации в патологический процесс вовлекаются клеточные, биохимические, гематологические, молекулярно-генетические и морфологические механизмы, однако выраженность этих изменений неодинакова. Акриламид вызывал нарушения, связанные с окислительным стрессом, перестройкой систем детоксикации, регуляцией клеточного повреждения и развитием функционально-метаболических сдвигов в печени, почках и других системах организма.

В клеточных моделях установлено, что акриламид вызывает ранние редокс-сдвиги и дозо- и времязависимое повреждение ДНК. По данным

системы IAR-2-HuPer показано участие перекисных механизмов в раннем токсическом ответе, а методом ДНК-комет на клетках МН-22а подтверждено нарастание генотоксического эффекта по мере увеличения концентрации и времени экспозиции. Среди исследованных соединений лишь МГ-10 проявлял способность к частичному снижению выраженности ДНК-повреждений, причем только в ограниченном диапазоне концентраций.

При однократном воздействии акриламида уже через 24 часа формировались ранние токсические изменения, преимущественно затрагивающие печень и почки. Они проявлялись изменениями АСТ, альбумина, мочевины и триглицеридов, а также перестройкой экспрессии генов *Casp7*, *Ripk1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstt1*, *Gstp1* и *Nfe2l2* в печени и *Gstm1*, *Gstp1* в почках. На этом этапе наиболее благоприятный совокупный эффект отмечался у МГ-10, что проявлялось более благоприятным биохимическим и экспрессионным профилем.

При подостром 28-дневном воздействии акриламида патологический процесс приобретал более системный характер. Наиболее выраженными были нейротоксические и гематотоксические проявления, включая снижение вертикальной двигательной активности, норкового рефлекса, уровня эритроцитов и гемоглобина. Среди биохимических показателей наибольшее значение имели изменения АСТ и мочевины. На молекулярном уровне в печени наиболее заметные сдвиги касались *Chek1*, *Sod1*, *Gstm1*, *Gstt1*, *Gstp1*, *Hmox1* и *Nqo1*, а в почках – *Casp7*, *Ripk1*, *Chek1*, *Hmox1* и *Nqo1*. При этом морфологически в печени сохранялись преимущественно умеренные реактивные изменения, тогда как в почках убедительного нефропротекторного эффекта корректоров не установлено.

На 45-е сутки хронического воздействия выраженная генерализованная токсическая картина не формировалась, однако сохранялись отдельные признаки системного неблагополучия. Поведенческие показатели и масса тела оставались стабильными, что позволяет рассматривать этот срок как этап относительной адаптации. Вместе с тем сохранялись изменения эритроцитов,

тромбоцитов, гематокрита и уровня пероксидов. В печени наиболее отчетливые молекулярные изменения касались *Gstp1*, тогда как в почках достоверных изменений экспрессии исследованных генов не выявлено. Морфологически в печени отмечались лишь умеренные сосудистые реакции, а в почках существенная патология отсутствовала.

К 90-м суткам хронического воздействия акриламида выраженного прогрессирования морфологического повреждения также не наблюдалось, однако сохранялись отдельные функционально-метаболические и молекулярные сдвиги. Наиболее заметные изменения касались тромбоцитов, лимфоцитов и активности АЛТ. На молекулярном уровне наиболее значимые сдвиги выявлены в экспрессии *Ripk1* в печени, а также *Gstt1* и *Hmox1* в почках. Таким образом, на заключительном этапе хронической интоксикации преобладают умеренные, но стойкие функциональные и молекулярные нарушения при минимальной морфологической выраженности процесса.

Фармакологическая коррекция оказывала неоднозначный эффект и зависела от длительности воздействия и уровня анализа. В большинстве серий наиболее благоприятный совокупный эффект отмечался у МГ-10, однако его действие не было универсальным. Эффекты МГ-1 и МГ-2 также носили ограниченный и непостоянный характер. Полученные результаты показывают, что акриламид вызывает стадийно изменяющийся токсический процесс: от ранних редокс- и генотоксических нарушений к подострым системным сдвигам и далее к хронической фазе относительной адаптации, при которой сохраняются отдельные признаки клеточного стресса, нарушения детоксикации и неполного восстановления тканевого гомеостаза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современной токсикологии, фармакологии и медицине труда все большее значение приобретает изучение химических агентов, реализующих повреждающее действие не через одно изолированное звено, а через совокупность взаимосвязанных молекулярных, клеточных и органных механизмов. В отличие от веществ с относительно узкой специфичностью действия, такие ксенобиотики вызывают многокомпонентный токсический ответ, затрагивающий системы антиоксидантной защиты, детоксикации, энергетического обмена, регуляции клеточного цикла и клеточной гибели. К числу подобных соединений относится акриламид, представляющий собой одновременно химический фактор производственной среды и широко распространенный пищевой контаминант. Патогенез акриламидной интоксикации включает несколько ключевых звеньев: индукцию оксидативного стресса и истощение глутатионового пула, образование реактивного метаболита глицидамида с последующим повреждением ДНК, нарушение митохондриальной биоэнергетики и формирование полиорганных нарушений, в наибольшей степени затрагивающих печень и почки. В связи с этим акриламид следует рассматривать как адекватную экспериментальную модель для оценки эффективности средств профилактики, способных модифицировать не отдельные проявления токсического процесса, а затрагивающие его системный и многоуровневый характер, включающий молекулярные, клеточные, метаболические и органные звенья повреждения.

Выполненное исследование позволило решить актуальную научно-практическую задачу, связанную с экспериментальной оценкой токсического действия акриламида в условиях моделей *in vitro* и *in vivo*, а также с обоснованием эффективности профилактической коррекции вновь синтезированными комплексными соединениями оксиметилурацила – МГ-1, МГ-2 и МГ-10 – при острой, подострой и хронической интоксикации. Полученные результаты показали, что акриламид вызывает сочетанные

цитотоксические, генотоксические, оксидативные, метаболические и молекулярные нарушения, выраженность которых определяется не только дозой, но и длительностью воздействия. При этом профилактический потенциал исследуемых соединений реализуется преимущественно в условиях целостного организма.

На первом этапе исследования в условиях *in vitro* была проведена оценка цитотоксического действия акриламида на клеточную культуру МН-22а. В ходе проведения МТТ-теста была рассчитана полуингибирующая концентрация токсиканта. Вычисленное на основе логистической кривой значение IC_{50} составило около 0,89 моль/л. Построенная кривая отразила типичную реакцию клеточной системы на воздействие ксенобиотика. При воздействии сверхнизких доз 0,01–0,00001 моль/л эффект на клетки был минимальным, однако после прохождения точки перегиба наблюдалось резкое снижение жизнеспособности. Тенденция к уменьшению жизнеспособности клеток отмечалась уже при концентрации 0,001 моль/л, где данный показатель составлял $109,70 \pm 1,60\%$. Дальнейшее увеличение дозы сопровождалось выраженным угнетением клеточной популяции. При концентрации 1 моль/л жизнеспособность снижалась до $5,87 \pm 0,17\%$ ($p=0,001$), а при экстремальной концентрации 10 моль/л показатель приобретал отрицательные значения ($-1,30 \pm 0,07$; $p=0,001$), что указывает на глубокое нарушение целостности клеточных мембран и ферментативных систем монослоя. Таким образом, уже в условиях клеточной модели было подтверждено выраженное дозозависимое цитотоксическое действие акриламида, характеризующееся переходом от относительной устойчивости клеточной популяции к быстрому истощению ее компенсаторных возможностей.

