



Профилактика гепатотоксичности алюминия комплексом окисленного пектина и оксиметилурацила: экспериментальное исследование у крыс

Якупова Т. Г.¹, Гизатуллина А. А.¹, Каримов Д. Д.^{1,2}, Мухаммадиева Г. Ф.¹, Хуснутдинова Н. Ю.¹, Смолянкин Д. А.¹, Зимин Ю. С.², Кутлугильдина Г. Г.², Каримов Д. О.^{1,3}

¹ Федеральное бюджетное учреждение науки «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», (ул. Степана Кувыкина, дом 94, Уфа, 450106, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уфимский университет науки и технологий», (ул. Заки Валиди, д. 32, Уфа, 450076, Россия)

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н. А. Семашко», (ул. Воронцово Поле, д. 12, стр. 1, Москва, 105064, Россия)

Для цитирования: Якупова Т. Г., Гизатуллина А. А., Каримов Д. Д., Мухаммадиева Г. Ф., Хуснутдинова Н. Ю., Смолянкин Д. А., Зимин Ю. С., Кутлугильдина Г. Г., Каримов Д. О. Профилактика гепатотоксичности алюминия комплексом окисленного пектина и оксиметилурацила: экспериментальное исследование у крыс. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2025;(8): 175–194 doi: 10.31146/1682-8658-ecg-240-8-175-194

✉ Для переписки:

Якупова Татьяна

Георгиевна

tanya.kutlina.92@mail.ru

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

Гизатуллина Алина Анваровна, младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Каримов Денис Дмитриевич, к. б. н., заведующий лабораторией генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Мухаммадиева Гузель Фанисовна, к. б. н., старший сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Хуснутдинова Надежда Юрьевна, научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Смолянкин Денис Анатольевич, научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных

Зимин Юрий Степанович, д. х. н., профессор кафедры физической химии и химической экологии

Кутлугильдина Галия Гаязовна, к. х. н., доцент кафедры физической химии и химической экологии

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

Резюме

Цель исследования — экспериментально оценить профилактический эффект комплекса окисленного пектина и оксиметилурацила при хронической гепатотоксичности алюминия у крыс по молекулярным и биохимическим показателям.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на 56 аутбредных крысах-самках при пероральном введении гидроксида алюминия в дозе 15 мг/кг и хелатного комплекса окисленного пектина с оксиметилурацилом (50 мг/кг) в различных профилактических и постэкспозиционных режимах в течение 3–4 месяцев. Экспрессию генов металлотионеинов (*Mt1*, *Mt2*, *Mt3*) и транспортеров цинка (*Zip1*, *Zip8*) в ткани печени определяли методом ПЦР в реальном времени с использованием специфичных праймеров, интеркалирующего красителя SYBR Green и референтного гена *Gapdh*. В сыворотке крови оценивали активность АСТ, АЛТ, ЩФ, ЛДГ; статистический анализ проводили в пакете IBM SPSS Statistics 21 с применением однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) при критическом уровне значимости $p=0,05$.

Результаты. В нашем исследовании хроническое воздействие алюминия сопровождалось повышением экспрессии гена *Zip1* в печени, тогда как непрерывное введение комплекса окисленного пектина с оксиметилурацилом нормализовало её до контрольных значений; экспрессия *Zip8* и генов металлотионеинов *Mt1a*, *Mt2a* и *Mt3a* статистически значимо не изменялась между группами. На биохимическом уровне данный комплекс в профилактическом режиме способствовал снижению активности АСТ и ЛДГ.

Заключение. Комплекс окисленного пектина с оксиметилурацилом в модели хронического воздействия гидроксида алюминия у крыс нормализует экспрессию гена *Zip1* и снижает активность АСТ и ЛДГ. Для уточнения органопротекторных механизмов комплекса требуются дальнейшие исследования с расширенным набором морфологических и молекулярных маркеров.

EDN: GBFBHE



Ключевые слова: гидроксид алюминия, гепатотоксичность, комплекс окисленного пектина с оксиметилурацилом, *Zip1*, металлотионеины, биохимические показатели крови, крысы

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-240-8-175-194>

Prevention of aluminum-induced hepatotoxicity by a complex of oxidized pectin and oxymethyluracil: an experimental study in rats

T. G. Yakupova¹, A. A. Gizatullina¹, D. D. Karimov^{1,2}, G. F. Muhammadieva¹, N. Yu. Khusnutdinova¹, D. A. Smolyankin¹, Yu. S. Zimin², G. G. Kutlugildina², D. O. Karimov^{1,3}

¹ Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, (94, Stepana Kuvykina Str., Ufa, 450106, Russia)

² Ufa University of Science and Technology, (32, Zaki Validi Str., Ufa, 450076, Russia)

³ N.A. Semashko National Research Institute of Public Health, (12, buld 1, Vorontsovo Pole Str., Moscow, 105064, Russia)

For citation: Yakupova T. G., Gizatullina A. A., Karimov D. D., Muhammadieva G. F., Khusnutdinova N. Yu., Smolyankin D. A., Zimin Yu. S., Kutlugildina G. G., Karimov D. O. Prevention of aluminum-induced hepatotoxicity by a complex of oxidized pectin and oxymethyluracil: an experimental study in rats. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2025;(8): 175–194. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-240-8-175-194

✉ **Corresponding author:**

Tatyana G. Yakupova
tanya.kutlina.92@mail.ru

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

Alina A. Gizatullina, Junior researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000–0002–7321–0864

Denis D. Karimov, Candidate of Biological Sciences, Head of the Genetics Laboratory, Department of Toxicology and Genetics, with an experimental laboratory animal clinic; ORCID: 0000–0002–1962–2323

Guzel F. Muhammadieva, Candidate of Biological Sciences, Leading researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000–0002–7456–4787

Nadezhda Yu. Khusnutdinova, Researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000–0001–5596–8180

Denis A. Smolyankin, Researcher at the Department of Toxicology and Genetics with The Experimental Clinics for Laboratory Animals; ORCID: 0000–0002–7957–2399

Yuri S. Zimin, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Department of Physical Chemistry and Chemical Ecology; ORCID: 0000–0002–3885–041X

Galiya G. Kutlugildina, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Department of Physical Chemistry and Chemical Ecology; ORCID: 0000–0001–7672–621X

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

Summary

Objective — The aim of the study was to experimentally assess the preventive effect of a complex of oxidized pectin and oxymethyluracil on chronic aluminum-induced hepatotoxicity in rats based on molecular and biochemical parameters.

Materials and Methods. The experiment was conducted on 56 outbred female rats that received oral administration of aluminum hydroxide at a dose of 15 mg/kg and a chelate complex of oxidized pectin with oxymethyluracil (50 mg/kg) under various preventive and post-exposure regimens for 3–4 months. The expression of metallothionein genes (*Mt1*, *Mt2*, *Mt3*) and zinc transporter genes (*Zip1*, *Zip8*) in liver tissue was determined by real-time PCR using specific primers, SYBR Green intercalating dye, and the reference gene *Gapdh*. Serum activity of AST, ALT, ALP, and LDH was measured; statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics 21 software with one-way ANOVA at a critical significance level of $p=0,05$.

Results. In our study, chronic aluminum exposure was associated with an increase in *Zip1* gene expression in the liver, whereas continuous administration of the oxidized pectin–oxymethyluracil complex normalized its expression to control levels. The expression of *Zip8* and metallothionein genes (*Mt1a*, *Mt2a*, *Mt3a*) did not change significantly among the experimental groups. At the biochemical level, this complex, when used preventively, contributed to a reduction in AST and LDH activity.

Conclusion. The oxidized pectin–oxymethyluracil complex in a rat model of chronic aluminum hydroxide exposure normalizes *Zip1* gene expression and reduces AST and LDH activity. Further studies using an expanded set of morphological and molecular markers are required to clarify the organoprotective mechanisms of the complex.

Keywords: aluminum hydroxide, hepatotoxicity, oxidized pectin–oxymethyluracil complex, *Zip1*, metallothioneins, blood biochemical parameters, rats

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

Введение

Ранее по теме научно-исследовательской работы были подготовлены промежуточные отчеты: «Оценка токсического воздействия кадмия при подострой и субхронической моделях эксперимента» (этап 1, 2021 г.; интернет-номер / Регистрационный номер 221121500175–1/221122000309–2; регистрационный номер НИОКТР 121062100057–1); «Оценка токсического воздействия кадмия при субхронической модели эксперимента с периодом ремиссии» (этап 2, 2022 г.; интернет-номер/Регистрационный номер И223011700045–7/223012000079–6; регистрационный номер НИОКТР 121062100057–1); «Экспериментальное обоснование высокочувствительных маркеров воздействия токсичных металлов на организм и разработка мер профилактики» (этап 3, 2023 г.; интернет-номер / Регистрационный номер И223011700045–7 / 223012000079–6; регистрационный номер НИОКТР 121062100057–1); «Изучение патогенетических механизмов токсического воздействия алюминия в условиях хронического эксперимента» (этап 4, 2024 г.; интернет-номер/ Регистрационный номер И224120600199–6/ 225011700913–7 регистрационный номер НИОКТР 121062100057–1).

Проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами сохраняет исключительную актуальность, поскольку данные соединения способны накапливаться в биосфере и оказывать неблагоприятное влияние на живые организмы даже при относительно низких концентрациях. Индустриальное развитие, связанное с деятельностью горнодобывающих, металлургических, химических и энергетических предприятий, сопровождается ростом содержания токсичных элементов в воздухе, воде и почве. Это приводит к их постепенному накоплению в растительных и животных тканях и, в конечном итоге, к поступлению в организм человека.

Особенность тяжелых металлов заключается в их способности проникать внутрь клеток и образовывать прочные комплексы с белками и другими биомолекулами. В результате нарушается работа ферментных систем, искажается метаболизм, формируется дефицит жизненно необходимых микроэлементов. При длительном воздействии это может приводить к хроническим заболеваниям, а в ряде случаев — оказывать канцерогенное действие.

Дополнительной проблемой является широкое использование соединений тяжелых металлов в быту и промышленности. Так, некоторые из них входят в состав косметических средств, пищевых добавок, применяются в качестве упаковочных материалов и в оборудовании для приготовления пищи, что делает источники поступления разнообразными и трудно контролируемыми.

Несмотря на накопленный объем знаний о токсичности этих элементов, во многом остаются

неясными внутриклеточные механизмы, посредством которых они вызывают структурные и функциональные изменения. Уточнение этих процессов имеет важное значение для разработки мер профилактики и защиты организма, а также для поиска потенциальных терапевтических решений.

В настоящем отчете в качестве примеров наиболее значимых тяжелых металлов были рассмотрены кадмий и алюминий. Оба элемента характеризуются способностью к кумуляции в организме, высокой токсичностью и выраженным влиянием на обмен эссенциальных микроэлементов.

Кадмий относится к редким элементам и в природных условиях практически не встречается в виде самородного металла. Чаще всего он присутствует в составе сульфидов, оксидов и карбонатов, ассоциированных со свинцовыми, медными и цинковыми рудами. В процессе переработки этих руд кадмий накапливается в побочных продуктах металлургического производства, откуда затем извлекается. В 2019 году мировой выпуск кадмия составил около 25 тыс. тонн; ведущими производителями являлись Китай, Южная Корея и Япония, совокупно обеспечивающие порядка 60% глобального объема [1]. На долю России приходится примерно 5% мирового производства. Среди стран СНГ крупнейшими предприятиями по выпуску кадмия высокой чистоты являются ЗАО «Южполиметалл» и компания «Казцинк» (Казахстан), выпускающие до 1200 тонн в год.

В России весь объем производства кадмия обеспечивается цинковыми предприятиями ПАО «Электроцинк» (Владикавказ) и АО «Челябинский цинковый завод» (Челябинск). Потенциальный объем производства кадмия на таких заводах достигает 600 тонн ежегодно. Челябинское предприятие примерно наполовину использует местное сырье, поступающее с Учалинского и Башкирского медно-серного комбинатов (Республика Башкортостан), Гайского ГОКа (Оренбургская область) и Александринской горнорудной компании (Челябинская область). Большая часть российского кадмия поставляется за рубеж: по данным Федеральной таможенной службы, экспорт этого металла в 2019 году превысил 500 тонн. Основными направлениями экспорта выступают Индия (59%), Великобритания (18%) и Китай (17,5%) [2]. Главное применение кадмия в России и в мире связано с производством никель-кадмиевых аккумуляторов. На территории Российской Федерации такие предприятия расположены в Курске, Подольске, Пскове, Санкт-Петербурге, Саратове, Свирске, Тюмени и Хабаровске. Кроме того, кадмий используется для нанесения антикоррозионных покрытий, производства пигментов, стабилизаторов поливинилхлорида, а также в качестве компонента полупроводников для солнечных элементов.

Исходя из вышеизложенного, становится весьма очевидным, что поступление кадмия в окружающую среду связано с активной деятельностью человека. Показано, что более 80% всего добываемого кадмия расходуется на производство вторичных источников тока и только 15% металла возвращается в производственный цикл [3].

Актуальность проблемы загрязнения кадмием определяется его широким спектром токсического действия. Этот металл поступает в организм человека с воздухом, водой и пищей, накапливается в тканях и вызывает биохимические и физиологические нарушения. Основными формами являются оксид кадмия, поступающий преимущественно через дыхательную систему, и хлорид кадмия, связанный с оральным воздействием. Несмотря на относительно низкую абсорбцию в желудочно-кишечном тракте, при хроническом поступлении кадмий аккумулируется в организме, связывается с металлопротеинами, депонируется в печени и почках, где высвобождается в активной форме и инициирует окислительный стресс и повреждение клеток.

Общеизвестно, что длительное воздействие кадмия приводит, в первую очередь, к нефротоксическому эффекту, но кроме — к нарушению кальциевого обмена и деминерализации костной ткани. Наиболее тяжелым проявлением хронического отравления является болезнь «итай-итай», зарегистрированная в Японии, которая сопровождается поражением почек, остеопорозом и выраженным болевым синдромом [4]. Также установлена связь между экспозицией кадмием и сердечно-сосудистыми нарушениями, при этом риск выше у пациентов с сахарным диабетом [5]. Металл оказывает неблагоприятное влияние на репродуктивную функцию, проникает через плаценту и грудное молоко, создавая угрозу для развития плода и новорожденного [6].

Кадмий признан канцерогеном для человека, однако механизмы его канцерогенности остаются предметом изучения. Рассматриваются эпигенетические изменения, нарушение цинк-зависимых процессов и окислительно-восстановительного гомеостаза [7]. Важным фактором токсичности является его длительный период полувыведения, составляющий десятилетия, что обуславливает кумулятивный характер воздействия.

Алюминий является одним из наиболее распространенных химических элементов в земной коре и широко используется в различных отраслях промышленности, включая производство пищевых продуктов, фармацевтику, косметику и химическую промышленность. Активное применение алюминиевых материалов ведет к многочисленным путям попадания алюминия в организм человека, что определяет необходимость изучения связанных с этим токсикологических рисков. Основными путями поступления алюминия в организм считаются потребление продуктов питания и питьевой воды, воздействие загрязненного атмосферного воздуха, а также контакт с алюминийсодержащими бытовыми и гигиеническими средствами. Особое внимание уделяется миграции алюминия из посуды при приготовлении пищи, особенно при

термической обработке кислых продуктов, а также его присутствию в продуктах промышленной переработки. В совокупности данные факторы обуславливают необходимость системного анализа источников алюминия и оценки его потенциального влияния на здоровье населения.

Алюминий поступает в организм человека через широкий спектр источников, включая пищевые продукты, воду, фармацевтические препараты и профессиональные экспозиции. Использование алюминиевой посуды и упаковочных материалов сопровождается миграцией металла в продукты, что зависит от качества материала, свойств пищи, температуры и условий хранения. Исследования показывают, что кислые и солевые среды значительно усиливают выщелачивание алюминия, а термическая обработка с применением фольги повышает его содержание в готовых блюдах [8–10]. Особую актуальность имеет поступление алюминия в детский организм: он обнаруживается в детских смесях и вакцинах, где алюминийсодержащие адъюванты могут кумулироваться на ранних этапах развития [11].

Среднесуточное поступление алюминия у взрослого населения оценивается в 7–9 мг, а недельная экспозиция в 0,18–0,21 мг/кг м. т. массы тела, что составляет около 20% от допустимого недельного уровня потребления, установленного EFSA [12,13]. У детей показатели существенно выше и могут достигать или превышать безопасные ориентиры, особенно при дополнительном поступлении алюминия из косметических средств и бытовых источников [14].

Техногенные выбросы также формируют значимые пути воздействия: крупнейшие производители алюминия обеспечивают более половины мирового объема эмиссии, что ведет к загрязнению почвы и водных объектов [15]. Важным фактором выступает использование алюмосодержащих коагулянтов в системах очистки воды, которые могут увеличивать остаточные концентрации в питьевой воде.

Профессиональные экспозиции представляют отдельную проблему: при вдыхании алюминиевых аэрозолей (сульфаты, фториды и другие соединения) формируется риск хронических респираторных патологий, включая фиброз и альвеолит [16]. В России и ряде стран предельно допустимая концентрация алюминия в воздухе рабочей зоны установлена на уровне 0,1 мг/м³, что признано критически важным для предупреждения нейротоксических и остеотропных эффектов [17]. Дополнительные источники связаны с медицинскими процедурами, например, парентеральным питанием и диализом, которые могут усиливать системную нагрузку на организм.

