



Динамика экспрессии генов глутатион-S-трансфераз при подостром поражении печени акриламидом и на фоне коррекции

Мухаммадиева Г.Ф., Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Валова Я.В., Репина Э.Ф., Кудояров Э.Р.

ФБУН «Уфимский НИИ института медицины труда и экологии человека», (ул. Степана Кувыкина, 94, Уфа, 450106, Россия)

Для цитирования: Мухаммадиева Г.Ф., Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Валова Я.В., Репина Э.Ф., Кудояров Э.Р. Динамика экспрессии генов глутатион-S-трансфераз при подостром поражении печени акриламидом и на фоне коррекции. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;212(4): 107–112. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-212-4-107-112

✉ Для переписки:
Мухаммадиева
Гузель Фанисовна
ufniimt@mail.ru

Мухаммадиева Гузель Фанисовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Якупова Татьяна Георгиевна, младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Каримов Денис Олегович, к.м.н., заведующий отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Валова Яна Валерьевна, младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Репина Эльвира Фаридовна, к.м.н., старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Кудояров Эльдар Ренатович, младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Резюме

Цель исследования заключалась в изучении влияния комплексных соединений оксиметилурацила на экспрессию генов глутатион-S-трансфераз в печени крыс в условиях ее токсического поражения акриламидом.

Материалы и методы. Животные были распределены на 5 групп по 6 особей в каждой: контроль, акриламид, акриламид + комплексное соединение оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой (МГ-1), акриламид + комплексное соединение оксиметилурацила с сукцинатом натрия (МГ-2), акриламид + комплексное соединение оксиметилурацила с ацетилцистеином (МГ-10). Препараты вводили за 1 час до воздействия токсиканта в течение 28 дней. После окончания эксперимента животных декапировали, извлекали печень, которую замораживали в жидком азоте. Для анализа экспрессии генов использовали метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени.

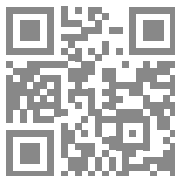
Результаты. Воздействие акриламида существенно не влияло на экспрессию генов *GSTP1*, *GSTT1* и *GSTM1* в печени крыс, однако для всех исследуемых генов наблюдалась тенденция к повышению значения изучаемого показателя. Профилактическое введение комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия (МГ-2) приводило к статистически значимому снижению транскрипционной активности гена *GSTM1* в условиях токсического поражения печени акриламидом.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о способности препарата МГ-2 подавлять экспрессию гена *GSTM1* в печени крыс при воздействии акриламида. Необходимы дальнейшие исследования для более глубокого понимания молекулярных механизмов токсичности, вызванной акриламидом и разработки новых терапевтических подходов к лечению патологии печени.

Ключевые слова: акриламид; поражение печени; комплексные соединения оксиметилурацила; экспрессия генов; глутатион-S-трансферазы

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: TTSIXN



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-212-4-107-112>

Dynamics of glutathione-S-transferase gene expression in subacute liver damage caused by acrylamide and on the background of correction

G. F. Mukhammadiyeva, T. G. Yakupova, D. O. Karimov, Ya. V. Valova, E. F. Repina, E. R. Kudoyarov

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, (94 Stepana Kuvykina Str., Ufa, 450106, Russia)

For citation: Mukhammadiyeva G. F., Yakupova T. G., Karimov D. O., Valova Ya. V., Repina E. F., Kudoyarov E. R. Dynamics of glutathione-S-transferase gene expression in subacute liver damage caused by acrylamide and on the background of correction. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023;212(4): 107–112. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-212-4-107-112

✉ *Corresponding author:*

Guzel F. Mukhammadiyeva
ufniimt@mail.ru

Guzel F. Mukhammadiyeva, Candidate of Biological Sciences, Senior researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000-0001-8798-0846

Tatyana G. Yakupova, Junior researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000-0002-1236-8246

Denis O. Karimov, Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000-0003-0039-6757

Yana V. Valova, Junior researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000-0001-6605-9994

Elvira F. Repina, Candidate of Medical Sciences, Senior researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000-0001-8798-0846

Eldar R. Kudoyarov, Junior researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000-0002-2092-1021

Summary

The aim of the study was to study the effect of oxymethyluracil complex compounds on the expression of glutathione-S-transferase genes in rat liver under conditions of its toxic damage by acrylamide.

