

Читать
онлайнRead
online

Валова Я.В., Гизатуллина А.А., Рябова Ю.В., Каримов Д.Д., Ахмадеев А.Р.,
Репина Э.Ф., Смолянкин Д.А., Кудояров Э.Р.

Влияние гидроксида алюминия на формирование нефротоксических эффектов у крыс при пероральном поступлении

ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Тяжёлые металлы относятся к наиболее опасным загрязнителям окружающей среды из-за их высокой токсичности даже в низких концентрациях и способности к биоаккумуляции.

Цель исследования заключалась в изучении нефротоксического действия алюминия при пероральном поступлении различных доз гидроксида алюминия $Al(OH)_3$ в условиях субхронического эксперимента.

Материалы и методы. Исследование проведено на белых аутбредных крысах обоих полов. Животные методом случайной выборки были разделены на четыре группы: контрольная группа (К) и три экспериментальные. Для оценки токсического действия металла животным экспериментальных групп 1, 2 и 3 в течение двух месяцев пять раз в неделю вводили пер ос раствор гидроксида алюминия в трёх рабочих дозах. Для генетических исследований использовали тотальную РНК, выделенную из образцов тканей почек. Анализ экспрессии генов выполняли методом ПЦР в реальном времени с использованием олигонуклеотидспецифических праймеров в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green. Биохимический и гистологический анализ проводили по стандартным методикам.

Результаты. Биохимические показатели не продемонстрировали картины, характерной для поражения почек. Гистологическое исследование также не выявило выраженных дистрофических и некротических изменений почечных структур после двух месяцев интоксикации, однако анализ кратности экспрессии генов $Mt1a$ и $Mt2a$ установил ожидаемое повышение транскрипционной активности генов в ответ на введение гидроксида алюминия. Экспрессия гена $Mt1a$ была повышена в 1,5 раза относительно контроля в группе с максимальной дозой токсиканта, тогда как экспрессия гена $Mt2a$ показала большую чувствительность и демонстрировала повышение кратности в 1,4 раза уже при дозе 0,015 мг/кг, а при максимальной дозе превысила значения контроля в 2,5 раза.

Ограничения исследования обусловлены использованием в эксперименте ограниченного количества животных одного биологического вида.

Заключение. Полученные результаты позволяют рассматривать экспрессию генов металлотионеинов как более чувствительный и ранний индикатор интоксикации металлами по сравнению с классическими методами диагностики.

Ключевые слова: тяжёлые металлы; металлотионеины; гидроксид алюминия; субхроническая интоксикация; экспрессия генов; нефротоксичность

Соблюдение этических стандартов. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» (протокол заседания № 01-02 от 08.02.2024 г.), проведено согласно общепринятым научным принципам в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EC от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

Для цитирования: Валова Я.В., Гизатуллина А.А., Рябова Ю.В., Каримов Д.Д., Ахмадеев А.Р., Репина Э.Ф., Смолянкин Д.А., Кудояров Э.Р. Влияние гидроксида алюминия на формирование нефротоксических эффектов у крыс при пероральном поступлении. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(5): 663–669. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-5-663-669> <https://elibrary.ru/ezmjmq>

Для корреспонденции: Валова Яна Валерьевна, e-mail: Q.juk@yandex.ru

Участие авторов: Валова Я.В. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста; Гизатуллина А.А., Рябова Ю.В., Каримов Д.Д., Ахмадеев А.Р., Смолянкин Д.А. — сбор материала и обработка данных; Репина Э.Ф. — редактирование; Кудояров Э.Р. — статистическая обработка. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Отраслевая научно-исследовательская программа Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Научное обоснование национальной системы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия, управления рисками здоровью и повышения качества жизни населения России» по теме «Экспериментальное обоснование высокочувствительных маркеров воздействия токсичных металлов на организм и разработка мер профилактики», № НИОКТР И124021200153-3.

Поступила: 31.01.2025 / Принята к печати: 26.03.2025 / Опубликовано: 27.06.2025

Yana V. Valova, Alina A. Gizatullina, Yulia V. Ryabova, Denis D. Karimov, Aidar R. Akhmadeev,
Elvira F. Repina, Denis A. Smolyankin, Eldar R. Kudoyarov

The effect of aluminum hydroxide on the formation of nephrotoxic effects in rats under oral administration

Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, 450106, Ufa, 450106, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Heavy metals are among the most dangerous environmental pollutants primarily due to their ability to bioaccumulate and high toxicity even in low concentrations.

The aim of the study was to investigate the nephrotoxic effect of aluminum upon oral administration of aluminum hydroxide to rats in various doses under subchronic experimental conditions.

Materials and methods. The study was conducted on white outbred rats of both sexes. Animals were randomly divided into 4 groups: control group (C) and 3 experimental groups. To assess the toxic effect of the metal, animals of the 1st, 2nd, and 3rd experimental groups were administered aluminum hydroxide solution orally in three working doses 5 times a week for 2 months. Total RNA isolated from kidney tissue samples was used for genetic studies. Gene expression analysis was performed by real-time PCR using oligonucleotide-specific primers in the presence of the intercalating dye SYBR Green. Biochemical and histological analysis was performed using standard methods.

Results. As a result, biochemical parameters did not demonstrate a picture characteristic of kidney damage. Histological analysis also did not reveal pronounced dystrophic and necrotic changes in the renal structures after 2 months of intoxication. However, the analysis of the expression fold of the *MT1a* и *MT2a* genes established the expected gain in the transcriptional activity of genes in response to the introduction of aluminum hydroxide. The expression of the *MT1a* gene was increased by 1.5 times relative to the control in the group with the maximum dose of the toxicant. Whereas the expression of the *MT2a* gene showed greater sensitivity and demonstrated a 1.4-fold increase already at a dose of 0.015 mg/kg, and at the maximum dose it exceeded the control values by 2.5 times.

Limitations. The study was performed on a limited number of animals of one biological species.