Хроническое воздействие алюминия приводит к нарушению микроэлементного гомеостаза и вовлекает ключевые метаболические каскады. Показано, что при длительной экспозиции у лабораторных животных формируется дефицит кальция, магния и фосфора, а также смещается баланс цинка, железа, меди, марганца и селена в костной ткани; это сопровождается усилением костной резорбции губчатого вещества и уменьшением

минеральной плотности, что клинически согласуется с признаками остеопении и повышенной ломкостью скелета [18]. Алюминий индуцирует системный дисбаланс микроэлементов, влияя на костную минерализацию, нейроэндокринную регуляцию и клеточный метаболизм, что необходимо учитывать при оценке долгосрочных рисков [18–20].

Нейротоксический потенциал алюминия рассматривается как один из факторов уязвимости центральной нервной системы. Эпидемиологические наблюдения указывают на связь повышенного содержания элемента в питьевой воде свыше ориентировочной границы и рост относительного риска деменции после учета смешивающих факторов. Перинатальная экспозиция, по данным поведенческих и нейробиологических тестов, сопровождается задержкой постнатального развития, нарушениями сенсомоторики и дисбалансом дофаминергической передачи у потомства мужского пола [21]. Морфологические исследования фиксируют избирательное накопление алюминия в височных отделах коры при болезни Альцгеймера, многократно превышающее контрольные значения [22], а наблюдения за профессиональными когортами выявляют дозозависимое ухудшение эпизодической памяти, согласующееся с кумулятивной нейротоксичностью [23]. Описаны и клинические случаи выраженной аккумуляции в затылочной коре и гиппокампе, что поддерживает гипотезу о регионарной селективности депонирования [24].

Помимо ЦНС, мишенью поражения выступают почки: у пациентов с повышенными уровнями алюминия в плазме отмечаются снижение скорости клубочковой фильтрации и ускоренное прогрессирование почечной недостаточности [25]. В популяционных исследованиях сельских районов с повышенным содержанием элемента в грунтовых водах выявляется его накопление в крови, в том числе у пациентов с хронической болезнью почек [26].

Системная токсичность алюминия реализуется через полиорганные эффекты: нарушается активность ферментных систем, смещается электролитный баланс, запускаются процессы оксидативного повреждения. На экспериментальных моделях введение солей алюминия вызывает признаки гепаторенального синдрома с повышением активности печеночных ферментов и азотистых метаболитов на фоне снижения белковых и липидных показателей; гистопатологически это соответствует коагуляционному некрозу гепатоцитов и тубулоинтерстициальному воспалению, тесно связанным с избыточной генерацией активных форм кислорода [27].

Костная токсичность алюминия обусловлена его способностью нарушать минерализацию: металл откладывается вдоль фронта кальцификации и может замещать кальций в составе минерала, что приводит к остеомалиции; при хроническом поступлении с антацидами или диализатом содержание элемента в кости возрастает на порядок относительно физиологического уровня [28].

В головном мозге транспорт алюминия происходит преимущественно через трансферрин-опосредованный эндоцитоз, что ведет к его избирательному накоплению в гиппокампе

и затылочной коре; это подтверждено аналитическими методами высокой чувствительности. Нейроинвазивный потенциал поддерживается и альтернативным обонятельным маршрутом: высокорастворимые соли, такие как хлорид алюминия, способны поступать в ЦНС через обонятельные структуры, тогда как менее растворимые соединения переносятся ограниченно [29]. Временная динамика нейроглиальных реакций включает раннюю демиелинизацию аксонов и повышение экспрессии глиального фибриллярного белка, сопряженные с активацией PARP-зависимого оксидативного стресса и последующей частичной компенсацией при более длительной экспозиции [30]. Наночастицы оксида алюминия проявляют цитотоксичность в отношении мезенхимальных стволовых клеток с дозозависимой активацией транскрипционных факторов пролиферации и остановкой клеточного цикла, что указывает на эпигенетическую уязвимость пролиферирующих популяций [31].

Ключевым звеном патогенеза выступает нарушение антиоксидантной защиты: ионы алюминия подавляют активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионзависимых ферментов, одновременно усиливая генерацию реактивных форм кислорода и оксида азота; при этом угнетение пути Nrf2/Keap1 способствует накоплению модифицированных белков и липопероксидов и создает предпосылки к ферроптозу, в то время как локальная активация антиоксидантных ферментов рассматривается как частичный компенсаторный ответ. Иммуномодулирующее действие алюминия характеризуется клеточной и тканевой специфичностью: алюмосодержащие адъюванты снижают жизнеспособность макрофагов и астроцитов на фоне роста ROS, при этом продукция провоспалительных цитокинов отличается между линиями клеток, что отражает неоднородность иммунной активации [32].

Эпигенетические эффекты алюминия затрагивают регуляцию метилирования ДНК и модификации гистонов: описано влияние на активность ДНК-метилтрансфераз и TET-ферментов, снижение ацетилирования гистонов через повышение экспрессии гистонацетилацетилаз, сопряженное с уменьшением уровня нейротрофического фактора мозга и активацией NF-κB; это связывают с усилением образования амилоида β и нейровоспалением и с нарушениями профиля микроРНК, ассоциированными с когнитивными дефицитами [33]. Дополнительно показано, что хроническая экспозиция алюминием уменьшает триметилирование H3K4 посредством подавления метилтрансферазы MLL, что связано с нарушением синаптической пластичности гиппокампа и когнитивными расстройствами [34].

В соответствии с многочисленными патогенетическими путями воздействия кадмия и алюминия применяют разные подходы к лечению обусловленного ими повреждения. Основные принципы включают предотвращение поглощения металла, в том числе хелатная терапия, ускорение выведения его из организма и инактивацию биодоступного металла, уже поступившего в организм.

Классическим средством при интоксикации тяжелыми металлами являются хелатирующие агенты. Они связывают ионы металлов в стабильные комплексы и способствуют его выведению.

Антиоксиданты представляют собой вспомогательный инструмент. Известно, что окислительный стресс — одно из центральных звеньев токсичности кадмия; добавление антиоксидантов к хелатной терапии патогенетически оправдано [35].

Рассматриваются также растительные препараты и природные полифенолы в качестве инструмента снижения уровня интоксикации тяжелыми металлами и улучшения состояния организма. Растительные экстракты могут одновременно хелатировать металлы в просвете кишечника, снижая абсорбцию, и обеспечивать антиоксидантную защиту благодаря фенольным соединениям, флавоноидам [36,37].

Имеющиеся терапевтические подходы позволяют частично снизить токсическое воздействие кадмия и алюминия, однако каждый из них имеет ограничения. Хелаторы эффективны для связывания и ускоренного выведения металлов, но сопровождаются риском перераспределения токсиантов и утраты эссенциальных микроэлементов. Антиоксиданты смягчают проявления оксидативного стресса, но сами по себе не устраняют первопричину токсичности. Растительные препараты и природные полифенолы сочетают оба механизма, но их действие ограничено биодоступностью и вариабельностью состава.

На основании вышеизложенного, очевидно, что существует необходимость разработки «антиоксидантов двойного действия», обладающих как хелатирующими свойствами, так и способностями улавливания активных форм кислорода для нивелирования, индуцированного металлами оксидативного стресса. Несмотря на большое количество разнообразных препаратов, нет высокоэффективных и при том безопасных способов выведения или

нейтрализации уже накопленного металла; терапия направлена в основном на преодоление последствий интоксикации или симптоматическое лечение. Природные антиоксиданты показали некоторый защитный эффект против хронической токсичности тяжелых металлов, а также являются хорошей платформой для будущей разработки новых антидотов с минимальными побочными эффектами.

Исходя из вышеизложенного, цель настоящей научно-исследовательской работы — изучение процессов распределения и накопления алюминия в организме экспериментальных животных, его влияния на обмен эссенциальных элементов, а также оценке биохимического и генетического профиля и гистологических характеристик основных органов депонирования кадмия при острой интоксикации гидроксидом.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи. Во-первых, изучить процессы накопления алюминия либо кадмия во внутренних органах и биосредах экспериментальных животных при интоксикации гидроксидом алюминия в зависимости от дозы и времени воздействия. Во-вторых, установить характер влияния алюминия либо кадмия на гомеостаз некоторых эссенциальных элементов. В-третьих, провести гистологическое исследование функционального состояния печени и почек экспериментальных животных и механизмов развития окислительного стресса при интоксикации соединением алюминия либо кадмия. В-четвертых, оценить механизмы развития окислительного стресса и активации системы детоксикации ксенобиотиков при интоксикации соединением алюминия либо кадмия путем анализа экспрессии генов в зависимости от дозы и времени воздействия. В-пятых, оценить изменения метаболических процессов по биохимическим показателям в рамках токсического действия металлов. В-шестых, оценить уровень повреждения ДНК, вызванных введением изучаемых соединений.