Существенное значение для понимания ранних механизмов клеточного повреждения имели результаты, полученные *in vitro* на модели IAR-2-HyPer, позволившей оценить динамику внутриклеточного перекисного ответа при воздействии акриламида. Установлено, что акриламид вызывал выраженные,

но нелинейные изменения: при концентрациях 0,125 и 0,25 М регистрировался транзиторный рост НуРег-сигнала, тогда как при 0,5 М формировалась укороченная кривая ответа с быстрым снижением сигнала. Это позволяет предполагать, что при умеренной токсической нагрузке сохраняется активная генерация перекиси водорода, тогда как при более высоком уровне воздействия рано развиваются метаболические нарушения, ограничивающие поддержание перекисного сигнала. Добавление оксиметилурацила не сопровождалось прямым подавлением оксидативного ответа, однако изменяло его амплитудно-временные характеристики, что указывает на контекст-зависимый характер его действия в отношении ранних редокс-нарушений.

Дальнейшее изучение механизмов клеточного повреждения потребовало последующей оценки генотоксичности акриламида методом щелочного гель-электрофореза изолированных клеток («ДНК-кометы»). Полученные результаты подтвердили выраженный кластогенный эффект токсиканта, носивший дозо- и времязависимый характер. Уже через 4 часа экспозиции акриламидом в концентрации 10 мМ процент ДНК в хвосте кометы возрастал до $16,22 \pm 0,42\%$ при $9,07 \pm 0,20\%$ в интактном контроле. Через 24 часа инкубации даже при десятикратном снижении концентрации, до 1 мМ, данный показатель достигал $15,27 \pm 0,44\%$ при $7,25 \pm 0,35\%$ в контрольной группе, что указывает на накопление повреждений ДНК, превышающее репаративные возможности клетки. Наиболее значимые данные были получены при длительной 72-часовой экспозиции. Воздействие микродозы акриламида 0,1 мМ сопровождалось увеличением процента ДНК в хвосте кометы до $34,19 \pm 0,89\%$ при $23,78 \pm 0,65\%$ в контроле ($p=0,001$). Это свидетельствует о том, что длительное воздействие даже низких концентраций токсиканта способно приводить к накоплению выраженных повреждений генетического аппарата, вероятно, за счет персистирующего оксидативного стресса и истощения клеточных систем защиты. Данный результат имеет принципиальное значение, поскольку указывает на значимость хронического

малодозового контакта с акриламидом как фактора формирования стойких молекулярных нарушений.

Итогом серии экспериментов *in vitro* стало установление неоднозначного характера действия изученных комплексных соединений оксиметилурацила в изолированной клеточной системе. По данным *HyPer*-анализа оксиметилурацил не вызывал прямого подавления раннего перекисного ответа, однако достоверно модифицировал его кинетику в сторону частичной нормализации, что позволяет предполагать наличие у него умеренного антиоксидантного эффекта, реализующегося через изменение амплитудно-временных характеристик оксидативного сигнала. Для препаратов МГ-1 и МГ-2 прямого защитного эффекта в отношении акриламид-индуцированных повреждений ДНК выявлено не было. Напротив, их добавление сопровождалось увеличением показателя момента хвоста, особенно в диапазоне более высоких концентраций. В группе положительного контроля среднее значение момента хвоста составляло 2,736, тогда как при добавлении МГ-1 в дозе 1040 мМ оно возрастало до 10,004, а при добавлении МГ-2 в дозе 284 мМ – до 8,541. Для МГ-10 общий характер ответа также оставался нелинейным и дозозависимым: при низких и умеренных концентрациях препарата (1400–2810 мкМ) отмечалось статистически значимое снижение уровня повреждений ДНК по сравнению с положительным контролем, что указывает на наличие узкого диапазона концентраций с умеренным антигенотоксическим эффектом. Вместе с тем при дальнейшем повышении концентрации МГ-10 до 5620 и 11240 мкМ наблюдалось увеличение показателя момента хвоста, а при максимальной дозе среднее значение достигало 8,873, что свидетельствует об утрате защитного действия и возможном усилении повреждений ДНК. Полученные данные не позволяют рассматривать исследуемые соединения как простые прямые антиоксиданты с универсальным защитным эффектом в клеточной системе. По-видимому, их действие определяется как природой лиганда, так и диапазоном концентраций, тогда как полноценная реализация протективного

потенциала в большей степени проявляется в условиях целостного организма, где включаются метаболические, антиоксидантные, детоксикационные и регуляторные механизмы более высокого уровня организации.

Оценка токсикодинамики акриламида *in vivo* и эффективности средств профилактической коррекции проводилась на моделях острой (24 часа, 150 мг/кг), подострой (28 суток, 20 мг/кг) и хронической (45 и 90 суток) интоксикации с анализом лабораторных показателей, морфофункциональных критериев и профиля экспрессии генов. Такой дизайн позволил проследить как ранние проявления токсического ответа, так и особенности его трансформации при длительном воздействии, а также оценить устойчивость профилактического эффекта исследуемых соединений на разных этапах патологического процесса.

При острой интоксикации через 24 часа у лабораторных животных формировался выраженный синдром токсического поражения печени и почек. В группе положительного контроля (к⁺) уровень АСТ повышался до $287,66 \pm 19,78$ Ед/л против 219,23 Ед/л в интактной группе (к⁻) ($p=0,036$), что отражало развитие цитолитического синдрома. Одновременно снижалась белок-синтетическая функция печени, концентрация альбумина уменьшалась до 33,42–35,08 г/л по сравнению с 43,37 г/л в интактном контроле ($p=0,004$). На этом фоне профилактическое применение комплексных соединений сопровождалось отчетливым протективным эффектом. Препарат МГ-10 достоверно снижал активность АСТ до $211,07 \pm 12,57$ Ед/л ($p=0,015$), что указывает на выраженное ослабление цитолиза. Кроме того, на фоне его применения отмечалось снижение уровня мочевины до $4,48 \pm 0,64$ ммоль/л по сравнению с 6,97 ммоль/л в контроле ($p=0,038$), что свидетельствует о благоприятном влиянии на азотистый обмен и функциональное состояние почек. МГ-2 также способствовал снижению АСТ до $219,46 \pm 15,25$ Ед/л ($p=0,036$), тогда как МГ-1 оказался наиболее эффективным в восстановлении белок-синтетической функции печени, повышая уровень альбумина до $42,63 \pm 1,56$ г/л ($p=0,008$). Уже в острой модели было показано, что

исследуемые соединения обладают различающимся по преимущественным мишеням действием: МГ-10 в большей степени ограничивал цитолитическое и нефротоксическое звенья, МГ-2 оказывал выраженное влияние на снижение острого токсического повреждения, а МГ-1 наиболее отчетливо поддерживал синтетическую функцию гепатоцитов. Молекулярно-генетический анализ ткани печени при острой интоксикации выявил выраженный дисбаланс экспрессии генов, участвующих в процессах детоксикации, антиоксидантной защиты и регуляции клеточной гибели ($F=3,43-18,74$; $p=0,037-0,001$). Акриламид сопровождался снижением экспрессии гена *Gstt1*, связанного со II фазой детоксикации, с 0,39 до -2,05 ($p=0,001$), а также гена *Casp7* – с 0,26 до -1,62 ($p=0,001$). Наиболее благоприятные изменения в печени отмечались в группе МГ-10: экспрессия *Gstt1* сохранялась на уровне -0,93, а экспрессия *Gstp1* возрастала до $2,89 \pm 0,53$ при -0,36 в интактном контроле и 1,73 в положительном контроле ($p=0,001$). В почечной ткани наиболее выраженный адаптивный ответ наблюдался в группе МГ-2, где экспрессия *Gstm1* достигала $4,79 \pm 0,28$ ($p=0,001$). Эти результаты указывают на то, что профилактическое действие соединений уже в ранние сроки интоксикации реализуется не только на уровне биохимических маркеров, но и через перестройку молекулярных систем клеточной защиты.