Conclusion. The obtained results allow considering the expression of metallothionein genes as a more sensitive and earlier indicator of metal intoxication compared to classical diagnostic methods.

Keywords: heavy metals; metallothioneins; aluminum hydroxide; subchronic intoxication; gene expression; nephrotoxicity

Compliance with ethical standards. The study was approved by the local ethics committee of the Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology (minutes of the meeting No. 01-02 dated 08.02.2024), conducted in accordance with the generally accepted scientific principles of the Helsinki Declaration of the World Medical Association (2013 edition).

For citation: Valova Ya.V., Gizatullina A.A., Ryabova Yu.V., Karimov D.D., Akhmadeev A.R., Repina E.F., Smolyankin D.A., Kudoyarov E.R. The effect of aluminum hydroxide on the formation of nephrotoxic effects in rats under oral administration. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(5): 663–669. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-5-663-669> <https://elibrary.ru/ezmjmq> (In Russ.)

For correspondence: Yana V. Valova, e-mail: Q.juk@yandex.ru

Contribution: Valova Ya.V. — concept and design of the study, collection and processing of data, statistical processing, writing the text; Gizatullina A.A., Ryabova Yu.V., Karimov D.D., Akhmadeev A.R., Smolyankin D.A. — collection of data and data processing; Repina E.F. — editing; Kudoyarov E.R. — statistical processing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. Industry research program of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing for 2021–2025 “Scientific substantiation of the national system for ensuring sanitary and epidemiological well-being, managing health risks and improving the quality of life of the population of Russia”, on the topic: “Experimental substantiation of highly sensitive markers of the impact of toxic metals on the body and the development of preventive measures” No. NIOKTR I124021200153-3

Received: January 31, 2025 / Accepted: March 26, 2025 / Published: June 27, 2025

Введение

Антропогенная деятельность привела к значительному загрязнению окружающей среды ксенобиотиками, представляющими опасность для здоровья населения. Тяжёлые металлы относятся к наиболее опасным загрязнителям из-за их высокой токсичности даже в низких концентрациях и способности к биоаккумуляции. Алюминий (Al) — самый распространённый в земной коре металл, широко используемый в различных отраслях промышленности. По этой причине население постоянно подвергается его воздействию через пищу, воду, воздух и лекарственные препараты. Длительное время Al считался инертным для живых организмов, однако исследованиями последних десятилетий доказано токсическое воздействие его ионных форм, что вызвало широкие дискуссии о влиянии этого металла на здоровье. Острые отравления алюминием встречаются крайне редко, хроническое воздействие, особенно у лиц с нарушенной функцией выведения Al из организма, может привести к развитию нейродегенеративных патологий, болезней костей и почек [1, 2].

Особую тревогу вызывает накопление алюминия в головном мозге, которое некоторые исследователи связывают с развитием болезни Альцгеймера. Хотя прямая причинно-следственная связь не установлена окончательно, некоторые исследования показывают корреляцию между высоким содержанием алюминия в мозге и развитием деменции, снижением памяти, депрессии, нарушением когнитивных функций и моторной координации [3, 4]. Важно отметить, что токсичность алюминия зависит от многих факторов: формы (ионы более токсичны), дозы, длительности воздействия, пути поступления и индивидуальных особенностей организма [5]. Основным механизмом токсичности Al связан с его прооксидантной активностью. Попадая в организм, ионы алюминия вызывают окислительный стресс, увеличивая образование свободных радикалов и нарушая работу антиоксидантных ферментов. Это приводит к повреждению клеточных мембран, белков и липидов в различных органах, в том числе головном мозге, печени и почках [6]. Более глубокое понимание патогенетических механизмов алюминиевой интоксикации является ключом к разработке эффективных профилактических и лечебных мер. Необходимо дальнейшее изучение долгосрочных эффектов хронического воздействия алюминия на здоровье человека и окружающую среду для разработки эффективных мер профилактики и снижения рисков.

Цель настоящего исследования заключается в изучении нефротоксического воздействия при пероральном поступлении различных доз гидроксида алюминия в условиях субхронического эксперимента.

Материалы и методы

Исследование проводили в соответствии с принципами Комитета по исследованиям на животных Минздрава России, Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [7], и одобрено Этическим комитетом ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» (Ref.: CSEC/0122/0157).

Животные. Исследование проведено на 48 белых аутбредных крысах обоих полов с массой тела 170–230 г. Крысы содержались в клетках в стандартных лабораторных условиях: температура плюс 20–25 °С, 12-часовой световой день, влажность воздуха 50 ± 5%, кормление стандартным гранулированным кормом #Кат. № Pro Feed для лабораторных крыс и мышей (АО «Био Про», Новосибирск, Россия) и водой *ad libitum*.

В начале эксперимента животные методом случайной выборки были разделены на четыре группы по 12 особей (6 самцов и 6 самок) в каждой: контрольная группа (К) и три экспериментальные группы. Согласно методологии постановки субхронического эксперимента, для оценки токсического действия металла животным экспериментальных групп 1, 2, 3 в течение двух месяцев пять раз в неделю вводили *per os* через специальный зонд раствор гидроксида алюминия в трёх рабочих дозах (0,015, 0,15 и 1,5 мг/кг). В соответствии с СанПиН 2.1.4.1074–01 ПДК алюминия в питьевой воде, поступающей из источников водоснабжения (ПДК), составляет 0,5 мг/л. Согласно рекомендациям ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, ежедневная потребность взрослого человека в воде — 30 мл на кг массы тела, следовательно, для человека весом 90 кг общий объём потребляемой воды в сутки составляет 2,7 л, что теоретически соответствует потенциальному пероральному поступлению 1,35 мг алюминия в сутки с водой. В пересчёте на килограмм массы тела это значение соответствует минимальной дозе в 0,015 мг/кг/сут, принятой за основу в настоящей работе.