Materials and methods. The animals were divided into 5 groups of 6 animals each: control, acrylamide, acrylamide + complex compound of oxymethyluracil with ascorbic acid (MG-1), acrylamide + complex compound of oxymethyluracil with sodium succinate (MG-2), acrylamide + complex compound of oxymethyluracil with acetylcysteine (MG-10). The drugs were administered 1 hour before exposure to the toxicant for 28 days. After the end of the experiment, the animals were decapitated, the liver was removed, which was frozen in liquid nitrogen. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction was used to analyze gene expression.

Results. Exposure to acrylamide did not significantly affect the expression of the *GSTP1*, *GSTT1*, and *GSTM1* genes in the liver of rats, however, for all the studied genes, there was a tendency to increase the value of the studied indicator. Prophylactic administration of a complex compound of oxymethyluracil with sodium succinate (MG-2) led to a statistically significant decrease in the transcriptional activity of the *GSTM1* gene under conditions of toxic damage to the liver by acrylamide.

Conclusion. The results of the study indicate the ability of the MG-2 drug to suppress the expression of the *GSTM1* gene in the liver of rats when exposed to acrylamide. Further research is needed to better understand the molecular mechanisms of acrylamide-induced toxicity and to develop new therapeutic approaches to treat liver pathology.

Keywords: acrylamide; liver damage; complex compounds of oxymethyluracil; gene expression; glutathione-S-transferase

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Акриламид представляет собой токсичное соединение, получаемое при высокотемпературной переработке пищевых продуктов и широко используемое в различных отраслях промышленности и лабораторных процессах. Акриламид является

результатом реакции Майяра, который образуется при термической обработке крахмалистых пищевых продуктов, содержащих восстановленные сахара и аминокислоту аспарагин. Высокая температура и недостаток воды при обработке

пищевых продуктов способствуют образованию акриламида [1]. Акриламид был обнаружен в пище, приготовленной путем нагревания или жарения на сковороде, в духовке, микроволновой печи, но не был обнаружен в вареных и приготовленных на пару продуктах [2, 3]. Акриламид встречается во многих богатых углеводами продуктах, в том числе в жареном картофеле, корнеплодах, хлебобулочных изделиях, чипсах, пирожных, хлопьях и кофе [4, 5]. Таким образом, акриламид может присутствовать в ежедневном рационе большинства людей.

Токсическое действие акриламида в значительной мере опосредуется образованием генотоксичных метаболитов и окислительным стрессом. В печени в процессе детоксикации акриламид метаболизируется ферментом цитохромом P450 2E1 (CYP2E1) до более токсичного глицидамида. В ходе второй фазы биотрансформации, акриламид и глицидамид соединяются с восстановленным глутатионом реакцией прямой конъюгации, катализируемой ферментами семейства глутатион-S-трансфераз, что приводит к образованию конъюгатов глутатиона [6]. Биотрансформация акриламида вызывает нарушение окислительно-восстановительного баланса. Нарушенный окислительно-восстановительный статус, обусловленный воздействием акриламида, может вызывать цитотоксические и генотоксические эффекты

[7]. Поскольку печень является основным местом биотрансформации акриламида, в последние годы появились данные о его гепатотоксичности, основанные на исследованиях, проведенных на лабораторных крысах [8–10]. Хотя метаболизм акриламида у млекопитающих был тщательно изучен, некоторые аспекты вклада глутатион-S-трансфераз в данный процесс и возможные механизмы, с помощью которых эти ферменты могут защищать от ежедневного воздействия этого токсиканта, остаются неясными.

В настоящее время особый интерес в качестве источника безопасных и эффективных лекарственных препаратов представляют пиримидиновые соединения. Известно, что производные пиримидина проявляют гепатопротекторное действие при различных интоксикациях. К активным представителям данной группы относится оксиметилурацил (5-гидрокси-6-метилурацил), у которого были выявлены антиоксидантные и антитоксические свойства. При этом комплексные соединения оксиметилурацила проявляют лучшее гепатозащитное действие [11, 12].

Целью исследования являлось изучение влияния комплексных соединений оксиметилурацила на экспрессию генов глутатион-S-трансфераз на экспериментальной модели подострого поражения печени акриламидом.