На этапе подострой интоксикации (28 суток) ведущими проявлениями токсического процесса становились нейротоксические нарушения и изменения со стороны системы крови. Поведенческий дефицит характеризовался выраженным снижением вертикальной двигательной активности до $0,17 \pm 0,17$ при 2,50 в интактной группе ($p=0,001$), а также уменьшением норкового рефлекса до $1,83 \pm 0,54$ при 5,33 в контроле ($p=0,014$). Это указывает на развитие акриламид-индуцированного поражения центральной нервной системы, сопровождающегося угнетением двигательной и ориентировочно-исследовательской активности. Одновременно в системе крови отмечалось снижение количества эритроцитов до $6,50 \times 10^{12}/л$ ($p=0,017$) и уровня гемоглобина до 130,33 г/л ($p=0,022$), что свидетельствует о

вовлечении эритроцитарного звена в токсический процесс и формировании признаков гемической гипоксии. Подострая интоксикация акриламидом характеризовалась системным характером нарушений и выходом токсического процесса за пределы преимущественно гепаторенального повреждения. Оценка действия корректоров в подострой серии позволила выявить ряд существенных особенностей. В частности, применение МГ-1 сопровождалось увеличением эмоциональной реактивности до $2,33 \pm 0,33$ болюсов по сравнению с $0,33$ в группе интоксикации и $0,00$ в интактном контроле ($p < 0,001$), что может указывать на выраженное модулирующее влияние препарата на центральные регуляторные механизмы в условиях акриламидного нейротоксикоза. Данный результат требует осторожной интерпретации, поскольку подобная активация не может рассматриваться как однозначно благоприятный эффект. Вместе с тем молекулярно-генетический анализ на данном сроке показал активацию адаптационных программ в печени и почках. В печени на фоне введения МГ-10 отмечалось повышение экспрессии *Chek1* до $3,18 \pm 1,50$ при $0,04$ в интактной группе ($p = 0,043$), а также увеличение экспрессии *Gstp1* до $3,62 \pm 1,03$, что указывает на вовлечение механизмов контроля клеточного цикла и детоксикационной защиты. МГ-2 сопровождался выраженным повышением экспрессии *Nqo1* до $3,42 \pm 0,55$ ($p = 0,014$), отражая активацию антиоксидантного звена и ферментов II фазы детоксикации. В почках адаптационный ответ реализовывался преимущественно за счет повышения *Ripk1* в группе МГ-2 до $3,77 \pm 0,12$ и *Ntox1* в группе МГ-10 до $2,63 \pm 0,56$. В подостром периоде защитный эффект исследуемых соединений проявлялся прежде всего через перестройку молекулярных систем адаптации и повышение устойчивости тканей к продолжающемуся токсическому воздействию.

При моделировании хронической интоксикации в течение 90 суток дополнительно на 45-е сутки проводилась промежуточная оценка состояния животных, позволявшая проследить динамику формирования токсического процесса и ранние проявления профилактического действия исследуемых

соединений. Уже к 45-м суткам было установлено достоверное однонаправленное снижение коэффициента массы печени во всех группах коррекции: МГ-1 – 27,13%, МГ-2 – 27,45%, МГ-10 – 27,39% против 30,63% в интактном контроле ($F=8,26$; $p=0,001$). С учетом характера модели данный факт может рассматриваться как морфофункциональное отражение уменьшения выраженности неблагоприятных изменений со стороны печени. На этом же сроке МГ-2 демонстрировал наиболее выраженный антиоксидантный эффект, снижая уровень пероксидов крови до $4,39 \pm 0,87$ мкмоль/л при $20,42$ мкмоль/л в контроле ($p=0,023$). МГ-1 ограничивал рост тромбоцитов, уровень которых в группе интоксикации достигал $371,60 \times 10^9$ /л, тогда как на фоне его применения составлял $260,67 \times 10^9$ /л ($p=0,034$). МГ-10 обеспечивал минимальные значения АЛТ – $40,94 \pm 2,09$ Ед/л. Эти данные свидетельствуют о том, что уже на промежуточном этапе хронической экспозиции формируется устойчивый корригирующий эффект исследуемых соединений, затрагивающий как показатели оксидативного стресса, так и отдельные биохимические и гематологические параметры.

К 90-м суткам хронического эксперимента различия между соединениями приобретали еще более отчетливый характер. В группе положительного контроля уровень АЛТ повышался до $60,34$ Ед/л, тогда как на фоне применения МГ-10 снижался до $37,92 \pm 3,41$ Ед/л ($p=0,009$), а при использовании МГ-2 – до $38,94 \pm 5,72$ Ед/л ($p=0,014$). Оба соединения продемонстрировали выраженный гепатопротективный эффект в условиях длительного воздействия акриламида. МГ-2 также способствовал нормализации уровня щелочной фосфатазы до $129,38 \pm 8,85$ Ед/л при $182,54$ Ед/л в группе интоксикации ($p=0,031$) и снижению уровня тромбоцитов до $234,83 \times 10^9$ /л. В свою очередь, МГ-10 обеспечивал наиболее высокий уровень гематокрита – $52,08 \pm 1,80\%$ при $46,58\%$ в положительном контроле ($p=0,032$), что может рассматриваться как благоприятный эффект со стороны кислородтранспортного звена. На финальном этапе хронической интоксикации профилактическое действие исследуемых соединений

проявлялось как в ограничении хронического цитолиза, так и в уменьшении выраженности сопутствующих метаболических и гематологических нарушений.

В печени на фоне применения МГ-10 отмечалось достоверное повышение экспрессии *Nfe2l2* до $1,24 \pm 0,18$ при $0,08$ в интактном контроле и $0,54$ в группе интоксикации ($p=0,026$). Учитывая центральную роль данного транскрипционного фактора в регуляции антиоксидантного ответа, данный результат свидетельствует о способности МГ-10 активировать один из ключевых механизмов клеточной защиты при хроническом токсическом воздействии. В печени МГ-1 сопровождался повышением экспрессии *Ripk1* до $1,03 \pm 0,29$ при $-0,36$ в положительном контроле ($p=0,027$). В ткани почек именно МГ-1 обеспечивал наиболее выраженные положительные сдвиги: экспрессия *Gstt1* возрастала до $2,15 \pm 0,55$ при $-2,33$ в группе интоксикации ($p=0,029$), а *Hmox1* – до $2,48 \pm 0,90$ при $-0,51$ в положительном контроле ($p=0,044$). Полученные данные подтверждают, что длительная профилактическая коррекция сопровождается не только улучшением лабораторных показателей, но и глубокой перестройкой молекулярных систем антиоксидантной и детоксикационной защиты.

Сопоставление результатов всех этапов эксперимента позволяет дать сравнительную характеристику каждому из изученных соединений. Комплекс МГ-10, представляющий собой соединение оксиметилурацила с ацетилцистеином, продемонстрировал наиболее выраженный и сбалансированный профилактический эффект при различных режимах интоксикации. При этом в серии *in vitro* для него, в отличие от МГ-1 и МГ-2, был выявлен узкий диапазон концентраций, в котором наблюдалось умеренное снижение акриламид-индуцированных повреждений ДНК. Для него были характерны снижение активности АСТ в острой серии, нормализация показателей азотистого обмена, уменьшение активности АЛТ при хроническом воздействии, повышение гематокрита, а также наиболее благоприятная модуляция экспрессии ряда ключевых генов, включая *Nfe2l2*,

Chek1 и *Gstp1*. Комплекс МГ-2, содержащий сукцинат натрия, проявил выраженные антиоксидантные и метаболические свойства, что отражалось в снижении уровня пероксидов, нормализации ЩФ, уменьшении тромбоцитоза, а также в активации *Gstm1* и *Nqo1*. Комплекс МГ-1, включающий аскорбиновую кислоту, показал наиболее отчетливый эффект в отношении восстановления белок-синтетической функции печени на ранних этапах интоксикации и активации почечных цитопротективных генов при хроническом воздействии, однако сопровождался повышением эмоциональной реактивности в подострой серии, что требует более дифференцированной оценки его функционального профиля.