1 Материалы, методы и объем исследований

1.1 Моделирование интоксикации, характеристика токсических агентов и использованные дозы

Изучение интоксикации хлоридом кадмия в течение 2-х месяцев проводили на 40 белых аутбредных крысах с массой тела 170–230 г. экспериментальные животных распределили на четыре группы, по 10 особей в каждой (соотношение полов 1:1), включившие одну контрольную и три опытных группы. Крысы получали перорально водный раствор хлорида кадмия в различных дозах: группа 1 получала дозу 1 мкг/кг («Cd 1»), группа 2–10 мкг/кг («Cd 10»), группа 3–100 мкг/кг м.т («Cd 100»). Контрольная группа (4 группа) получала эквивалентное количество дистиллированной воды. По завершении эксперимента всем животным была проведена эвтаназия методом декапитации.

Воздействие хлорида кадмия на организм на протяжении 3-х месяцев изучалась на 40 аутбредных крысах, самках и самцах. Все животные были распределены на четыре группы (пять самцов и пять самок). Опытные группы с первой по третью

получали перорально водный раствор хлорида кадмия в различных дозах: группа 1 получала дозу 1 мкг/кг («Cd 1»), группа 2–10 мкг/кг («Cd 10»), группа 3–100 мкг/кг м.т («Cd 100»). Контрольная группа (группа 4) получала перорально эквивалентное количество дистиллированной воды. Общая продолжительность эксперимента для всех групп составила четыре месяца, включая три месяца непосредственного ежедневного введения вещества и один месяц стадии ремиссии. По истечении эксперимента все животные были подвергнуты эвтаназии методом декапитации.

Для эксперимента по оценке токсичности кадмия в течение 6-ти месяцев воздействия были отобраны 72 нелинейные лабораторные белые крысы обоих полов (в равном соотношении) средним весом 220 г. Животные были распределены на 5 групп в зависимости от рассчитываемой дозы токсиканта, который получали перорально в течение

Рисунок 1

Схема план-дизайна экспериментального исследования по оценке эффективности применения окисленного пектина с ОМУ против вредного действия хлорида кадмия



Рисунок 2

Схема план-дизайна экспериментального исследования по оценке эффективности применения окисленного пектина с ОМУ против вредного действия гидроксида алюминия



Рисунок 101

Изменение уровня экспрессии гена Kim1 в почках экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

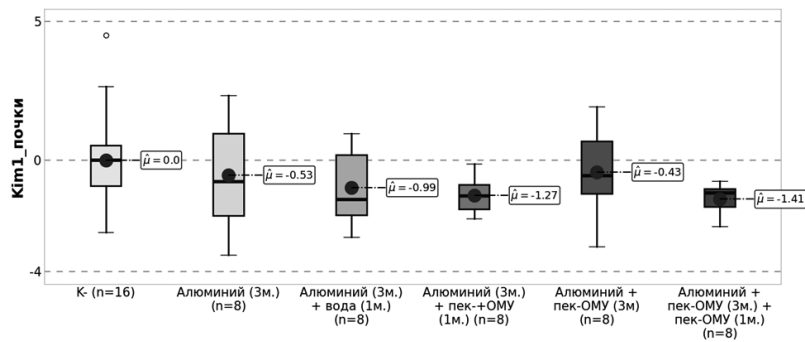


Рисунок 102

Изменение уровня экспрессии гена Zip1 в почках экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

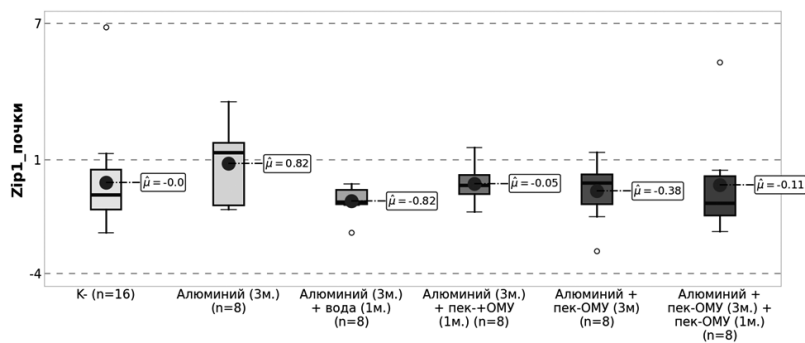


Рисунок 103

Изменение уровня экспрессии гена Zip8 в почках экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

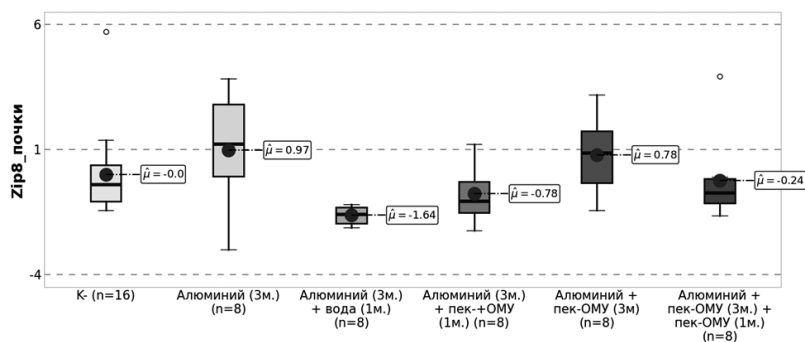
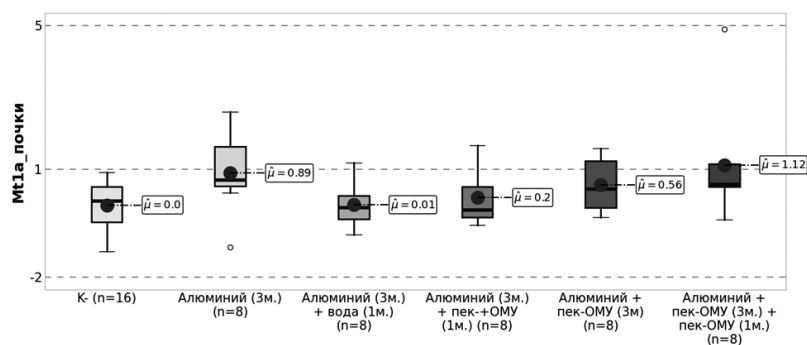
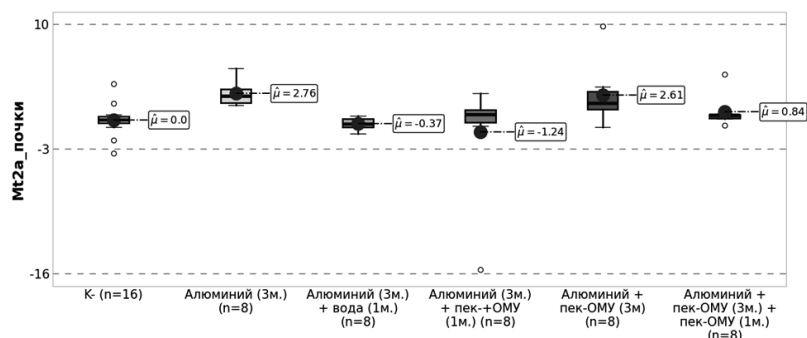


Рисунок 104

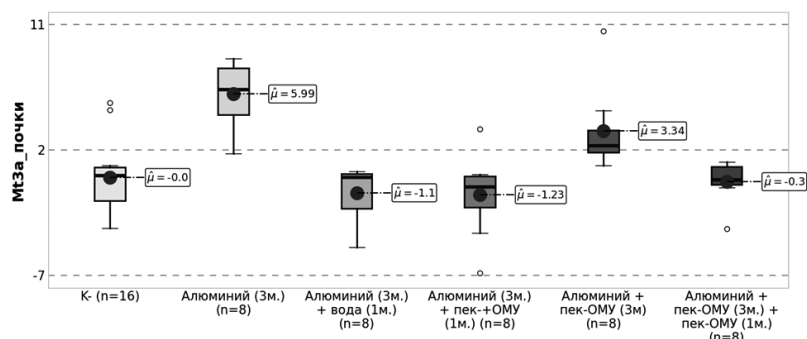
Изменение уровня экспрессии гена *Mt1a* в почках экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 105**

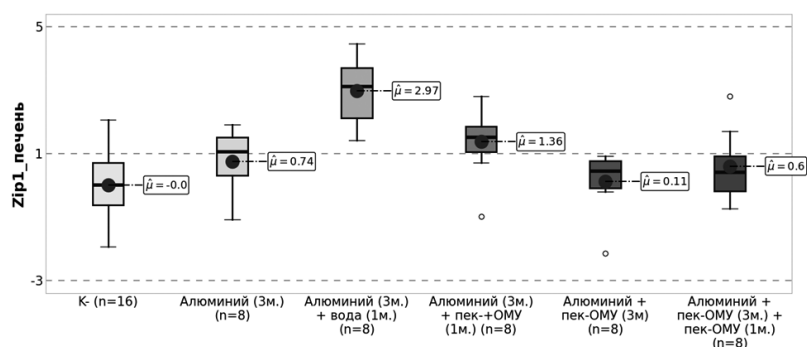
Изменение уровня экспрессии гена *Mt2a* в почках экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 106**