Животных выводили из эксперимента через два месяца методом декапитации. Детали дизайна исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Дизайн исследования Study design

Исследуемое вещество The investigated substance	Группа Group	Пол Sex	Число животных Number of animals	Доза, мг/кг Dose, mg/kg	Схема введения Scheme of introduction
Al(OH) ₃ Гидроокись алюминия (стоковый раствор 115.6 г/л в 2%-м растворе крахмала) Aluminum hydroxide (stock solution 115.6 g/L in 2% starch solution)	Опытная группа 1 Experienced group 1	Самки / Females	6	0.015	Внутрижелудочно, повторно в течение 2 мес Intragastrically, repeated within 2 months
		Самцы / Males	6	0.015	
	Опытная группа 2 Experienced group 2	Самки / Females	6	0.15	Внутрижелудочно, повторно в течение 2 мес Intragastrically, repeated within 2 months
		Самцы / Males	6	0.15	
	Опытная группа 3 Experienced group 3	Самки / Females	6	1.5	Внутрижелудочно, повторно в течение 2 мес Intragastrically, repeated within 2 months
		Самцы / Males	6	1.5	
2%-й раствор крахмала 2% starch solution	Контрольная группа 4 Control group 4	Самки / Females	6	Эквиобъемное количество Equivolume quantity	Внутрижелудочно, повторно в течение 2 мес Intragastrically, repeated within 2 months
		Самцы / Males	6	Эквиобъемное количество Equivolume quantity	

Биохимические исследования. Образцы крови для биохимических исследования отбирали после умерщвления животных путём декапитации. Определение содержания общего белка (ОБ), альбумина, мочевины и креатинина проводили с помощью наборов реагентов «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) на анализаторе Stat Fax 3300 (Awareness Technology, США) в соответствии с инструкциями производителя.

Анализ экспрессии генов. Для генетических исследований кусочки почек животных сразу после декапитации и вскрытия замораживали в жидком азоте и заливали реагентом, предназначенным для лизиса клеток (тризол, Extract RNA), для дальнейшего выделения РНК. Для выделения тотальной (суммарной) РНК применяли коммерческий набор ExtractRNA (НПО «Евроген», Москва, Россия) согласно требованиям протокола. Очищенную РНК, выделенную из ткани почек каждой крысы, подвергали обратной транскрипции с использованием обратной транскриптазы MMLV и олиго-dT-праймеров (НПО «Евроген», Москва, Россия). Анализ экспрессии генов проводили методами ПЦР в реальном времени на приборе Rotor-Gene (QIAGEN, Германия) с использованием олигонуклеотидспецифических праймеров (НПО «Евроген», Москва, Россия) (табл. 2), содержащих интеркалирующий краситель SYBR Green (#Кат. № PB025S, НПО «Евроген», Москва, Россия). Дизайн праймеров для qPCR выполняли с помощью программы PrimerQuest Tool (Integrated DNA Technologies, США). Полимеразную цепную реакцию осуществляли по следующему протоколу. Оптимальная концентрация праймеров — 1 мМ, dDNTP (четырёх видов дезоксирибонуклеотидтрифосфатов) — до 0,2 мМ; добавляли Tag-полимеразу до пяти единиц активности; концентрация MgCl₂, необходимого для работы полимеразы, составляла 1,5 мМ. Денатурацию ДНК проводили при температуре

плюс 94 °С в течение пяти минут. Температура отжига праймеров — плюс 59 °С в течение 25 с. Досинтез цепей осуществлялся при температуре плюс 72 °С в течение пяти минут. Далее весь цикл повторялся 35 раз. ПЦР-реакции ставили в объёме 12,5 мкл. Вносили по 6,07 мкл воды деионизированной, 1,25 мкл 25 мМ раствора MgCl₂, по 0,75 мкл праймеров прямых и обратных, 0,5 мкл SybrGreen, 0,5 мкл dNTP, 0,18 мкл Taq-полимеразы, 2,5 мкл ДНК (50–100 нг).

Нормализацию уровня экспрессии проводили с использованием гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH). Для расчёта относительных значений кратности изменения между образцами использовался метод дельта-дельта Ct [8].

Гистология. Ткани почек для гистологического исследования фиксировали в 10%-м нейтрально забуференном формалине, после чего подвергали стандартной гистологической проводке с заливкой в парафин. Из подготовленных парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм на ротационном микротоме Leica RM 2125 RTS, которые позже подвергали окрашиванию.

Окрашивание проводили гематоксилин-эозином, после чего препараты заключали в среду Limonen mounting medium. Полученные препараты визуализировали с использованием имиджинговой системы Celena X при увеличении 200× и 400×.

Статистический анализ. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 21 (IBM, США). Проверку распределений на нормальность осуществляли с помощью критерия Колмогорова — Смирнова. Для оценки значимости различий между

Таблица 2 / Table 2

Последовательность праймеров Primer sequence

Ген / Gene	Прямой праймер (5'-3') / Forward primer (5'-3')	Обратный праймер / Reverse primer (5'-3')
<i>Mt1a</i>	ATCTTGATGATGTACAGCCAC	ACGGCATACTTTGCTCCTGT
<i>Mt2a</i>	AGTATTCTGAACCTGAAGCTAA	CTCTCATCCACCTGGCAACA
<i>Mt3</i>	CAGGAACCACAGTAGGACA	TGCCTGGAGGAAGTAAGCTA
<i>Gapdh</i>	ATGATTCTACCCACGGCAAG	CTGGAAGATGGTATGGGGTT

Таблица 3 / Table 3

Биохимические показатели крови крыс после субхронической интоксикации гидроксидом алюминия в различных дозах
Biochemical parameters of rat blood after subchronic intoxication with aluminum hydroxide in various doses

Биохимические показатели Biochemical indices	Группа / Group				p
	контрольная Control	1-я опытная 1 st experienced	2-я опытная 2 nd experienced	3-я опытная 3 rd experienced	
Общий белок / Total protein	67.17 ± 1.78	65.75 ± 1.68	65.92 ± 2.16	63.92 ± 2.05	> 0.05
Альбумин / Albumen	41.40 ± 1.81	42.07 ± 0.99	43.59 ± 1.45	41.41 ± 1.49	> 0.05
Креатинин / Creatinine	36.75 ± 3.35	46.13 ± 3.80	42.13 ± 1.99	47.50 ± 3.06	> 0.05
Мочевина / Urea	8.39 ± 0.32	5.47 ± 0.20*	5.79 ± 0.21*	6.44 ± 0.19*	< 0.01

Примечание. * — различия достигали уровня статистической значимости.