Материалы и методы

В работе использовали самок белых беспородных крыс (190–192 г). Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Все крысы были разделены на 5 групп (по 6 особей в каждой): 1 – контрольная группа, получавшая дистиллированную воду; 2 – группа, получавшая внутрижелудочно акриламид в виде 0,2% водного раствора в дозе 20 мг/кг веса; 3 – группа, получавшая акриламид и внутрижелудочно комплексное соединение оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой (МГ-1) в виде 0,5% водного раствора в дозе 50 мг/кг; 4 – группа, получавшая акриламид и внутрижелудочно комплексное соединение оксиметилурацила с сукцинатом натрия (МГ-2) в виде 0,5% водного раствора в дозе 50 мг/кг; 5 – группа, получавшая акриламид и внутрижелудочно комплексное соединение оксиметилурацила с ацетилцистеином (МГ-10) в виде 5% водного раствора в дозе 500 мг/кг. Комплексные соединения были синтезированы в Уфимском Институте химии УФИЦ РАН. Исследуемые препараты применялись животным за 1 час до введения акриламида. Токсикант и комплексные соединения вводили крысам еже-

дневно в течение 28 дней. Крыс выводили из эксперимента путем декапитации под CO₂-наркозом с соблюдением всех требований и биоэтических норм, быстро забирали печень и замораживали в жидком азоте.

Выделение тотальной РНК из гомогенизированных образцов производили с помощью реагента ExtractRNA (ЗАО Евrogen, Российская Федерация) по протоколу производителя. С пробками РНК проводилась реакция обратной транскрипции при помощи набора реактивов MMLV RT kit (ЗАО Евrogen, Российская Федерация). Для определения уровня транскрипционной активности генов использовали метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на амплификаторе Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия). В качестве референсного был выбран ген *GAPDH*.

Статистическую обработку материалов выполняли с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 26.0. Для сравнения групп применяли Н-критерий Краскела-Уоллиса. Данные представлены как медиана, первый и третий квартили (Me [Q1; Q3]). Критическим уровнем статистической значимости принималось значение $p < 0,05$.

Результаты

Мы исследовали действие комплексных препаратов оксиметилурацила с сукцинатом натрия, аскорбиновой кислотой и ацетилцистеином на экспрессию генов *GSTP1*, *GSTT1* и *GSTM1* в печени крыс при интоксикации акриламидом. Полученные результаты

были суммированы и приведены на рисунках 1–3 в виде кратности изменения экспрессии исследуемых генов. При анализе транскрипционной активности гена *GSTP1* в печени экспериментальных животных обнаружены статистически значимые

Рисунок 1. Экспрессия гена *GSTP1* в печени крыс при подостром воздействии акриламида и на фоне коррекции исследуемыми соединениями

Figure 1. Expression of the *GSTP1* gene in the liver of rats under subacute exposure to acrylamide and against the background of correction with the studied compounds

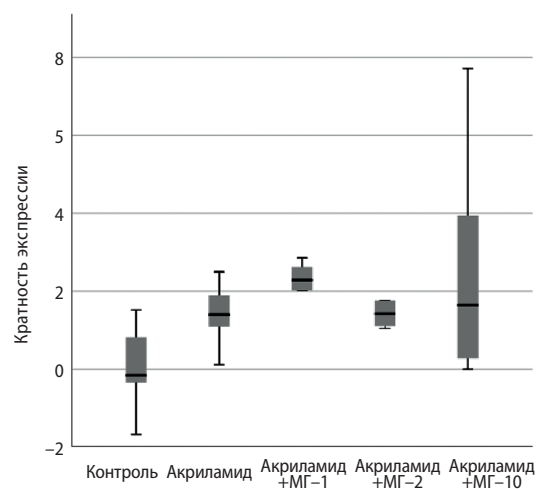


Рисунок 2. Экспрессия гена *GSTT1* в печени крыс при подостром воздействии акриламида и на фоне коррекции исследуемыми соединениями

Figure 2. Expression of the *GSTT1* gene in the liver of rats under subacute exposure to acrylamide and against the background of correction with the studied compounds