Изменение уровня экспрессии гена *Mt3a* в почках экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 107**

Изменение уровня экспрессии гена *Zip1* в печени экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 108**

Изменение уровня экспрессии гена *Zip8* в печени экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

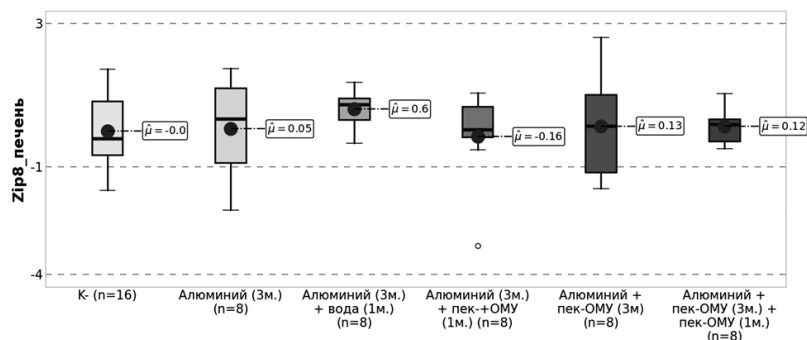


Рисунок 109

Изменение уровня экспрессии гена *Mt1a* в печени экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

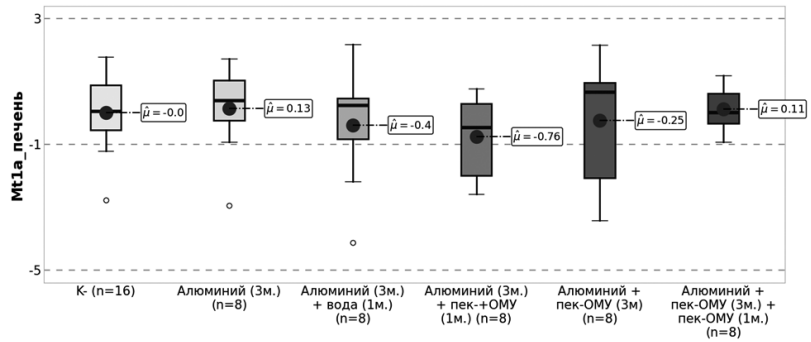


Рисунок 110

Изменение уровня экспрессии гена *Mt2a* в печени экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

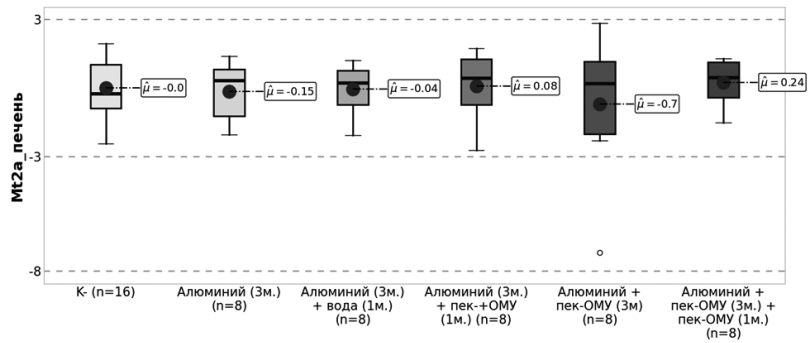


Рисунок 111

Изменение уровня экспрессии гена *Mt3a* в печени экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

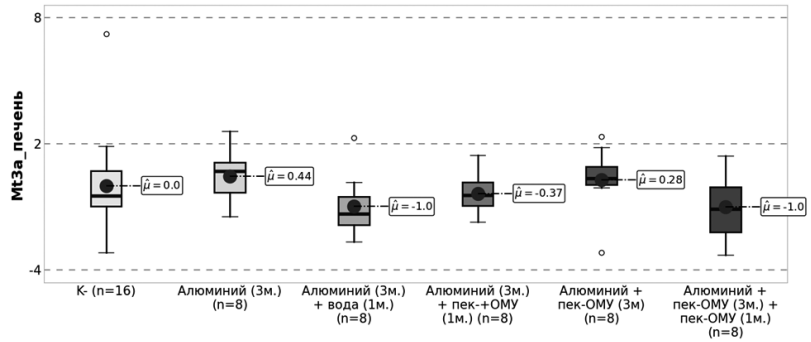


Рисунок 112

Изменение уровня активности АСТ в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

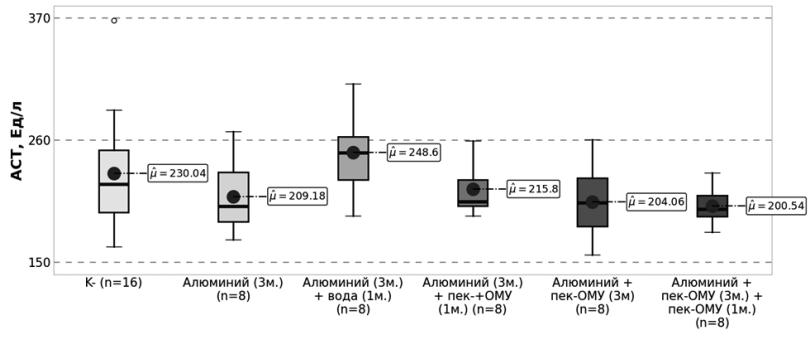


Рисунок 113

Изменение уровня активности АЛТ в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

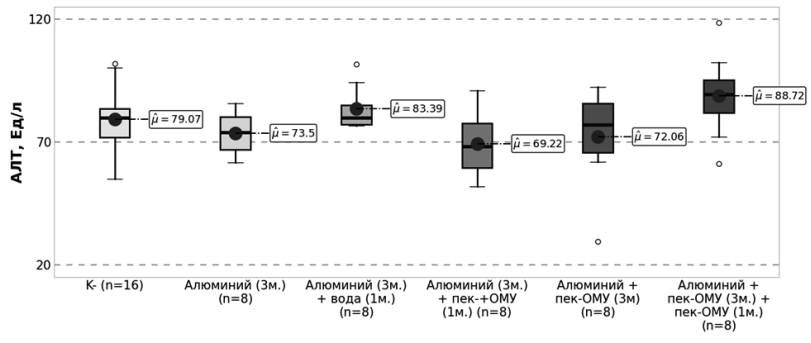
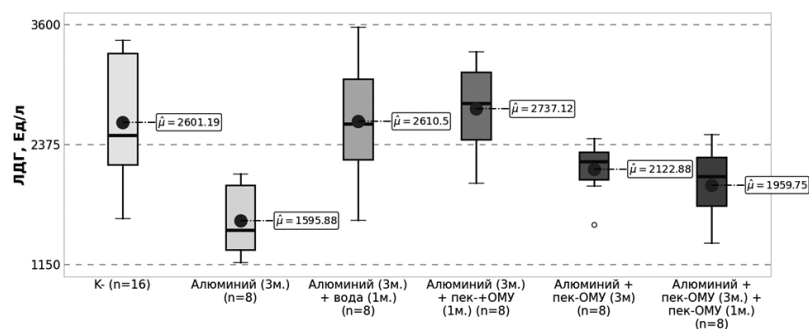
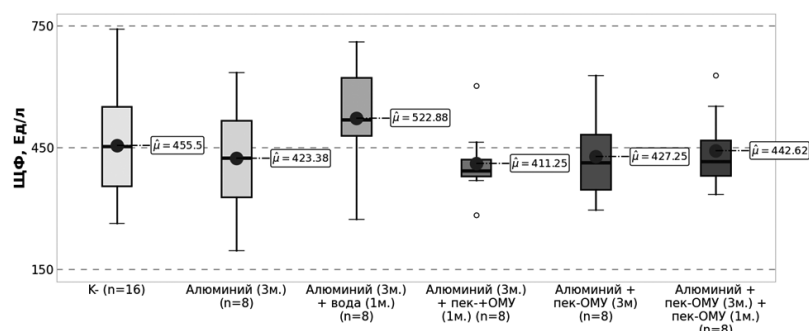


Рисунок 114

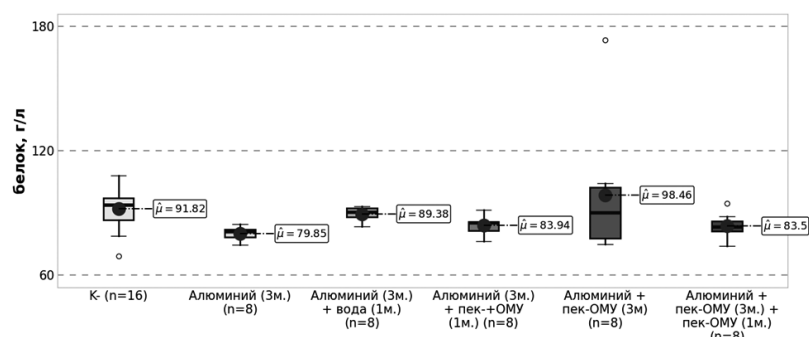
Изменение уровня активности ЛДГ в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 115**