Поставленная цель исследования достигнута, а сформулированные задачи решены в полном объеме. Экспериментально доказано, что акриламид является токсикантом с плеiotропным характером действия, вызывающим сочетанные цитотоксические, генотоксические, оксидативные, метаболические и молекулярно-регуляторные нарушения в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*. Показано, что выраженность токсического ответа определяется не только дозой, но и длительностью воздействия, причем длительная малодозовая экспозиция способна сопровождаться значимыми повреждениями ДНК и стойкой перестройкой клеточных систем защиты.

Установлено, что в изолированной клеточной модели оксиметилурацил и его комплексные соединения характеризуются различающимся профилем защитного действия: оксиметилурацил достоверно модифицирует ранний перекисный ответ, проявляя признаки умеренного антиоксидантного эффекта, тогда как среди исследованных комплексных соединений наибольший интерес представляет препарат МГ-10, для которого в узком диапазоне концентраций выявлено снижение уровня акриламид-индуцированных повреждений ДНК.

Полученные результаты представляют практическую значимость для медицины труда, поскольку обосновывают целесообразность разработки многоуровневых профилактических подходов при воздействии химических факторов производственной среды и оценке профессионального риска.

Выполненная работа подтверждает, что в условиях интоксикации, формирующейся за счет одновременного вовлечения оксидативного стресса, нарушений глутатион-зависимой защиты, генотоксичности и тканевой дисрегуляции, применение однонаправленных корректоров является недостаточным. Это положение дополнительно подтверждается результатами анализа ранних редокс-изменений, показавшими, что эффективность потенциального корректора определяется не столько способностью к непосредственному подавлению перекисного сигнала, сколько возможностью модифицировать его кинетику и тем самым влиять на последующие звенья клеточного повреждения. На основании совокупности биохимических, функциональных, морфометрических и молекулярно-генетических данных наиболее обоснованным кандидатом для дальнейшего доклинического изучения в качестве средства профилактической защиты при акриламид-индуцированном повреждении следует считать МГ-10. Результаты исследования расширяют представления о патогенезе акриламидной интоксикации, углубляют понимание молекулярных и органных механизмов повреждения при воздействии промышленных ксенобиотиков и формируют научную основу для последующей разработки патогенетически обоснованных средств профилактической коррекции в медицине труда.

ВЫВОДЫ

1. В условиях клеточной модели МН-22а установлено выраженное цитотоксическое действие акриламида. Значение IC_{50} составило 0,89 моль/л; при концентрации 1 моль/л жизнеспособность клеток снижалась до $5,87 \pm 0,17\%$ 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 $16,22 \pm 0,42\%$ против $9,07 \pm 0,20\%$ в контроле; через 24 часа при 1 мМ – до $15,27 \pm 0,44\%$ против $7,25 \pm 0,35\%$; через 72 часа уже при 0,1 мМ – до $34,19 \pm 0,89\%$ против $23,78 \pm 0,65\%$ 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 $287,66 \pm 19,78$ 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 СОКРАЩЕНИЙ

- АА – акриламид
- АЛТ – аланинаминотрансфераза
- АСТ – аспартатаминотрансфераза
- АФК – активные формы кислорода
- ВДА – вертикальная двигательная активность
- ГДА – горизонтальная двигательная активность
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ЛДГ – лактатдегидрогеназа
- МК – мочевая кислота
- МТТ – метод оценки жизнеспособности клеток с использованием тетразолия
- НР – норковый рефлекс
- ОАК – общий анализ крови
- ОТ-ПЦР – обратная транскрипция полимеразной цепной реакции
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- СОД – супероксиддисмутаза
- ТГ – триглицериды
- ХСТ – холестерин
- ЦНС – центральная нервная система
- ЩФ – щелочная фосфатаза
- ANOVA – дисперсионный анализ (analysis of variance)
- AUC – площадь под кривой (area under the curve)
- CI – доверительный интервал (confidence interval)
- CO₂ – углекислый газ
- Casp7* – каспаза-7
- Chek1* – чекпоинт-киназа 1
- DMSO – диметилсульфоксид
- DMEM/F-12 – питательная среда Дульбекко/Хэмс F-12

Gclc – глутамат-цистеин-лигаза

GSH – восстановленный глутатион

Gstm1 – μ -глутатион-S-трансфераза

Gstp1 – ρ -глутатион-S-трансфераза

Gstt1 – θ -глутатион-S-трансфераза

H₂O₂ – перекись водорода

Hmox1 – гемоксигеназа-1

IC₅₀ – полумаксимальная ингибирующая концентрация

IMEM – модифицированная среда Игла

MEM – минимальная питательная среда Игла (Minimum Essential Medium)

Nfe2l2 – транскрипционный фактор Nrf2

Nqo1 – NAD(P)H-хинон-оксидоредуктаза 1

PBS – фосфатно-солевой буфер (phosphate-buffered saline)

Ripk1 – рецептор-взаимодействующая серин/треониновая протеинкиназа 1

SE – стандартная ошибка (standard error)

Sod1 – супероксиддисмутаза 1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артамонова Г. В., Максимов С. А., Скрипченко А. Е. и др. Медико-социальные и эпидемиологические аспекты профессионального риска развития артериальной гипертензии // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2012. – №. 2. – С. 52-57.
2. Байгильдин С. С., Репина Э. Ф., Каримов Д. О. и др. Морфологические изменения в паренхиме печени крыс при подострой интоксикации акриламидом и возможность их профилактической коррекции // Гигиена и санитария. – 2023. – Т. 102. – №. 6. – С. 597-600.
3. Безрукова Г. А., Новикова Т. А. Современное состояние условий труда и здоровья работников предприятия химического оргсинтеза // Медицина труда и промышленная экология. – 2021. – Т. 61. – №. 6. – С. 408-414.
4. Белов В. Б., Роговина А. Г. Производственная среда в контексте детерминант общественного здоровья // Бюллетень Национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н. А. Семашко. – 2015. – №. 7. – С. 14-21.
5. Бухтияров И. В. Современное состояние и основные направления сохранения и укрепления здоровья работающего населения России // Медицина труда и промышленная экология. – 2019. – Т. 59. – № 9. – С. 527–532.
6. Бухтияров И. В., Кузьмина Л. П., Измерова Н. И., Головкова Н. П., Непершина О. П. Совершенствование механизмов выявления ранних признаков нарушения здоровья для сохранения трудового долголетия // Медицина труда и промышленная экология. – 2022. – Т. 62. – № 6. – С. 377–387.
7. Валеева Э. Т., Галимова Р. Р., Дистанова А. А. Условия труда, профессиональная и профессионально обусловленная патология у работников производств полимерных изделий // Санитарный врач. – 2019. – №. 3. – С. 28-33.