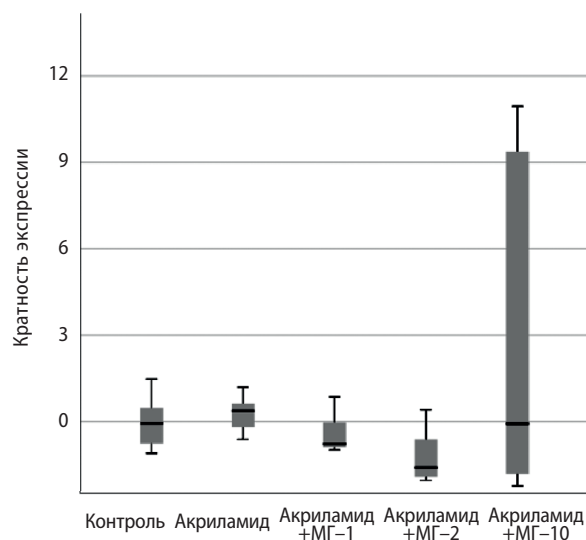
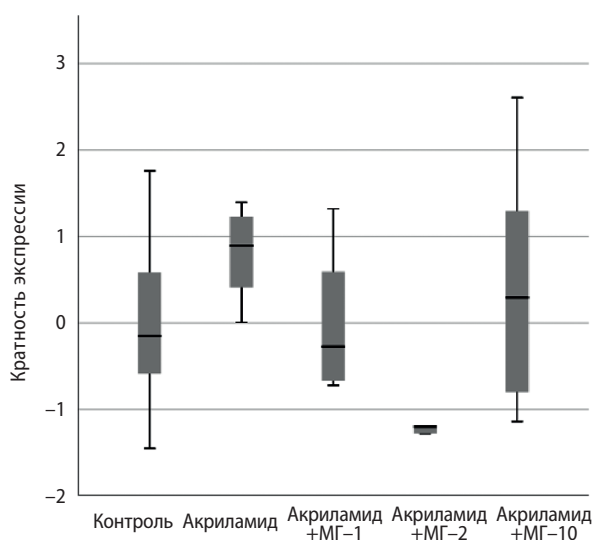


Рисунок 3. Экспрессия гена *GSTM1* в печени крыс при подостром воздействии акриламида и на фоне коррекции исследуемыми соединениями

Figure 3. Expression of the *GSTM1* gene in the liver of rats under subacute exposure to acrylamide and against the background of correction with the studied compounds



различия ($K=11,06$; $p=0,026$) (рис. 1). Наибольшее значение экспрессии данного гена установлено в группе крыс, получавших МГ-1 и составило $2,28$ [$1,76$; $2,68$], что было значимо выше, чем в группе контроля ($-0,16$ [$-0,68$; $0,99$]) ($p=0,015$), но при этом значительно не отличалось от уровня в группе животных, которым вводился только акриламид ($p>0,05$). Применение препаратов МГ-2 и МГ-10 не вызвало существенных изменений кратности экспрессии ($p>0,05$), показатели составили $1,42$ [$1,09$; $2,18$] и $1,64$ [$0,21$; $4,88$] соответственно. Наряду с этим введение акриламида сопровождалось незначительным по сравнению с контрольной группой повышением активности гена *GSTP1* до $1,4$ [$0,85$; $2,04$] ($p=0,491$).

Анализ изменения уровня экспрессии гена *GSTT1* в проведенном эксперименте не показал статистически значимых различий ($K=6,78$; $p=0,148$) (рис. 2). Проведенные межгрупповые парные сравнения также не позволили выявить статистически значимых результатов. Так, после применения акриламида наблюдался незначительный рост экспрессии исследуемого гена до $0,38$ [$-0,29$; $0,77$] относительно группы контроля ($-0,06$ [$-0,84$; $0,73$]) ($p>0,05$). В ответ на введение животным МГ-1 и МГ-10 транскрипционная активность

гена *GSTT1* практически не изменялась, по сравнению с крысами, получавшими только акриламид, составив $-0,77$ [$-0,91$; $0,2$] и $-0,07$ [$-1,91$; $9,76$] соответственно. Тогда как под влиянием МГ-2 уровень экспрессии изучаемого гена имел тенденцию к снижению, составив $-1,59$ [$-1,94$; $-0,36$], однако данный показатель не достиг статистической значимости ($p>0,05$).

Количественная оценка изменения уровня экспрессии гена *GSTM1* в печени крыс выявила статистически значимые различия ($K=10,94$; $p=0,027$) (рис. 3). Применение МГ-2 сопровождалось отчетливым снижением кратности экспрессии исследуемого гена до $-1,2$ [$-1,4$; $-0,86$] по отношению к аналогичному показателю у животных, получавших только акриламид ($p=0,013$). При попарном сравнении других групп статистически значимых различий не выявлено ($p>0,05$). При введении акриламида крысам отмечалось некоторое повышение экспрессии до $0,89$ [$0,31$; $1,27$] по сравнению с контролем $-0,15$ [$-0,8$; $0,88$] ($p>0,05$). Вместе с тем при использовании МГ-1 и МГ-10 наблюдалась тенденция к небольшому снижению транскрипционной активности гена *GSTM1*, показатели составили $-0,28$ [$-0,68$; $0,77$] и $0,29$ [$-0,89$; $1,62$] соответственно ($p>0,05$).