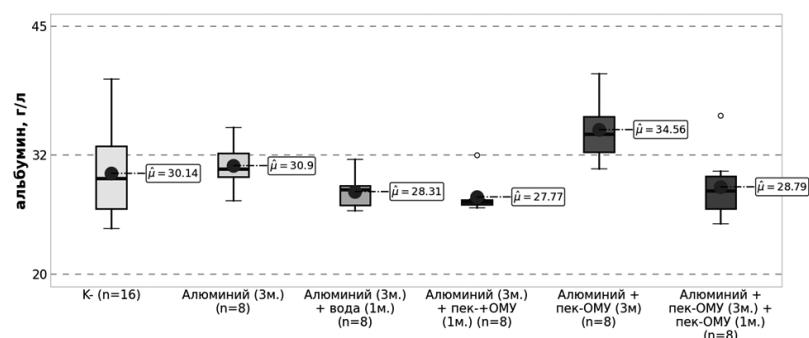
Изменение уровня активности ЩФ в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 116**

Изменение уровня белка в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 117**

Изменение уровня альбумина в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 118**

Изменение уровня мочевой кислоты в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси ординат отражена величина параметра, по оси абсцисс расположены исследуемые группы

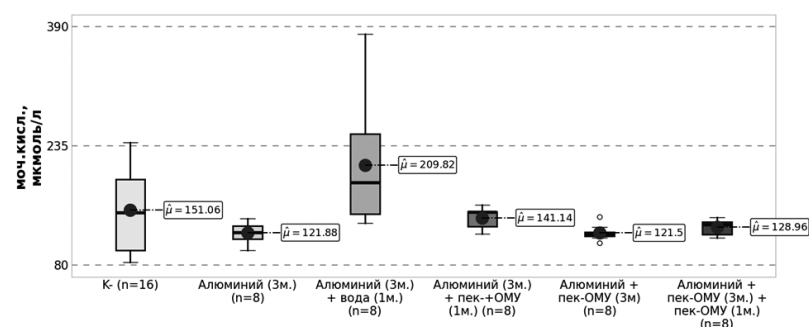
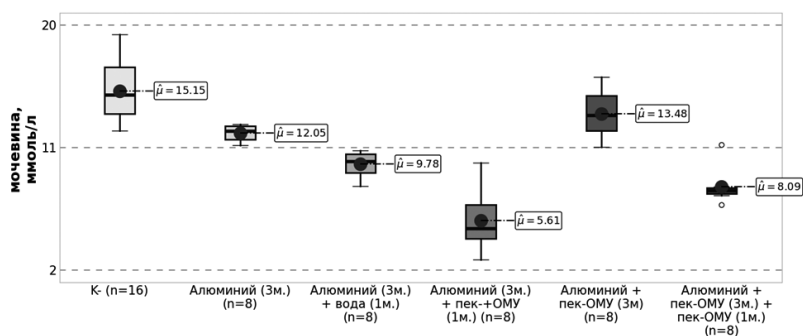
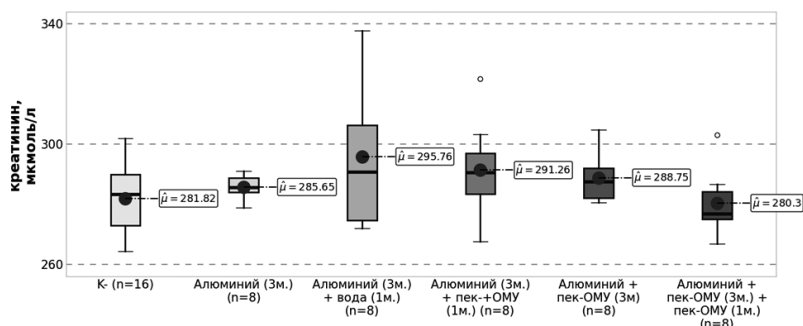


Рисунок 119

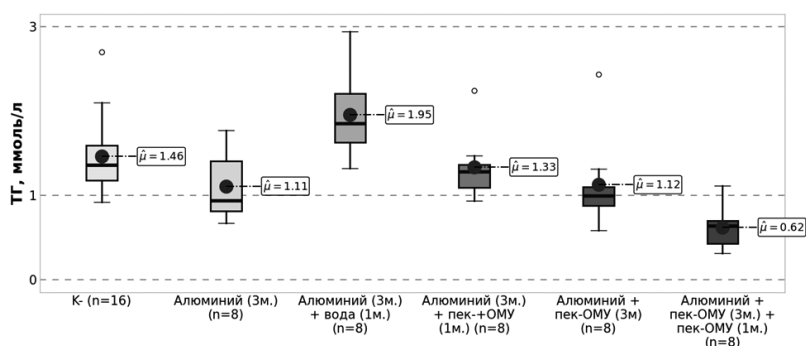
Изменение уровня мочевины в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 120**

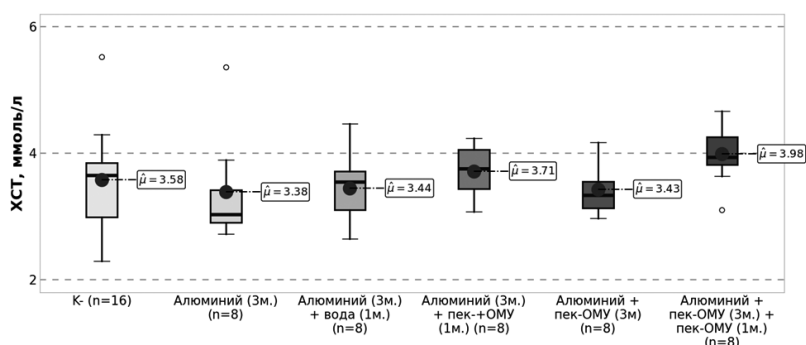
Изменение уровня креатинина в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 121**

Изменение уровня ТГ в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы

**Рисунок 122**

Изменение уровня ХСТ в сыворотке крови экспериментальных животных в контрольной группе, при воздействии алюминия и на фоне коррекции. По оси абсцисс расположены исследуемые группы



полугода в будние дни. Особям из контрольной группы вводили чистую дистиллированную воду в эквивалентном количестве (группа 1). Для наименьшей дозы токсиканта использовали водный раствор кадмия концентрацией 0,001 мг/кг м. т. в сутки (группа 2), что является установленной Агентством по охране окружающей среды (США) ежесуточной дозой поступления кадмия с пищей и напитками. Для оценки токсикологического эффекта в группах 3, 4 и 5 применяли дозировки кадмия в 10, 100 и 1000 раз больше (0,01 мг/кг м. т., 0,1 мг/кг м. т. и 1 мг/кг м. т. соответственно).

Исследование по изучению токсического действия кадмия и влиянии на него ремиссии проведено на 40 белых аутбредных крысах с массой тела 170–230 г. В начале эксперимента животные методом случайной выборки были разделены на 4 группы по 10 особей (5 самцов и 5 самок) в каждой: контрольная группа (К) и 3 экспериментальные группы. Согласно методологии постановки субхронического эксперимента с периодом ремиссии, для оценки токсического действия тяжелого металла животным 1-, 2-, 3-й экспериментальных групп ежедневно в течение 3-х месяцев перорально

вводили водный раствор хлорида кадмия в дозах 1 мг/кг м. т., 10 мг/кг м. т. и 100 мг/кг м. т. соответственно. По окончании введения токсиканта животные проходили стадию ремиссии в течение 1 месяца, после чего выводились из эксперимента путем декапитации с отбором проб для последующего исследования.

Схема экспериментального исследования, направленного на оценку эффективности метода профилактической коррекции при интоксикации хлоридом кадмия, приведена на рисунке 1.

Работа проведена на 60 аутбредных конвенциональных крысах самках возрастом 10–12 недель, которые были распределены поровну по весовому принципу на 5 групп: 1 контрольную и 4 опытные. Первая группа служила контрольной и в течение всех трех месяцев получала только эквивалентное количество дистиллированной воды. Вторая группа была опытной — получала перорально водный раствор хлорида кадмия в дозе 0,1 мг/кг м. т. ежедневно в течение трех месяцев, после чего наступила месячная стадия ремиссии без введения раствора токсиканта. Опытной группе 3 вводили водный перорально в течение трех месяцев водный раствор хлорида кадмия в дозе 0,1 мг/кг м. т. и пектин на основе ОМУ в дозе 50 мг/кг, после чего наступила месячная стадия ремиссии, без введения раствора токсиканта и пектина. Опытная группа 4 в течение трех месяцев получала водный раствор хлорида кадмия в дозе 0,1 мг/кг м. т. и пектин на основе ОМУ в дозе 50 мг/кг, после чего наступила месячная стадия ремиссии, в течение которой животные получали пектин на основе ОМУ в дозе 50 мг/кг. Опытная группа 5 получала хлорид кадмия (0,1 мг/кг) ежедневно в течение трех месяцев, после чего наступила месячная стадия ремиссии, в течение которой животные получали раствор пектина на основе ОМУ (50 мг/кг) без продолжения введения токсиканта. Во всех группах пектин на основе ОМУ вводили через один час после введения токсиканта. Все животные были подвергнуты эвтаназии по истечении четырех месяцев от начала эксперимента методом декапитации. Введение водного раствора токсиканта осуществлялось с помощью желудочного зонда пять раз в неделю.