Note: * — differences reached the level of statistical significance

группами использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и апостериорные критерии Тьюки и Там-хейна. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка. Критический уровень значимости (p) принят равным 0,05.

Для оценки равенства дисперсий применялся F -критерий Ливиня, для оценки различий между группами — t -тест Стьюдента и однофакторный дисперсионный анализ. При проведении дисперсионного анализа в качестве апостериорной поправки на множественность сравнений был использован критерий Тьюки.

Результаты

Биохимический анализ. Анализ уровня белка в сыворотке крови экспериментальных животных не выявил статистически значительных различий между группами ($p = 0,765$) (табл. 3). Наиболее высокие значения белка были установлены у животных контрольной группы — $67,17 \pm 1,78$ г/л. При воздействии гидроксида алюминия в дозе 1,5 мг/кг среднее значение уровня белка в сыворотке крови крыс соответствовало минимальной отметке — $63,92 \pm 2,05$ г/л. Концентрация белка в группе 1 при дозе токсиканта 0,015 мг/кг определялась в диапазоне $65,75 \pm 1,68$ г/л и была фактически сопоставима со средним значением общего белка в группе 2, получавшей $\text{Al}(\text{OH})_3$ в дозе 0,15 мг/кг ($65,92 \pm 2,16$ г/л). При сравнении групп различия не достигали уровня статистической значимости.

Анализ содержания альбумина в сыворотке крови экспериментальных животных не выявил статистически значимых различий между группами ($p = 0,649$) (см. табл. 3). Были определены следующие средние альбумина у животных различных групп: контрольная группа — $41,4 \pm 1,81$ г/л; опытная группа 1 — $42,07 \pm 0,99$ г/л; группа, получавшая гидроксид алюминия в дозе 0,15 мг/кг, — $43,59 \pm 1,45$ г/л; группа, получавшая гидроксид алюминия в дозе 1,5 мг/кг, — $41,41 \pm 1,49$ г/л. При сравнении групп животных в эксперименте статистические различия не установлены.

Статистический анализ показал значимые изменения содержания мочевины в сыворотке крови крыс при заправке животных гидроксидом алюминия ($F = 24,99$; $p = 0,001$) (см. табл. 3). Минимальное значение средней концентрации мочевины зафиксировано у животных экспериментальной группы 1 ($5,47 \pm 0,2$ ммоль/л), в группе 2 — $5,79 \pm 0,21$ ммоль/л. Максимум отмечен в контрольной группе ($8,39 \pm 0,32$ ммоль/л); в группе 3, получавшей поллютант в наиболее высокой дозе, — 1,5 мг/кг ($6,44 \pm 0,19$ ммоль/л). При сравнении групп животных статистически значимые различия показателя наблюдались между отрицательным контролем ($8,39 \pm 0,32$ ммоль/л) и тремя экспериментальными группами крыс (во всех случаях $p = 0,001$). Также значимыми были отклонения у крыс группы 1 ($5,47 \pm 0,2$ ммоль/л) относительно группы 3 ($6,44 \pm 0,19$ ммоль/л; $p = 0,01$). Между остальными группами статистически значимые различия не определялись.

При регистрации уровня креатинина в сыворотке крови экспериментальных животных статистически значимые различия не наблюдались ($p = 0,19$) (см. табл. 3). Максимальное значение определено у животных группы 3 ($47,50 \pm 3,06$ мкмоль/л), минимальное — у крыс группы отрицательного контроля ($36,75 \pm 3,35$ мкмоль/л). В группе 1 уровень креатинина составил $46,13 \pm 3,80$ мкмоль/л. В экспериментальной группе 2, получавшей $\text{Al}(\text{OH})_3$ в дозе 0,15 мг/кг, уровень креатинина составил $42,13 \pm 1,99$ мкмоль/л. При сравнении экспериментальных групп установлено, что различия не имели статистической значимости.

Анализ экспрессии генов металлопротеинов. Анализ кратности экспрессии генов *Mt1A*, *Mt2A* и *Mt3* в почках крыс, подвергнутых субхронической интоксикации $\text{Al}(\text{OH})_3$, выявил значимые различия между экспериментальными группами. Уровень активности гена *Mt1A* в группах, получавших гидроксид алюминия в дозах 0,015 и 0,15 мг/кг, был незначительно снижен относительно контроля и составил $-0,21 \pm 0,15$ и $-0,73 \pm 0,16$ соответственно. Однако при повышении дозы до 1,5 мг/кг активность гена выросла практически в 1,5 раза относительно контроля ($p < 0,01$) (рис. 1, а).

Транскрипционная активность гена *Mt2A* характеризовалась повышением уровня экспрессии во всех экспериментальных группах относительно контроля. Максимальный уровень экспрессии ($2,5 \pm 0,32$) отмечен в группе животных, получавших токсикант в дозе 1,5 мг/кг. Более низкие значения были зарегистрированы в группах с заправкой минимальной дозой гидроксида алюминия ($1,4 \pm 0,14$), а также в группе, получавшей дозу 0,15 мг/кг $\text{Al}(\text{OH})_3$ ($1,05 \pm 0,15$). Все различия с контрольной группой достигли уровня статистической значимости (рис. 1, б).