8. Валеева Э. Т., Каримова Л. К., Маврина Л. Н. Профессиональный риск нарушений здоровья работающих в химических отраслях промышленности // Здоровье населения и среда обитания. – 2012. – №. 12. – С. 19-21.
9. Волгарева А. Д., Каримова Л. К., Бакиров А. Б. и др. Актуальные проблемы ранней диагностики нейросенсорной тугоухости у работников нефтехимических производств // Медицина труда и экология человека. – 2019. – №. 1(17). – С. 5-10.
10. Волынец Г. В., Хавкин А. И. Митохондриальный оксидативный стресс и болезни печени // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2024. – №. 8(228). – С. 143-157.
11. Галимова Р. Р., Валеева Э. Т., Каримова Л. К. Условия труда и распространенность профессионально обусловленных заболеваний у работников нефтехимических производств // Санитарный врач. – 2018. – №. 11. – С. 50-56.
12. Галимова Р. Р., Кудояров Э. Р., Бакиров А. Б. и др. Состояние здоровья работников производства бутилового каучука по результатам периодического медицинского осмотра // Медицина труда и экология человека. – 2022. – №. 2(30). – С. 75-83.
13. Ганич Л. В. Здоровье как один из важнейших факторов трудового потенциала работника // Вестник Института экономических исследований. – 2017. – №. 4(8). – С. 45-51.
14. Гизатуллина А. А., Хуснутдинова Н. Ю., Каримов Д. Д. и др. Влияние хронического стресса на степень токсичности акриламида у крыс // Гигиена и санитария. – 2024. – Т. 103. – №. 3. – С. 258-265.
15. Гизатуллина А. А., Каримов Д. О., Репина Э. Ф. и др. Гепатотоксичность парацетамола на фоне хронического стресса: морфология и активность генов антиоксидантной системы у крыс // Гигиена и санитария. – 2025. – Т. 104. – №. 5. – С. 566-562.
16. Гимаева З. Ф., Бакиров А. Б., Каримова Л. К. и др. Производственные и генетические факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у

работников нефтехимических производств // Терапевтический архив. – 2018. – Т. 90. – №. 1. – С. 49-53.

17. Гимранова Г. Г., Бакиров А. Б., Каримова Л. К. и др. Комплексная оценка здоровья, качества и образа жизни работников, занятых добычей и переработкой углеводородного сырья // Анализ риска здоровью. – 2016. – №. 2. – С. 36-44.

18. Голушко Н. И., Мартынов Д. Д., Лебедев А. С. и др. Некроптоз, аутофагия и партанатос в патогенезе заболеваний ЦНС // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2025. – Т. 111. – №. 5. – С. 659-692.

19. Горблянский Ю. Ю., Конторович Е. П., Понамарева О. П., Сячина А. В. Концептуальные основы медицинских осмотров работников в России (тематический обзор) // Медицина труда и промышленная экология. – 2024. – Т. 64. – №. 7. – С. 471-478.

20. Доброхотова Ю. Э., Луценко Н. Н., Зимина О. А. Невынашивание беременности. Роль генов репарации ДНК // Акушерство и гинекология. – 2015. – №. 9. – С. 5-11.

21. Егоров Е. С., Кондратенко Н. Д., Аверина О. А. и др. Характеристика новой линии мышей с мутацией в гене NFE2L2 (NRF2) // Биохимия. – 2023. – Т. 88. – №. 12. – С. 2375-2386.

22. Зайцева Н. В., Онищенко Г. Г., Май И. В., Шур П. З. Развитие методологии анализа риска здоровью в задачах государственного управления санитарно-эпидемиологическим благополучием населения // Анализ риска здоровью. – 2022. – №. 3. – С. 4-20.

23. Зильберштейн О. Б., Руцкий Е. И., Шкляр Т. Л., Автономова С. А., Петушкова Е. В., Ладогина А. Ю. и др. Корпоративная социальная ответственность предприятий химической промышленности. – М.: Креативная экономика, 2020. – 326 с.

24. Зиновкин Р. А., Зиновкина Л. А., Чумаков П. М. Nrf2 и старение млекопитающих // Биохимия. – 2022. – Т. 87. – №. 12. – С. 1843-1855.

25. Ильин С. М., Самарская Н. А., Румянцева А. В. Анализ условий и охраны труда в отдельных отраслях экономики России: монография. – Екатеринбург: Издательство АМБ, 2016. – 140 с.

26. Каримова Л. М., Каримова Л. К., Башарова Г. Р. Профессиональный риск для здоровья работников химических и нефтехимических производств. – Уфа, 2006. – 306 с.

27. Каримова Л. К., Валеева Э. Т., Мулдашева Н. А. и др. Основные направления улучшения условий труда и сохранения здоровья работников химических предприятий // Санитарный врач. – 2019. – №. 8. – С. 43-49.

28. Каримова Л. К., Мулдашева Н. А., Зайдуллин И. И., Шаповал И. Сравнительный анализ профессионального риска для здоровья работников различных химических производств на основе оценки условий труда и мероприятия по его минимизации // Медицина труда и экология человека. – 2021. – №. 2(26). – С. 23-36.

29. Каримова Л. К., Мулдашева Н. А., Ларионова Т. К. и др. Химический фактор в условиях нефтехимических производств и меры по его минимизации // Медицина труда и экология человека. – 2021. – №. 1(25). – С. 35-48.

30. Качагина О. В., Рожкова Е. А., Сухарева В. А. Социальная поддержка сотрудников как инструмент повышения уровня человеческого капитала организации // Международный журнал прикладных наук и технологий Integral. – 2018. – №. 4. – С. 11.

31. Коряков А. Г. Предприятия химического комплекса РФ в современных условиях: задачи выхода на траекторию устойчивого развития // Вестник Московского университета имени С. Ю. Витте. Серия 1: Экономика и управление. – 2016. – №. 3(18). – С. 3-9. – DOI: 10.21777/2307-6135-2016-3-3-9.

32. Кузьмина Л. П., Измерова Н. И., Коляскина М. М. Роль полиморфных генов системы биотрансформации ксенобиотиков в патогенезе профессиональных аллергодерматозов // Медицина труда и промышленная экология. – 2011. – № 7. – С. 17–23.

33. Лапко И. В., Яцына И. В. Современные технологии сохранения здоровья работников с учетом актуальных профессиональных рисков // Здравоохранение Российской Федерации. – 2022. – Т. 66. – №. 5. – С. 390-394.
34. Леонидова Г. В. Рабочие места как неотъемлемая часть здорового образа жизни населения // Проблемы развития территории. – 2018. – №. 6(98). – С. 7-21.
35. Леонидова Г. В., Ивановская А. Л. Условия труда как фактор повышения его производительности в регионах России // Экономические и социальные перемены: факты, тенденции, прогноз. – 2021. – Т. 14. – №. 3. – С. 118-134.
36. Лепеш Г. В. Содержание национальной и региональной промышленной политики в контексте неоиндустриализации // Техничко-технологические проблемы сервиса. – 2021. – №. 3(57). – С. 3-7.
37. Луковникова Л. В., Баринов В. А., Белякова Н. А., Яцеленко Ю. В. Обоснование алгоритма выявления групп повышенного риска среди персонала химически опасных объектов // Токсикологический вестник. – 2024. – Т. 32. – №. 5. – С. 267-280.
38. Мажкенов С. А. Оценка профессиональных рисков на основе анализа эффективности защитных мер // Социально-трудовые исследования. – 2024. – №. 4(57). – С. 72-84.
39. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Вчерашняя А. В., Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Черенкевич С. Н. Хемосенсибилизация опухолевых клеток фенольными антиоксидантами: роль фактора транскрипции Nrf2 // Биофизика. – 2020. – Т. 65. – №. 6. – С. 1081-1092.
40. Мещакова Н. М., Дьякович М. П., Шаяхметов С. Ф. Системная оценка рисков нарушения здоровья у работников современного химического производства с учетом экспозиционной токсической нагрузки // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – №. 12-1. – С. 96-100.
41. Мещакова Н. М., Шаяхметов С. Ф., Дьякович М. П. Профессиональный риск у работников современного производства эпихлоргидрина в динамике

медицинского обследования // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2013. – №. 3-1(91). – С. 100-104.