Обсуждение

Глутатион-S-трансферазы являются основными защитными ферментами антиоксидантной ферментативной системы. Разнообразные органические ксенобиотики, лекарственные средства и токсичные соединения метаболизируются глутатион-S-трансферазами [13]. Вклад ферментов глутатион-S-трансфераз в метаболизм ксенобиотиков определяется не только их активностью по отношению к субстрату, но и уровнем экспрессии генов. Изменения в экспрессии этих генов могут отражать нарушение клеточной защиты и могут служить маркерами индуцированной акриламидами токсичности [14].

В данном исследовании нами не были выявлены статистически значимые изменения уровня экспрессии генов глутатион-S-трансфераз (*GSTP1*, *GSTT1* и *GSTM1*) при воздействии акриламида, однако для всех исследуемых генов наблюдалась тенденция к повышению значения изучаемого показателя. В то же время показана способность комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия (МГ-2) подавлять экспрессию гена *GSTM1* в условиях токсического поражения печени акриламидом. Согласно полученным ранее данным введение мышам акриламида значительно индуцировало уровни экспрессии генов, связанных с окислительным фосфорилированием, что коррелировало с повышенными уровнями АТФ, указывая на повышенную потребность печени в энергии во время воздействия акриламида [15]. Эти данные свидетельствуют о необходимости

применения препаратов, содержащих антигипоксанты для лучшего гепатопротекторного эффекта. Воздействие акриламида на клетки человека вызывает повышение уровней канцерогенности и токсичности, а также нарушение метаболизма лекарственных препаратов, возможно, из-за комплексного воздействия на изоферменты P450 и глутатион-S-трансферазы.

Установленный в настоящей работе характер изменения профиля экспрессии генов глутатион-S-трансфераз в печени крыс при воздействии акриламида согласуется с данными других авторов. Так, воздействие на клеточную линию H4IIE (гепатома крыс) акриламида в концентрации $4,5$ мМ повышало общую активность глутатион-S-трансферазы и транскрипцию гена *GSTP1* [16]. Сообщалось, что акриламид индуцирует окислительный стресс, реагируя с глутатионом через глутатион-S-трансферазу и, таким образом, снижает его уровень в клетке [17]. Реакция между акриламидом и глутатионом приводит к образованию глутатион-S-конъюгатов. Высокая активность глутатион-S-трансферазы наряду с увеличением концентрации акриламида может быть следствием повышенной скорости конъюгации акриламида с глутатионом в печени. В ряде экспериментальных работ было также показано увеличение активности глутатион-S-трансферазы при применении акриламида в изолированных гепатоцитах крыс [18], в печени крыс [19] и печени мышей в связи со снижением уровня восстановленного глутатиона [15].

Заключение

В условиях проведенного эксперимента акриламид существенно не влиял на экспрессию генов *GSTP1*, *GSTT1* и *GSTM1*, однако прослеживалась тенденция к ее увеличению для всех исследуемых генов. Профилактическое введение комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия (МГ-2) приводило к значимому снижению

экспрессии гена *GSTM1* в условиях токсического поражения печени акриламидом. Необходимы дальнейшие исследования для более глубокого понимания молекулярных механизмов токсичности, вызванной акриламидом и разработки новых терапевтических подходов к лечению патологии печени.