После субхронической интоксикации гидроксидом алюминия в дозе 0,015 мг/кг активность гена *Mt3* была незначительно повышена по сравнению с контрольными значениями ($0,99 \pm 0,17$ против $0,7 \pm 0,35$). При увеличении дозы до 0,15 мг/кг средний показатель кратности экспрессии снизился до $0,07 \pm 0,18$. Однако статистически значимое снижение количества транскриптов было зарегистрировано лишь в группе, получавшей токсикант в максимальной дозе. Экспрессия в данной группе снизилась до $-1,38 \pm 0,38$ по сравнению со средним значением $0,7 \pm 0,35$ в группе контроля (рис. 1, в).

Гистологический анализ органов экспериментальных животных в условиях субхронического эксперимента. Визуальный осмотр, проведенный на этапе препарирования почек крыс контрольной группы, показал типичную анатомическую форму органа, не отличающиеся от нормальных размеры и положение в брюшной полости. Почки крыс имели характерную бобовидную форму, поверхность органа была гладкой, блестящей, имела красно-коричневый цвет и упругую консистенцию. На верхнем полюсе каждой почки располагались надпочечники, не имеющие каких-либо особенностей. Капсула почек не была напряжена, при разрезе края сходились, что свидетельствует об анатомически правиль-

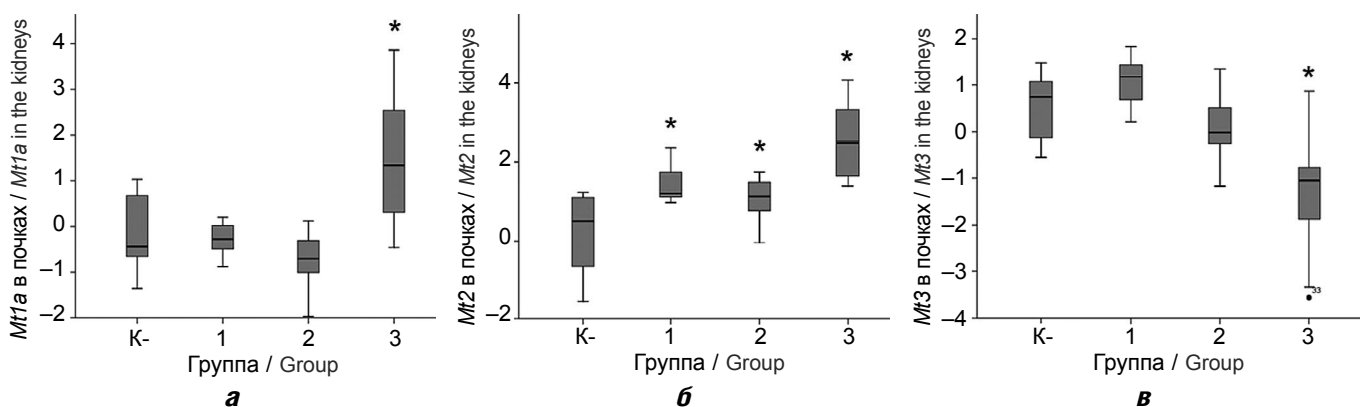


Рис. 1. Кратность экспрессии генов *Mt1a* (а), *Mt2a* (б) и *Mt3* (в) в почках крыс в условиях субхронической интоксикации $\text{Al}(\text{OH})_3$ в зависимости от дозы.

Fig. 1. The expression fold of (a) *Mt1a*, (б) *Mt2a*, and (в) *Mt3* genes in rat kidneys under conditions of subchronic intoxication with $\text{Al}(\text{OH})_3$ depending on the dose.

ном размере органа. При макроскопическом исследовании почек крыс, подвергавшихся субхроническому воздействию гидроксида алюминия в дозах 0,015; 0,15 и 1,5 мг/кг, также не выявлено визуально определяемых патологических изменений.

Гистологическое исследование срезов почек крысы контрольной группы продемонстрировало нормальную морфологическую структуру тканей: обнаруживалось корковое и мозговое вещество, структурные компоненты коркового вещества углублялись в мозговое вещество в виде колонок (рис. 2, а, см. на вклейке). Мозговое вещество далеко проникало в корковое, образуя мозговые лучи. Нефрон представлял собой эпителиальную трубочку, слепо начинающуюся в виде капсулы почечного тельца, далее переходящей в канальцы разного калибра, впадающей в собирательную трубочку.

Почечное тельце состояло из капиллярного клубочка и окружающей его эпителиальной капсулы Шумлянско-Боумана из двух листков. Между наружной и внутренней стенками капсулы имелась полость для поступления первичной мочи, образующейся в результате клубочковой фильтрации. В капиллярном клубочке определялись характерные клетки: мезангиоциты, расположенные в мезангиальной области клубочка, и подоциты, эпителиальные клетки, образующие внутренний слой капсулы Шумлянско-Боумана. В петлях клубочков обнаруживались множество эритроцитов. Они были кровенаполнены, однако нарушений реологических свойств крови не обнаружено. В почках крыс контрольной группы не выявлено дефектов ткани, кровоизлияний, воспалительных инфильтратов, очагов разрастания атипичной ткани (рис. 2, б, см. на вклейке).

У крыс экспериментальных групп после двух месяцев хронической интоксикации гидроксидом алюминия в рабочих дозах 0,015, 0,15 и 1,5 мг/кг почки сохраняли общую структуру, состояли из коркового и мозгового вещества (рис. 2, в, г, д, ж, з, см. на вклейке). Строение клубочков было сохранено. Петли клубочков были преимущественно кровенаполнены, как и в почках крыс контрольной группы. Проксимальные и дистальные канальцы не имели расширений канальцев, вакуолярной дегенерации, некротических изменений, также не были обнаружены в их просветах зоинофильные отложения.

Обсуждение

Алюминий является стойким поллютантом, который в большом количестве присутствует в различных природных средах, в том числе в воде, воздухе и почве, и оказывает воздействие на живые организмы. Благодаря своей способности к биоаккумуляции этот металл накапливается в тканях

и органах (печень, почки, селезенка, сердце, мозг), вызывая повреждение целевых органов [9–12].