42. Микашинович З. И., Телесманич Н. Р., Смирнова О. Б. Окислительный стресс как молекулярная основа нейродегенеративных заболеваний и пути антиоксидантной терапии // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2024. – Т. 10(76). – №. 3. – С. 106-127.

43. Михайлова С. А., Аширова С. А., Федотова И. В. Гигиеническая оценка факторов профессионального риска при получении эластичного блочного пенополиуретана // Медицинский альманах. – 2015. – №. 5(40). – С. 185-188.

44. Могиленкова Л. А. Оценка здоровья работников химических производств // Медицина труда и промышленная экология. – 2010. – №. 3. – С. 43-48.

45. Мулдашева Н. А., Каримов Д. О., Каримова Л. К., Бейгул Н. А., Шаповал И. В. Потенциальные риски химического воздействия на здоровье работников в условиях нефтехимических производств и меры по их минимизации // Медицина труда и экология человека. – 2024. – №. 2(38). – С. 32-45.

46. Мулдашева Н. А., Каримова Л. К., Рузаков В. О. и др. Комбинированное воздействие химических веществ в условиях различных производств // Медицина труда и экология человека. – 2025. – №. 2. – С. 27-44.

47. Мулдашева Н. А., Каримова Л. К., Шаповал И. В., Фагамова А. З., Волгарева А. Д. Основные гигиенические мероприятия по обеспечению безопасных условий труда работников нефтехимических предприятий // Безопасность и охрана труда. – 2022. – №. 3(92). – С. 26-28.

48. Мухаммадиева Г. Ф., Каримов Д. О., Кутлина Т. Г., Валова Я. В., Хуснутдинова Н. Ю., Репина Э. Ф., Бакиров А. Б. Экспрессия генов контроля клеточного цикла, окислительного стресса и апоптоза (Chek1, Hmox1, Casp7) в печени крыс в ответ на тетрахлорметан // Молекулярная биология. – 2019. – Т. 53. – №. 1. – С. 84-90.

49. 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.

50. Мухаммадиева Г. Ф., Якупова Т. Г., Каримов Д. О., Валова Я. В., Репина Э. Ф., Хуснутдинова Н. Ю. 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.

51. Мякишева Ю. В., Федосейкина И. В., Михайлюк Н. А. Оценка профессионального риска нарушений здоровья у работников нефтеперерабатывающего предприятия г. Самары // Журнал медико-биологических исследований. – 2025. – Т. 13. – №. 1. – С. 72-80.

52. Низамова Г. З., Рахмангулова Э. Н. Состояние и тенденции развития химической отрасли РФ // Вестник Евразийской науки. – 2017. – Т. 9. – №. 1. – Ст. 48EVN117.

53. Новикова Т. А., Алешина Ю. А., Безрукова Г. А., Микеров А. Н. Оценка профессионального риска для здоровья работников производства полиакрилонитрильных волокон // Медицина труда и экология человека. – 2022. – №. 3(31). – С. 85-101.

54. Новикова Т. А., Кочетова Н. А., Алешина Ю. А., Мигачева А. Г. Профессиональный риск для здоровья работников производства синтетических полиакрилонитрильных волокон // Санитарный врач. – 2023. – №. 12. – С. 775-785.

55. Онищенко Н. А., Гоникова З. З., Никольская А. О., Кирсанова Л. А., Севастьянов В. И. Программируемая гибель клеток и заболевания печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2022. – Т. 24. – №. 1. – С. 72-88.

56. Пашутин В. Д. Управление средствами индивидуальной защиты в России: контроль соответствия // Парадигма. – 2025. – №. 3-2. – С. 59-63.

57. Пискунов И. В., Белоконь Н. Ю. Особенности подготовки и переработки тяжелого нефтяного сырья // Нефтепереработка и нефтехимия. – 2021. – №. 2. – С. 3-8.

58. Покровская Э. А., Антонюженко В. А., Волкова И. Д., Аширова С. А. Профессиональные заболевания у рабочих производств пенополиуретанов // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. – №. 6. – С. 42-43.

59. Репина Э. Ф., Каримов Д. О., Байгильдин С. С., Якупова Т. Г., Хуснутдинова Н. Ю., Шайхлисламова Э. Р. и др. Оценка экспрессии генов апоптоза и морфологических изменений в ткани почек при воздействии акриламида и профилактической медикаментозной коррекции // Гигиена и санитария. – 2025. – Т. 104. – №. 1. – С. 96-100.

60. Репина Э. Ф., Каримов Д. О., Бакиров А. Б., Гимадиева А. Р., Валова Я. В. Анализ изменения экспрессии гена CASP7 в почках крыс при подостром воздействии акриламида и на фоне профилактической коррекции // Медицина труда и экология человека. – 2023. – №. 1. – С. 130-138.

61. Репина Э. Ф., Каримов Д. О., Якупова Т. Г., Хуснутдинова Н. Ю., Бакиров А. Б. Экспрессия генов антиоксидантной защиты при хроническом воздействии акриламида и медикаментозной коррекции // Медицина труда и экология человека. – 2024. – №. 3. – С. 163-175.

62. Репина Э. Ф., Якупова Т. Г., Каримов Д. О. и др. 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.

63. Русецкая Н. Ю., Логинова Н. Ю., Покровская Е. П., Чесовских Ю. С., Титова Л. Е. Редокс-регуляция NLRP3-опосредованного воспаления и пироптоза // Биомедицинская химия. – 2023. – Т. 69. – №. 6. – С. 333-352.

64. Самыкина Е. В., Самыкина Л. Н., Богданова Р. А. Изучение воздуха рабочей зоны в производстве пластмассовых изделий // Известия Самарского

научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13. – №. 1-7. – С. 1797-1800.

65. Сафина А. А., Тарелова Р. А. Состояние и перспективы развития охраны труда работников нефтегазохимического комплекса республики Татарстан // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – №. 10. – С. 271-275.

66. Соколова М. М. Социальный пакет: реалии и перспективы развития (на примере промышленных предприятий РТ) // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – №. 24. – С. 158-163.

67. Соловьев В. Ю., Цовьянов А. Г., Васильев Е. В., Пустовойт В. И. Концепция создания системы мониторинга состояния здоровья и управления риском персонала предприятий, курируемых Федеральным медико-биологическим агентством, и населения прилегающих территорий // Медицина катастроф. – 2024. – №. 1. – С. 5-9.

68. Суворова Л. А., Парфиненко Т. В. Инновационное и научно-технологическое развитие российского химического комплекса // Общество. Наука. Инновации (НПК-2021): сборник статей XXI Всероссийской научно-практической конференции: в 2 т., Киров, 12–30 апреля 2021 года. Т. 1. – Киров: Вятский государственный университет, 2021. – С. 632-639.

69. Тальберг О. В. Анализ тенденций и перспектив развития химической отрасли России // Вестник Ростовского государственного экономического университета (РИНХ). – 2016. – №. 2(54). – С. 125-133.

70. Телкова И. Л. Профессиональные особенности труда и сердечно-сосудистые заболевания: риск развития и проблемы профилактики. Клинико-эпидемиологический анализ // Сибирский медицинский журнал (г. Томск). – 2012. – Т. 27. – №. 1. – С. 17-26.

71. Турпаев К. Т. Сигнальная система Keap1-Nrf2. Механизм регуляции и значение для защиты клеток от токсического действия ксенобиотиков и электрофильных соединений // Биохимия. – 2013. – Т. 78. – №. 2. – С. 147-166.

72. Файзуллина Г. А., Газизова Н. Р., Шайнурова З. Д. и др. Оценка факторов сердечно-сосудистого риска у работников нефтехимических производств // Медицина труда и экология человека. – 2018. – №. 4(16). – С. 78-82.