Литература | References

1. Rifai L., Saleh F. A. A Review on Acrylamide in Food: Occurrence, Toxicity, and Mitigation Strategies. *Int J Toxicol.* 2020;39(2):93–102. doi: 10.1177/1091581820902405.
2. Törnqvist M. Acrylamide in food: the discovery and its implications: a historical perspective. *Adv Exp Med Biol.* 2005;561:1–19. doi: 10.1007/0-387-24980-X_1.
3. Keramat J., LeBail A., Prost C., Soltanizadeh N. Acrylamide in foods: Chemistry and analysis. A review. *Food Bioprocess. Technol.* 2011;4:340–363. doi: 10.1007/s11947-010-0470-x.
4. Tareke E., Rydberg P., Karlsson P. et al. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem.* 2002;50(17):4998–5006. doi: 10.1021/jf020302f.
5. Pan M., Liu K., Yang J. et al. Review of Research into the Determination of Acrylamide in Foods. *Foods.* 2020;9(4):524. doi: 10.3390/foods9040524.
6. Katen A.L., Roman S.D. The genetic consequences of paternal acrylamide exposure and potential for amelioration. *Mutat Res.* 2015;777:91–100. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2015.04.008.
7. Prasad S.N., Muralidhara. Evidence of acrylamide induced oxidative stress and neurotoxicity in *Drosophila melanogaster* – its amelioration with spice active enrichment: relevance to neuropathy. *Neurotoxicology.* 2012;33(5):1254–1264. doi: 10.1016/j.neuro.2012.07.006.
8. Acaroz U., Ince S., Arslan-Acaroz D. et al. The ameliorative effects of boron against acrylamide-induced oxidative stress, inflammatory response, and metabolic changes in rats. *Food Chem Toxicol.* 2018;118:745–752. doi: 10.1016/j.fct.2018.06.029.
9. Karimi M.Y., Fatemi I., Kalantari H. Ellagic Acid Prevents Oxidative Stress, Inflammation, and Histopathological Alterations in Acrylamide-Induced Hepatotoxicity in Wistar Rats. *J Diet Suppl.* 2020;17(6):651–662. doi: 10.1080/19390211.2019.1634175.
10. Sun R., Chen W., Cao X. et al. Protective effect of curcumin on acrylamide-induced hepatic and renal impairment in rats: involvement of CYP2E1. *Nat Prod Commun.* 2020;15(3):1–9. doi: 10.1177/1934578X20910548.
11. Mushkin V.A., Bakirov A.B., Repina E.F. et al. Study the effectiveness of oxymethyluracil as a means hepatoprotective. *Occupational health and human ecology.* 2015;2:55–60. (In Russ.)
12. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф. и соавт. Изучение эффективности оксиметилурацила в качестве гепатозащитного средства. Медицина труда и экология человека. 2015;2:55–60.
13. Myshkin V.A., Enikeev D.A., Srubilin D.V., Gimadieva A.R. Experimental evaluation of pyrimidine derivatives using models of the toxically damaged liver: a review. *Scientific Review. Medical Sciences.* 2016;3:88–98. (In Russ.)
14. Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Срубиллин Д.В., Гимадиева А.Р. Экспериментальная оценка производных пиримидина на моделях токсического поражения печени: обзор // Научное обозрение. Медицинские науки. 2016;3:88–98.
15. Halliwell B., Gutteridge J.M. Free radicals in biology and medicine. USA: Oxford University Press, 2015.
16. Dasari S., Ganjavi M.S., Meriga B. Glutathione S-transferase is a good biomarker in acrylamide induced neurotoxicity and genotoxicity. *Interdiscip Toxicol.* 2018;11(2):115–121. doi: 10.2478/intox-2018-0007.
17. Lee T., Manjanatha M.G., Aidoo A. et al. Expression analysis of hepatic mitochondria-related genes in mice exposed to acrylamide and glycidamide. *J Toxicol Environ Health A.* 2012;75(6):324–339. doi: 10.1080/15287394.2012.668160.
18. Marković Filipović J., Miler M., Kojić D. et al. Effect of Acrylamide Treatment on Cyp2e1 Expression and Redox Status in Rat Hepatocytes. *Int J Mol Sci.* 2022;23(11):6062. doi: 10.3390/ijms23116062.
19. Azari A., Shokrzadeh M., Zamani E. et al. Cerium oxide nanoparticles protects against acrylamide induced toxicity in HepG2 cells through modulation of oxidative stress. *Drug Chem. Toxicol.* 2019;42:54–59. doi: 10.1080/01480545.2018.1477793.
20. Awad M.E., Abdel-Rahman M.S., Hassan S.A. Acrylamide toxicity in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. In Vitro.* 1998;12:699–704. doi: 10.1016/S0887-2333(98)00051-4.
21. Yousef M.I., El-Demerdash F.M. Acrylamide induced oxidative stress and biochemical perturbations in rats. *Toxicology.* 2006;219:133–141. doi: 10.1016/j.tox.2005.11.008.