Изучение влияния гидроксида алюминия при остром воздействии проводилось на 59 белых аутбредных крысах женского пола с массой тела 170–230 г. В начале эксперимента животные методом случайной выборки были разделены на 7 экспериментальных групп по 7 особей в каждой. Контрольную группу составили 10 особей. Особям контрольной группы ($n=10$) однократно перорально вводили 2% раствор крахмала, опытным группам ($n=7$) вводили раствор гидроксида алюминия (100 мг/кг м. т. в пересчете на алюминий). Расчет дозы гидроксида алюминия проводили для каждой крысы индивидуально с учетом массы тела. Животных выводили из эксперимента через 1; 2; 4; 6; 24; 48 и 96 ч методом декапитации.

Изучение влияния гидроксида алюминия при одномесечном воздействии проводилось на 88 линейных белых аутбредных крысах — самках и самцах, имевших исходную массу тела от 170 до 230 граммов. Животные методом случайной выборки

были распределены на четыре группы по 12 особей, в каждой из которых находилось по 12 особей (6 самок и 6 самцов): крысам первой, второй и третьей опытных групп осуществляли ежедневное пероральное введение раствора гидроксида алюминия в трех дозах (0,015; 0,15; 1,5 мг/кг, соответственно — далее по тексту отчета группы будут именоваться в том числе как «Al1», «Al10», «Al100» в соответствии с нарастанием уровня дозы). Животные контрольной группы получали дистиллированную воду в эквивалентном количестве по той же схеме, что и в опытных группах. По окончании экспериментального периода (1 месяц) животных выводили из эксперимента методом декапитации.

Экспериментальное исследование по изучению влияния гидроксида алюминия в течение 2-х месяцев выполнено на 48 аутбредных крысах обоего пола, с исходной массой тела в диапазоне 170–230 грамм. Животные так же были распределены на четыре группы, по 12 особей в каждой (соотношение самцов и самок 1:1). В состав экспериментальных групп вошли три опытных и одна контрольная. Животным из первой, второй и третьей опытных групп проводили пероральное введение раствора гидроксида алюминия в трех дозировках: 0,015; 0,15 и 1,5 мг/кг, соответственно — далее по тексту отчета группы будут именоваться в том числе как «Al1», «Al10», «Al100» в соответствии с нарастанием уровня дозы. Крысы четвертой группы служили контролем и получали дистиллированную воду. Через два месяца после начала эксперимента всех животных подвергли эвтаназии методом декапитации.

В эксперименте по изучению длительного, в течение 4 месяцев, воздействия различных доз гидроксида алюминия на организм использовались самки крыс в количестве 40 голов. Все животные были разделены на пять групп, четыре из которых являлись опытными и одна — контрольной. Опытные группы с первой по четвертую получали водный раствор гидроксида алюминия: группа 1 получала дозу 0,015 мг/кг, группа 2 — дозу 0,15 мг/кг, группа 3 — дозу 1,5 мг/кг, а группа 4 — 15,0 мг/кг — далее по тексту отчета группы будут именоваться в том числе как «Al1», «Al10», «Al100» и «Al1000» в соответствии с нарастанием уровня дозы. Введение во всех случаях проводилось многократно, на протяжении всего четырехмесячного срока. Контрольная группа (группа 5) получала перорально эквивалентное количество дистиллированной воды по той же схеме. По истечении экспериментального периода все животные были подвергнуты эвтаназии методом декапитации.

Схема экспериментального исследования, направленного на оценку эффективности метода профилактической коррекции при интоксикации гидроксидом алюминия, приведена на рисунке 2.

Работа проведена на 56 аутбредных конвенциональных крысах женского пола возрастом 10–12 недель, которые были распределены на опытные и контрольные группы поровну по весовому принципу. Данное исследование состояло из двух основных частей.

В рамках первой части были сформированы 3 группы. Опытная группа 1 получала перорально водный раствор гидроксида алюминия в дозе 15 мг/кг м. т.

ежедневно в течение трех месяцев. Опытной группе 2 вводили водный раствор гидроксида алюминия в дозе 15 мг/кг м. т. и пектин на основе ОМУ в дозе 50 мг/кг. Контрольная группа 3 получала эквивалентное количество дистиллированной воды. Все животные были подвергнуты эвтаназии по истечении трех месяцев от начала эксперимента.

В второй части эксперимента было задействовано четыре группы животных. Опытная группа 1 получала гидроокись алюминия (15 мг/кг) ежедневно в течение трех месяцев, после чего наступила месячная стадия ремиссии, в течение которой животные получали только дистиллированную воду. Опытной группе 2 вводили гидроокись алюминия (15 мг/кг) в течение трех месяцев, а затем в течение последующего месяца — раствор пектина на основе ОМУ (50 мг/кг) без продолжения введения токсиканта. Животные опытной группы 3 в течение всех четырех месяцев получали гидроокись алюминия (15 мг/кг), и на протяжении этого же всего срока — пектин (50 мг/кг). Пектин вводился за один час до введения токсиканта, что указывает на профилактический режим применения. Контрольная группа 4 в течение всех четырех месяцев получала только эквивалентное количество дистиллированной воды. Введение водного раствора токсиканта осуществлялось с помощью желудочного зонда пять раз в неделю. Эвтаназия животных была проведена через 4 месяца от начала эксперимента методом декапитации.

1.2 Метод оценки генотоксичности на клеточных культурах

Оценка генотоксичности как гидроксида алюминия, так и хлорида кадмия выполнена методом ДНК-комет на клеточной линии гепатоцитов мыши МН-22а, согласно методическим рекомендациям МР 4.2.0014–10 «Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет *in vitro*».

Культура клеток была посеяна в стерильные чашки Петри. Для затравки клеток были сформированы следующие экспериментальные группы: контрольная, клетки без обработки, и опытные — клетки, затравленные токсикантом на разных уровнях доз для каждой группы. Так, для хлорида кадмия это были 3 группы, затравленные 10 мкМ CdCl_2 ; 50 мкМ CdCl_2 ; 250 мкМ CdCl_2 соответственно.

Все группы клеток инкубировали 24 часа после затравки растворами в питательной бессывороточной среде IMEM с добавлением 0,2 М глутамата. Для оценки степени повреждения ядерной ДНК

1.3 Методы оценки состояния организма подопытных животных

План обследования лабораторных животных включал проведение функциональных, гематологических и биохимических исследований для оценки общего состояния, показателей крови и функции внутренних органов, генетических исследований для выявления потенциальных мутагенных эффектов, химического анализа биоматериала для изучения биораспределения и металлов в тканях, а также гистологических исследований.

Функциональные исследования включали с себя изучение показателей пространственного обучения и памяти (лабиринт Морриса), тревожности и исследовательской активности («Открытое

Выбор дозировок для экспериментальных исследований осуществлялся следующим образом.

Расчет экспериментальных дозировок хлорида кадмия проводился на основе норматива временного переносимого недельного потребления (ВПНП) кадмия, установленного совместными экспертными оценками Всемирной организации здравоохранения и Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций. Данный норматив составляет 7 мкг на кг массы тела человека. На основании этого значения были определены три тестовые дозы для крыс. Базовая доза соответствовала ВПНП и составляла 1 мкг/кг массы тела (0,001 мг/кг). Для последующих групп дозировки были увеличены в 10 раз и в 100 раз относительно базового значения с целью комплексной оценки токсикологического профиля соединения.

Среднесуточное поступление алюминия в организм взрослого человека с питьевой водой составляет приблизительно 2,3 мкг/кг/сутки (0,0023 мг/кг/сутки) согласно данным научного обзора Krewski и соавт. [38]. Для оценки токсикологических свойств гидроксида алюминия нами была применена методика умножения базового показателя, рекомендованного авторами, на коэффициенты 10, 100, 1000 и 10000. В результате расчетов были получены следующие экспериментальные дозировки: 0,015 мг/кг, 0,15 мг/кг, 1,5 и 15 мг/кг м. т. соответственно.