73. Федотова И. В., Михайлова С. А. Обоснование модели управления профессиональным риском на производствах пенополиуретанов // Медицина труда и промышленная экология. – 2019. – Т. 59. – №. 10. – С. 844-849.

74. Флюрик С. В., Дремза И. К. Механизмы митохондриальной дисфункции нейронов при воздействии мышьяка и алюминия (обзор) // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 21. – №. 2. – С. 7-14.

75. Фомина Е. Е., Гуськов М. А., Фомина А. С., Садыкова И. И. Снижение рисков сердечно-сосудистых заболеваний работников опасных производственных объектов нефтегазового комплекса // Безопасность труда в промышленности. – 2022. – №. 6. – С. 68-74.

76. Халиулина В. В., Шабашева С. В. Здоровье – важная составляющая трудового потенциала // Вестник Кемеровского государственного университета. – 2012. – №. 4-1(52). – С. 338-342.

77. Хамидулина Х. Х., Тарасова Е. В., Замкова И. В., Назаренко А. К. Обоснование предельно допустимой концентрации 2-этилгексановой кислоты в воздухе рабочей зоны // Токсикологический вестник. – 2024. – Т. 32. – №. 2. – С. 72-86.

78. Хахладжиян А. М. Основные фонды в отраслях химической промышленности России // Экономические исследования и разработки. – 2020. – №. 10. – С. 76-83.

79. Хачатуров А. Е., Хачатуров-Тавризян Е. А., Старостенко Л. В. Инновационное развитие химической промышленности как локомотив неоиндустриализации // Компетентность. – 2019. – №. 6. – С. 12-19.

80. Хмель А. О., Репина Э. Ф., Рябова Ю. В., Хуснутдинова Н. Ю., Каримов Д. Д., Мухаммадиева Г. Ф., Якупова Т. Г., Каримов Д. О. Экспериментальная оценка антифиброзного действия нового комплексного соединения

оксиметилурацила с ацетилцистеином // Лабораторные животные для научных исследований. – 2025. – №. 3. – С. 46-55.

81. Хуснутдинова Н. Ю., Якупова Т. Г., Репина Э. Ф., Каримов Д. О., Кудояров Э. Р. Уровень транскрипции генов системы глутатион-S-трансферазы в печени крыс при длительном воздействии акриламида с профилактическим введением комплексных соединений оксиметилурацила // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2024. – №. 10(230). – С. 143-149.

82. 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.

83. Шаяхметов С. Ф., Дьякович М. П., Мещакова Н. М. Оценка профессионального риска нарушений здоровья работников предприятий химической промышленности // Медицина труда и промышленная экология. – 2008. – №. 8. – С. 27-33.

84. Шаяхметов С. Ф., Журба О. М., Алексеенко А. Н., Меринов А. В. Применение хромато-масс-спектрометрических методов определения маркеров экспозиции в биомониторинговых исследованиях у работников производств поливинилхлорида и алюминия // Гигиена и санитария. – 2020. – Т. 99. – №. 10. – С. 1159-1164.

85. Шиловский Г. А. Лабильность защитной системы клетки Nrf2/Keap/ARE в различных моделях клеточного старения и возрастных патологиях // Биохимия. – 2022. – Т. 87. – №. 1. – С. 86-103.

86. Шиловский Г. А., Ашапкин В. В. Транскрипционный фактор Nrf2 и митохондрии – друзья или противники в редокс-регуляции темпов старения // Биохимия. – 2022. – Т. 87. – №. 12. – С. 1856-1867.

87. Шиловский Г. А., Сорокина Е. В., Орловский И. В. Транскрипционный фактор NRF2 – мишень активирующих антиоксидантную систему клетки

препаратов: перспективы применения при возрастных заболеваниях // Клиническая геронтология. – 2021. – Т. 27. – №. 11-12. – С. 57-62.

88. Широкова Е. Ю. Химическая промышленность как драйвер роста экономики страны и региона // Проблемы развития территории. – 2021. – Т. 25. – №. 2. – С. 59-72.

89. Шишкина В. В., Мошуров И. П., Герасимова О. А. и др. Семейство каспаз: молекулярные основы взаимодействия при апоптозе и пироптозе // Гены и клетки. – 2024. – Т. 19. – №. 1. – С. 153-168.

90. Шкурат М. А., Машкина Е. В., Милютин Н. П., Шкурат Т. П. Роль полиморфизма редокс-чувствительных генов в механизмах окислительного стресса при ожирении и метаболических заболеваниях // Экологическая генетика. – 2023. – Т. 21. – №. 3. – С. 261-287.

91. Шляпина В. Л., Юртаева С. В., Рубцова М. П., Донцова О. А. На распутье: механизмы апоптоза и аутофагии в жизни и смерти клетки // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2021. – Т. 13. – №. 2(49). – С. 106-115.

92. 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.

93. Якупова Т. Г., Каримов Д. О., Хуснутдинова Н. Ю. и др. Влияние акриламида на повреждение ДНК в гепатоцитах мыши: оценка методом ДНК-комет // Медицина труда и экология человека. – 2025. – №. 1. – С. 96-112.

94. 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.

95. 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.

96. Annola K., Karttunen V., Keskirahkonen P., Myllynen P., Segerback D., Heinonen S., Vahakangas K. Transplacental transfer of acrylamide and glycidamide are comparable to that of antipyrine in perfused human placenta // Toxicology Letters. – 2008. – Vol. 182. – No. 1-3. – P. 50-56.

97. Ansar S., Siddiqi N. J., Zargar S., Ganaie M. A., Abudawood M. Hepatoprotective effect of quercetin supplementation against acrylamide-induced DNA damage in Wistar rats // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2016. – Vol. 16. – No. 1. – Art. 327.

98. Anvari M., Talebi A. R., Mangoli E., Shahedi A., Ghasemi M. R., Pouretezari M. Effects of acrylamide in the presence of vitamin E on sperm parameters, chromatin quality, and testosterone levels in mice // Clinical and Experimental Reproductive Medicine. – 2020. – Vol. 47. – No. 2. – P. 101-107.

99. Bellicha A., Wendeu-Foyet G., Coumoul X., Koual M., Pierre F., Guéraud F., Zelek L., Debras C., Srour B., Sellem L., Kesse-Guyot E., Julia C., Galan P., Hercberg S., Deschasaux-Tanguy M., Touvier M. Dietary exposure to acrylamide and breast cancer risk: results from the NutriNet-Santé cohort // The American Journal of Clinical Nutrition. – 2022. – Vol. 116. – No. 4. – P. 911-919.

100. Bin-Jumah M., Abdel-Fattah A. F. M., Saied E. M. et al. Peripheral neuropathy induced by acrylamide: manifestations, mechanisms, and potential treatment modalities // Environmental Science and Pollution Research. – 2021. – Vol. 28. – P. 13031-13046.

101. Calleman C. J., Wu Y., He F. et al. Relationships between biomarkers of exposure and neurological effects in a group of workers exposed to acrylamide // Toxicology and Applied Pharmacology. – 1994. – Vol. 126. – No. 2. – P. 361-371.

102. Chen J. H., Chou C. C. Acrylamide inhibits cellular differentiation of human neuroblastoma and glioblastoma cells // Food and Chemical Toxicology. – 2015. – Vol. 82. – P. 27-35.