Гидроксид алюминия широко используется в безрецептурных желудочных антацидах, буферных анальгетиках и других фармацевтических препаратах, а также в косметической промышленности при производстве антиперспирантов, зубных паст, косметических средств. Было установлено, что суточные дозы алюминия в антацидах и буферных анальгетиках составляют от 840 до 5000 мг и от 130 до 730 мг в день соответственно [4].

В настоящем исследовании мы оценивали влияние разных доз гидроксида алюминия на формирование нефротоксических эффектов у крыс при пероральном поступлении. Поскольку более 95% алюминия выводится через почки, этот орган подвергается значительному воздействию. Установлено, что накопление алюминия в почечной ткани приводит к дегенерации клеток канальцев, влияет на клеточный метаболизм и стимулирует окислительный стресс, что приводит к изменению транспорта п-аминогиппуровой кислоты, реабсорбции фосфата в почечных канальцах и дисбалансу натрия и воды, оказывая нефротоксическое действие [10, 11].

В нескольких независимых исследованиях при пероральном введении экспериментальным животным AlCl_3 в различных дозах (от 20 до 60 мг/кг) выявлено токсическое поражение почек. Исследователи отмечали у крыс повышение уровня мочевины и креатинина в сыворотке крови и гистологические изменения в почках при воздействии AlCl_3 : отёк как дистальных, так и проксимальных канальцев, атрофию и дегенерацию капилляров клубочков с увеличенным пространством Боумана (мочеиспускательным пространством) и некрозом канальцев [13–16].

В нашем исследовании анализ биохимических показателей крови экспериментальных животных не показал существенных изменений, характеризующих нарушение почечной функции. У животных, получавших гидроксид алюминия, было зарегистрировано незначительное повышение уровня креатинина и снижение уровня общего белка, что может указывать лишь на потенциальное нефротоксическое действие алюминия. Однако статистически значимое понижение уровня мочевины в экспериментальных группах может свидетельствовать о начальных признаках нарушения функции печени. Гистологический анализ также не выявил выраженных дистрофических и некротических изменений органов крыс экспериментальных групп по сравнению с контрольной.

Наши результаты согласуются с результатами, полученными S. Mahieu и соавт. Исследователи также не обнаружили различий в концентрациях креатинина и мочевины в плазме крыс, получавших гидроксид алюминия в дозе 80 мг/кг три раза в неделю в течение шести месяцев, и контрольной группы [17]. Тем не менее в более ранней работе

L. Hdglin и соавт. обнаружили, что потребление свиньями корма с суспензией гидроксида алюминия в течение шести недель вызывало у них тяжёлую гипофосфатемию, следствием которой являлось увеличение относительного веса почек с морфологическими признаками повреждения канальцев и дискальцификации [18]. Вероятнее всего, такие расхождения могут быть связаны с различиями в дизайне экспериментов, а именно в использовании разных соединений алюминия, доз и времени экспозиции.

Нами были зафиксированы изменения транскрипционной активности генов металлотионеинов в ответ на поступление гидроксида алюминия при отсутствии признаков нефротоксичности. Металлотионеины (МТ) представляют собой низкомолекулярные богатые цистеином белки, которые способны связывать ионы металлов благодаря наличию множества тиоловых групп (–SH) в их структуре. МТ участвуют в поддержании баланса эссенциальных металлов, таких как цинк (Zn) и медь (Cu), а также играют важную роль в детоксикации при поступлении в организм тяжёлых металлов и защите клеток от окислительного стресса [19].

МТ относятся к индуцируемым белкам, их экспрессия значительно повышается в ответ на присутствие тяжёлых металлов – кадмия, цинка, меди, ртути, свинца и др. Этот процесс регулируется на уровне транскрипции и опосредуется специфическими транскрипционными факторами, которые связываются с металл-чувствительными элементами в промоторной области генов МТ [20].

В нашем исследовании отмечено статистически значимое повышение кратности экспрессии гена *Mt1a* при воздействии максимальной дозы $Al(OH)_3$, а также повышение активности гена *Mt2a* у животных всех экспериментальных групп, подвергнутых интоксикации. Наши данные согласуются с выводами других исследователей. О. Karabulut-Bulan и соавт. отмечали повышенный уровень белков МТ в почках крыс при интоксикации сульфатом алюминия в дозе 5 мг/кг по сравнению с контрольной группой [21]. В исследовании I. Ghorbel и соавт. крысы подвергались воздействию хлорида алюминия в дозе 50 мг/кг на протяжении трёх недель. Выявлено, что суммарный уровень экспрессии генов *Mt1a* и *Mt2a* в почках животных, получавших хлорид алюминия, был на 48% выше показателей контрольной группы [15].

Заключение

Установлено, что при воздействии металлов изменение транскрипционной активности генов металлотионеинов возможно зафиксировать на ранних стадиях, предшествующих развитию клеточной токсичности, которая традиционно оценивается по повышению уровня биохимических маркёров и морфологическим изменениям на гистологическом уровне. Это позволяет рассматривать экспрессию генов металлотионеинов как более чувствительный и ранний индикатор интоксикации металлами по сравнению с классическими методами диагностики.