103. Ekuban F. A., Davuljigari C. B., Zhang Y. et al. Genetic ablation of Nrf2 exacerbates neurotoxic effects of acrylamide exposure in mice // *Toxicology*. – 2021. – Vol. 456. Art. 152785.
104. Exon J. H. A review of the toxicology of acrylamide // *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B: Critical Reviews*. – 2006. – Vol. 9. – No. 5. – P. 397-412.
105. Fang J., Liang C. L., Jia X. D. et al. Immunotoxicity of acrylamide in female BALB/c mice // *Biomedical and Environmental Sciences*. – 2014. – Vol. 27. – No. 6. – P. 401-409.
106. Fatehyab Ali S., Hong J. S., Wilson W. E. et al. Effect of acrylamide on neurotransmitter metabolism and neuropeptide levels in several brain regions and upon circulating hormones // *Archives of Toxicology*. – 1983. – Vol. 52. – No. 1. – P. 35-43.
107. Fennell T. R., Friedman M. A. Comparison of acrylamide metabolism in humans and rodents // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2005. – Vol. 561. – P. 109-116.
108. Govindaraju I., Sana M., Chakraborty I., Rahman M. H., Biswas R., Mazumder N. Dietary acrylamide: a detailed review on formation, detection, mitigation, and its health impacts // *Foods*. – 2024. – Vol. 13. – No. 4. – P. 556.
109. Hagmar L., Törnqvist M., Nordander C. et al. Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose // *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. – 2001. – Vol. 27. – No. 4. – P. 219-226.
110. He F. S., Zhang S. L., Wang H. L. et al. Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers // *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. – 1989. – Vol. 15. – No. 2. – P. 125-129.
111. Hogervorst J. G., Schouten L. J., Konings E. J. et al. A prospective study of dietary acrylamide intake and the risk of endometrial, ovarian, and breast cancer

// Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 2007. – Vol. 16. – No. 11. – P. 2304-2313.

112. Hölzl-Armstrong L., Kucab J. E., Moody S. et al. Mutagenicity of acrylamide and glycidamide in human TP53 knock-in (Hupki) mouse embryo fibroblasts // Archives of Toxicology. – 2020. – Vol. 94. – P. 4173-4196.

113. IARC. Acrylamide // Some Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 60. – Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1994. – P. 389–433.

114. Koman P. D., Gilden R., Chartres N., Woodruff T. J. Toxic Substances Control Act (TSCA) implementation: new ways to promote occupational justice and prevent worker exposures from hazardous chemicals // Workplace Health & Safety. – 2022. – Vol. 70. – No. 4. – P. 224.

115. Kumar J., Das S., Teoh S. L. Dietary acrylamide and the risks of developing cancer: facts to ponder // Frontiers in Nutrition. – 2018. – Vol. 5. – Art. 14.

116. La Torre G., Manai M. V., Moretti L. et al. Does occupational exposure to chemicals/carcinogens affect the hematological parameters of workers? // Journal of Clinical Medicine. – 2024. – Vol. 13. – No. 21. – Art. 6317.

117. Liu Z., Song G., Zou C. et al. Acrylamide induces mitochondrial dysfunction and apoptosis in BV-2 microglial cells // Free Radical Biology and Medicine. – 2015. – Vol. 84. – P. 42-53.

118. Marsh G. M., Youk A. O., Buchanich J. M. et al. Long-term health experience of jet engine manufacturing workers: VI: incidence of malignant central nervous system neoplasms in relation to estimated workplace exposures // Journal of Occupational and Environmental Medicine. – 2007. – Vol. 49. – No. 1. – P. 82-95.

119. Miller M. J., Carter D. E., Sipes I. G. Pharmacokinetics of acrylamide in Fisher-344 rats // Toxicology and Applied Pharmacology. – 1982. – Vol. 63. – No. 1. – P. 36-44.

120. Miller M. S., Spencer P. S. The mechanisms of acrylamide axonopathy // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. – 1985. – Vol. 25. – No. 1. – P. 643-666.
121. Park R. M. Preliminary risk assessment for acrylamide and peripheral neuropathy // *Neurotoxicology*. – 2021. – Vol. 85. – P. 10-17.
122. Pedersen M., Vryonidis E., Joensen A., Törnqvist M. Hemoglobin adducts of acrylamide in human blood – what has been done and what is next? // *Food and Chemical Toxicology*. – 2022. – Vol. 161. – Art. 112799.
123. Peters S., Udem K., Solovieva S. et. al. Narrative review of occupational exposures and noncommunicable diseases // *Annals of Work Exposures and Health*. – 2024. – Vol. 68. – No. 6. – P. 562-580.
124. Sarion C., Codină G. G., Dabija A. Acrylamide in bakery products: a review on health risks, legal regulations and strategies to reduce its formation // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2021. – Vol. 18. – No. 8. – Art. 4332.
125. Sobel W., Bond G. G., Parsons T. W. et al. Acrylamide cohort mortality study // *British Journal of Industrial Medicine*. – 1986. – Vol. 43. – No. 11. – P. 785-788.
126. Sumner S. C., Fennell T. R., Moore T. A. et al. Role of cytochrome P450 2E1 in the metabolism of acrylamide and acrylonitrile in mice // *Chemical Research in Toxicology*. – 1999. – Vol. 12. – No. 11. – P. 1110-1116.
127. Suojalehto H., Suuronen K., Cullinan P. Phenotyping occupational asthma caused by acrylates in a multicenter cohort study // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. – 2020. – Vol. 8. – No. 3. – P. 971-979.
128. Swaminathan V. Occupational health and safety in chemical industries in transitional economies // *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*. – 2011. – Vol. 15. – No. 3. – P. 85-86.
129. Sörgel F., Weissenbacher R., Kinzig-Schippers M. et. al. Acrylamide: increased concentrations in homemade food and first evidence of its variable

absorption from food, variable metabolism and placental and breast milk transfer in humans // *Chemotherapy*. – 2002. – Vol. 48. – No. 6. – P. 267-274.

130. Takala J., Hämäläinen P., Sauni R., Nygård C. H., Gagliardi D., Neupane S. Global, regional- and country-level estimates of the work-related burden of diseases and accidents in 2019 // *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. – 2024. – Vol. 50. – No. 2. – P. 73-82.

131. Thonning Olesen P., Olsen A., Frandsen H. et. al. Acrylamide exposure and incidence of breast cancer among postmenopausal women in the Danish diet, cancer and health study // *International Journal of Cancer*. – 2008. – Vol. 122. – No. 9. – P. 2094-2100.

132. Wei Q., Li J., Li X. et. al. Reproductive toxicity in acrylamide-treated female mice // *Reproductive Toxicology*. – 2014. – Vol. 46. – P. 121-128.

133. Wijnands A. P. G., de Vries I., Verbruggen T., Carlier M. P., de Lange D. W., Rietjens S. J. Acute occupational exposures reported to the Dutch Poisons Information Center: a prospective study on the root causes of incidents at the workplace // *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. – 2022. – Vol. 17. – No. 1. – Art. 19.

134. World Health Organization. Acrylamide levels in food should be reduced because of public health concern says UN expert committee. – Geneva: World Health Organization, 2010.

135. Xu Q., Zhang M., Xu L., Yuan W., Ren H., Wang P., Shao X., Zhou Z., Zou H., Cao Y. Evaluation of strategies for the occupational health risk assessment of chemical toxicants in the workplace based on a quantitative analysis model // *Frontiers in Public Health*. – 2022. – Vol. 10. – Art. 1035065.

136. Zamani E., Shokrzadeh M., Fallah M., Shaki F. A review of acrylamide toxicity and its mechanism // *Pharmaceutical and Biomedical Research*. – 2017. – Vol. 3. – No. 1. – P. 1.

137. Zhao M., Zhang B., Deng L. The mechanism of acrylamide-induced neurotoxicity: current status and future perspectives // *Frontiers in Nutrition*. – 2022. – Vol. 9. – Art. 859189.