Литература

(п.п. 1–4, 6, 8–21 см. References)

- Багрянцева О.В., Шатров Г.Н., Хотимченко С.А., Бессонов В.В., Арнаут О.В. Алюминий: оценка риска для здоровья потребителей при поступлении с пищевыми продуктами. *Анализ риска здоровью*. 2016; (1): 59–68. <https://elibrary.ru/vuboxz>
- Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабахян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных. *Качественная клиническая практика*. 2002; (1): 58–61. <https://elibrary.ru/vvocr>
- Ng C.H., Yahaya S.N.M., Majid A.A.A. Reviews on aluminum alloy series and its applications. *Acad. J. Sci. Res.* 2017; 5(12): 708–16.
- Igbokwe I.O., Igwenagu E., Igbokwe N.A. Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects. *Interdiscip. Toxicol.* 2019; 12(2): 45–70. <https://doi.org/10.2478/intox-2019-0007>
- Klotz K., Weistenhöfer W., Neff F., Hartwig A., van Thriel C., Drexler H. The health effects of aluminum exposure. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2017; 114(39): 653–9. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2017.0653>
- Krewski D., Yokel R.A., Nieboer E., Borchelt D., Cohen J., Harry J., et al. Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.* 2007; 10(Suppl. 1): 1–269. <https://doi.org/10.1080/10937400701597766>
- Bagryantseva O.V., Shatrov G.N., Khotimchenko S.A., Bessonov V.V., Arnautov O.V. Aluminium: food-related health risk assessment of the consumers. *Health Risk Analysis*. 2016; (1): 49–57. <https://elibrary.ru/xnrrmp>
- Rahimzadeh M.R., Rahimzadeh M.R., Kazemi S., Amiri R.J., Pirzadeh M., Moghadamnia A.A. Aluminum poisoning with emphasis on its mechanism and treatment of intoxication. *Emerg. Med. Int.* 2022; 2022: 1480553. <https://doi.org/10.1155/2022/1480553>
- Bol'shakov O.P., Neznanov N.G., Babakhanyan R.V. Didactic and ethical aspects of conducting research on biomodels and laboratory animals. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika*. 2002; (1): 58–61. <https://elibrary.ru/vvocr> (in Russian)
- Schmittgen T.D., Livak K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat. Protoc.* 2008; 3(6): 1101–8. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.73>
- Bondy S.C. Low levels of aluminum can lead to behavioral and morphological changes associated with Alzheimer's disease and age-related neurodegeneration. *Neurotoxicology*. 2016; 52: 222–9. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.12.002>
- Mahieu S., Millen N., González M., Contini Mdel C., Elias M.M. Alterations of the renal function and oxidative stress in renal tissue from rats chronically treated with aluminium during the initial phase of hepatic regeneration. *J. Inorg. Biochem.* 2005; 99(9): 1858–64. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.06.023>
- Mahieu S., Contini Mdel C., González M., Millen N. Melatonin reduces oxidative damage induced by aluminium in rat kidney. *Toxicol. Lett.* 2009; 190(1): 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.06.852>
- Mailloux R.J., Hamel R., Appanna V.D. Aluminum toxicity elicits a dysfunctional TCA cycle and succinate accumulation in hepatocytes. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2006; 20(4): 198–208. <https://doi.org/10.1002/jbt.20137>
- Al Dera H.S. Protective effect of resveratrol against aluminum chloride induced nephrotoxicity in rats. *Saudi. Med. J.* 2016; 37(4): 369–78. <https://doi.org/10.15537/smj.2016.4.13611>
- Belaïd-Nouira Y., Bakhta H., Haouas Z., Flehi-Slim I., Ben Cheikh H. Fenugreek seeds reduce aluminum toxicity associated with renal failure in rats. *Nutr. Res. Pract.* 2013; 7(6): 466–74. <https://doi.org/10.4162/nrp.2013.7.6.466>
- Ghorbel I., Maktouf S., Fendri N., Jamoussi K., Ellouze Chaabouni S., Boudawara T., et al. Co-exposure to aluminum and acrylamide disturbs expression of metallothionein, proinflammatory cytokines and induces genotoxicity: Biochemical and histopathological changes in the kidney of adult rats. *Environ. Toxicol.* 2016; 31(9): 1044–58. <https://doi.org/10.1002/tox.22114>
- Al-Qhtani S.A., Farran S.K. The protective and therapeutic effect of resveratrol in improving renal and hepatic failure induced by aluminum chloride in experimental animals. *J. Am. Sci.* 2017; 13(10): 26. <https://doi.org/10.7537/marsjas131017.03>
- Mahieu S., del Carmen Contini M., Gonzalez M., Millen N., Elias M.M. Aluminum toxicity. Hematological effects. *Toxicol. Lett.* 2000; 111(3): 235–42. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(99\)00184-8](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(99)00184-8)
- Häglin L., Essén-Gustavsson B., Kallner A., Lindholm A., Reiland S., Sjöberg H.E. Hypophosphatemia induced by dietary aluminium hydroxide supplementation in pigs: effects on growth, blood variables, organ weights and renal morphology. *Acta Vet. Scand.* 1988; 29(1): 91–9. <https://doi.org/10.1186/BF03548397>
- Vašák M., Meloni G. Chemistry and biology of mammalian metallothioneins. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2011; 16(7): 1067–78. <https://doi.org/10.1007/s00775-011-0799-2>
- Günther H.E., Lindert U., Schaffner W. The taste of heavy metals: gene regulation by *MTF-1*. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012; 1823(9): 1416–25. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2012.01.005>
- Karabulut-Bulan O., Bayrak B.B., Arda-Pirinceci P., Sarikaya-Unal G., Us H., Yanardag R. Role of exogenous melatonin on cell proliferation and oxidant/antioxidant system in aluminum-induced renal toxicity. *Biol. Trace Elem. Res.* 2015; 168(1): 141–9. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0320-9>

Сведения об авторах

Валова Яна Валерьевна, канд. биол. наук, зав. лаб. генетики отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБун «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: Q.juk@yandex.ru

Гизатуллина Алина Анваровна, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: alinagisa@yandex.ru

Рябова Юлия Владимировна, канд. мед. наук, зав. лаб. токсикологии отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Каримов Денис Дмитриевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: lich-tsar@mail.ru

Ахмадеев Айдар Ринатович, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: dgaar87@gmail.com

Репина Эльвира Фаридовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: e.f.repina@bk.ru

Смолянкин Денис Анатольевич, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: smolyankin.denis@yandex.ru

Кудояров Эльдар Ринатович, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: e.kudoyarov@yandex.ru

Information about the authors

Yana V. Valova, PhD (Biology), Head of the Genetics Laboratory, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Animal Clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Ufa, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-6605-9994> E-mail: Q.juk@yandex.ru

Alina A. Gizatullina, Junior Researcher, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Animal Clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7321-0864> E-mail: alinagisa@yandex.ru

Yulia V. Ryabova, PhD (Medicine), Head of the Toxicology Laboratory, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Animal Clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479> E-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Denis D. Karimov, PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Animal Clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-1962-2323> E-mail: lich-tsar@mail.ru

Aidar R. Akhmadiev, Junior Researcher, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Animal Clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7309-4990> E-mail: dgaar87@gmail.com

Elvira F. Repina, PhD (Medicine), Senior Researcher, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Animal Clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Ufa, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8798-0846> E-mail: e.f.repina@bk.ru

Denis A. Smolyankin, Junior Researcher, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Animal Clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7957-2399> E-mail: smolyankin.denis@yandex.ru

Eldar R. Kudoyarov, Junior Researcher, Department of Toxicology and Genetics with Experimental Animal Clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-2092-1021> E-mail: e.kudoyarov@yandex.ru

К статье Я.В. Валовой и соавт.
To the article by Yana V. Valova et al.

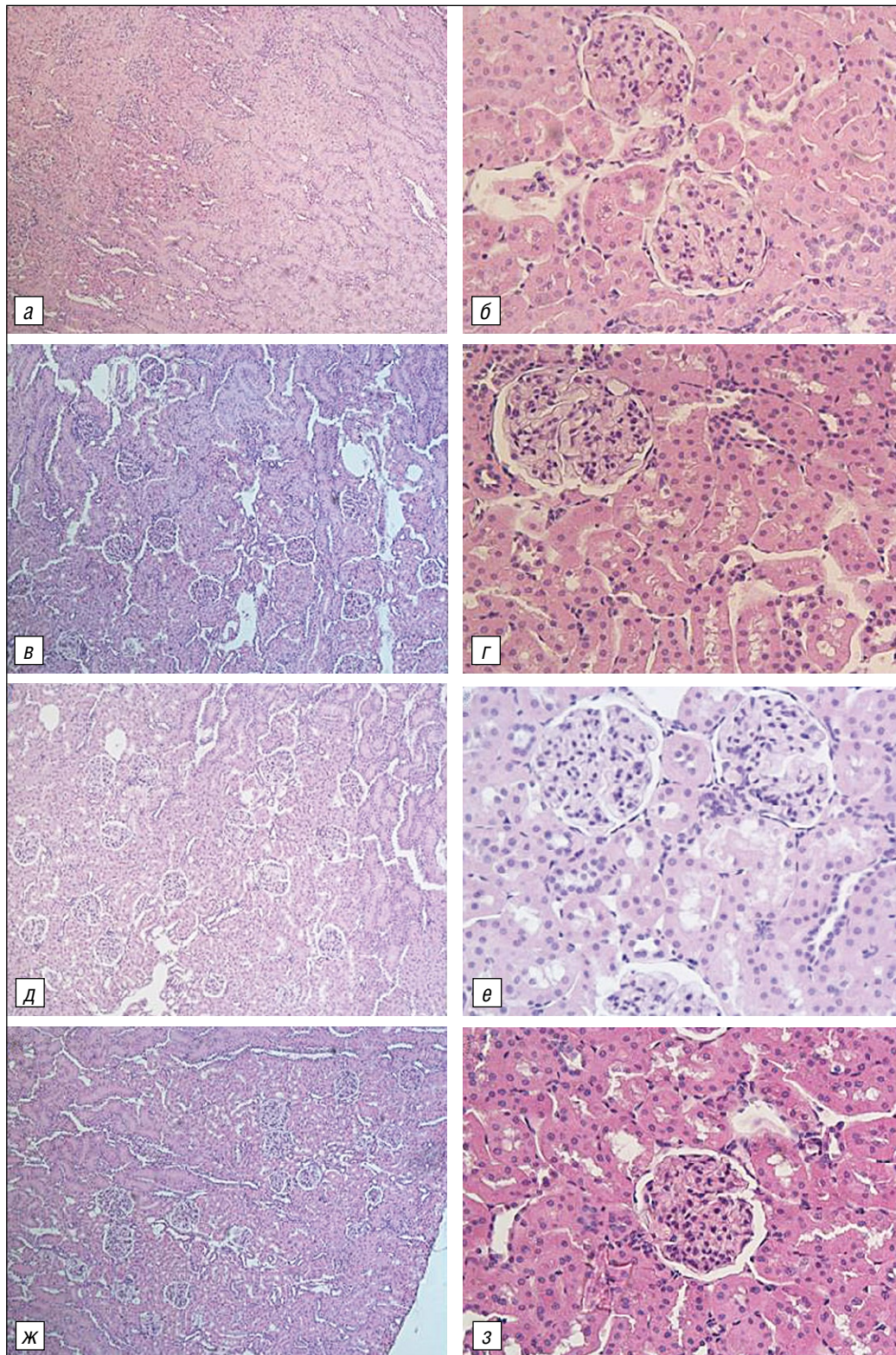


Рис. 2. Кортик и часть мозгового вещества крыс контрольной группы (а), группы 1 (б), группы 2 (д), группы 3 (ж). Окрашивание гематоксилин-эозином. Увеличение 100×. Почечные тельца и канальцы почек крыс контрольной группы (б), группы 1 (г), группы 2 (е), группы 3 (з). Окрашивание гематоксилин-эозином. Увеличение 400×.

Fig. 2. Cortex and part of the cerebral cortex of rats of the control group (a), group 1 (б), group 2 (д), group 3 (ж). Hematoxylin and eosin staining. 100×. Renal corpuscles and renal tubules of rats of the control group (б), group 1 (г), group 2 (е), group 3 (з). Hematoxylin and eosin staining. 400×.