исследуемые клетки смешивали с агарозой и монтировали в виде тонкого слоя на предметное стекло. После чего препарат подвергался лизису раствором с высокой концентрацией соли с тритоном X100 для удаления содержимого клеток и освобождения ДНК. Затем стекла были помещены в горизонтальную камеру для электрофореза, заполненную щелочным раствором ($\text{pH} > 13$). После окраски бромистым этидием микропрепараты исследовали под 10-кратным увеличением на флуоресцентном микроскопе Zeiss Axio Imager.D2 с камерой Axio Cam MRc5, подключенной к компьютеру для сохранения изображений. Степень повреждения ядерной ДНК определяли на полученных цифровых изображениях с помощью компьютерной программы CASP 1.2.2 (Comet Assay Software Project, Польша). В качестве определяемого параметра использовался процент содержания ДНК в хвосте кометы.

поле») и исследовательского поведения и внимания («Доска с отверстиями»).

Оценку пространственного обучения и памяти проводили с использованием автоматизированной системы видеорегистрации ANY-maze. Экспериментальная установка представляла собой круглый резервуар диаметром 150 см и высотой 60 см, заполненный водой (температура 22 ± 1 °C) до уровня 43 см. Экспериментальное пространство было условно разделено на четыре квадранта. Стартовые позиции располагались в северо-восточном (NE), восточном (E), южном (S) и юго-западном (SW) секторах. В целевом

квадранте (правый нижний сектор) на глубине 1,5–2 см ниже поверхности воды размещали прозрачную платформу диаметром 10 см, невидимую для животного. Пространственные ориентиры были представлены геометрическими фигурами (крест, круг, квадрат, треугольник), размещенными на стенках резервуара в позициях NW, NE, SE и SW. Освещенность составляла 8300 лк. Исследование состояло из двух этапов: обучение и тестирование. В течение четырех дней животные выполняли по три ежедневные попытки поиска скрытой платформы. Испытуемое животное помещали в воду головой к стенке бассейна в случайной стартовой позиции, которая изменялась между попытками. Продолжительность каждой попытки составляла 120 секунд. При неуспешном поиске платформы животное аккуратно направляли к ней рукой. После нахождения платформы животное оставляли на ней на 15 секунд. Интервал между попытками составлял 90–120 секунд. На пятые сутки платформу удаляли и проводили 120-секундный тест, в ходе которого анализировали: время поиска, скорость перемещения и пройденное расстояние. Движения животных регистрировали цифровой камерой.

Исследование по тесту «Открытое поле» проводили в круглой арене диаметром 90 см со стенками высотой 50 см. Освещение обеспечивалось красной лампой мощностью 40 Вт, расположенной на высоте 2 м. Животное помещали в центр арены и в течение 10 минут регистрировали его поведение с помощью системы ANY-maze. Анализировали следующие параметры: общее пройденное расстояние, средняя скорость перемещения, количество пересеченных секторов, количество и продолжительность заходов в центральную зону, показатели активности в периферических зонах и углах арены.

Для проведения теста «Доска с отверстиями» использовалась экспериментальная установка, представляющая собой квадратную камеру с полом, разделенным на 13 одинаковых секторов, каждый из которых содержал отверстие диаметром 3 см. В течение 5-минутного тестового сеанса регистрировали: количество исследованных секторов, количество вертикальных стоек и эпизодов заглядывания в отверстия. Все поведенческие показатели фиксировали с помощью системы видеорегистрации для последующего компьютерного анализа.

Анализ содержания металлов осуществляли в отобранных пробах цельной крови и образцов тканей печени, почек и головного мозга. Минерализацию тканевых проб проводили с использованием системы микроволновой пробоподготовки Speedwave Xpert (Berghof, Германия). Навески тканей массой приблизительно 1 г помещали в тefлоновые реакционные сосуды, куда добавляли 8 мл азотной кислоты (HNO_3) и 2 мл пероксида водорода (H_2O_2). Процесс минерализации осуществляли в соответствии с установленным производителем протоколом.

Количественное определение микроэлементного состава в подготовленных пробах выполняли методом атомно-абсорбционной спектроскопии с использованием пламенной и электротермической (графитовой печь) атомизации на спектрометрах серии AA240 (Varian, Австралия).

Для оценки изменений на молекулярном уровне выбраны гены, которые являются маркером клеточного стресса и повреждения, важными элементами в регуляции метаболизма микроэлементов, участвуют в системе детоксикации: ген, кодирующий металлотионеин 1А (*metallothionein 1*, далее — *Mt1*; Gene ID 24567); ген, кодирующий металлотионеин 2А (*metallothionein 2*, далее — *Mt2*; Gene ID 689415), ген, кодирующий металлотионеин 3 (*metallothionein 3*, далее — *Mt3*; Gene ID 117038), ген транспортера цинка 8 (далее — *Zip8*), молекула повреждения почек 1 (далее — *Kim1*). Для изучения экспрессии генов в тканях крыс контрольной и опытных групп кусочки органов сразу после декапитации и вскрытия животных замораживали жидким азотом и заливали ExtractRNA (Евроген, Россия). Применяли экстракцию тотальной РНК тризолом, обратную транскрипцию и ПЦР-амплификацию в режиме реального времени на приборе RotorGene (QIAGEN, Германия). Праймеры для ПЦР разработаны с помощью программы PrimerQuest (IDT, США) и синтезированы фирмой «Евроген» (Россия). Синтез кДНК проводили с матрицы выделенной тотальной РНК с использованием набора реактивов MMLV RT kit и праймеров олиго(dT)15 (Евроген, Россия). С полученными кДНК ставили ПЦР на амплификаторе Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия) в присутствии SYBR Green. Олигонуклеотидные праймеры для ПЦР подбирали с помощью программы PrimerQuest (Integrated DNA Technologies, Inc., США). Выбранные праймеры синтезированы фирмой «Евроген» (Россия). Каждую реакцию ПЦР в режиме реального времени с использованием олигонуклеотидных специфичных праймеров, содержащую 2 мкл кДНК, проводили в объеме 25 мкл в следующих условиях: предварительный прогрев при 95 °С в течение 3 мин, после чего следовало 45 основных циклов: 15 с при 95 °С, 25 с при 59 °С и 15 с при 72 °С.

Экспрессию генов нормировали по уровню *Gapdh*. Для оценки относительной экспрессии генов использовался метод, предложенный Livak K. J. и Schmittgen T. D. (2001) [39]. Для определения разницы между группами рассчитывался показатель $\Delta\Delta\text{CT}$, который представлял собой разность между средним значением ΔCT группы сравнения и группы контроля. Результирующее значение, полученное посредством экспоненциального преобразования этой разности, интерпретировалось как «fold change» (FC), что позволяло оценить, насколько изменена экспрессия целевого гена в исследуемой группе относительно контроля.

Забор образцов крови для проведения биохимического анализа осуществляли после эвтаназии животных методом декапитации. В сыворотке крови определяли активность аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) кинетическим УФ-методом без пиридоксальфосфата, активность щелочной фосфатазы (ЩФ) кинетическим методом, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) кинетическим УФ-методом. Также измеряли концентрацию мочевой кислоты ферментативным колориметрическим методом, общего белка биуретовым колориметрическим методом, альбумина колориметрическим методом с бромкрезоловым зеленым, мочевины уреазно-салицилатным методом

и креатинина кинетическим методом без депротенизации. Анализ биохимических параметров выполняли с использованием реагентных наборов производства «Вектор-Бест» (Россия, г. Новосибирск) на биохимическом анализаторе «Stat Fax 3300» (Awareness Technology, США) в строгом соответствии с методическими рекомендациями производителя.

С целью изучения гематологического профиля у животных проводили забор крови в пробирки с антикоагулянтом (К3ЭДТА). Исследования выполняли на гематологическом анализаторе ГЕМА8-01-«АСТРА» (Россия) с определением следующих показателей: концентрация гемоглобина, количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, средний объем эритроцитов, гематокрит, средняя концентрация и содержание гемоглобина в эритроците.

Для гистологического анализа образцы тканей печени, почек и головного мозга подвергались фиксации. В качестве фиксирующего раствора применялся 10% нейтральный формалин, приготовленный на фосфатном буфере с целью поддержания

стабильного уровня pH. Далее образцы прошли стандартный процесс проводки, который включал обезвоживание в изопропанол и последующую заливку в парафин. С указанных блоков получали серийные срезы, толщина которых составляла от 5 до 7 микрометров, с использованием микротомы марки МС-2. Для визуализации клеточных структур и общих морфологических особенностей срезы окрашивали классическим комбинированным методом гематоксилином и эозином. Изучение приготовленных гистологических препаратов осуществляли с помощью светового микроскопа Zeiss AXIO Imager.D2 (окуляр 10х, объектив 10х и 40х).

Морфометрию проводили на микрофотографиях препаратов (ув. $\times 200$), которые регистрировали на камере Celena X (Logos Biosystems, Республика Корея). Анализ выполняли в QuPath v0.5.1 (Queen's University Belfast, Великобритания) оператором, «ослепленным» к групповой принадлежности образцов.

1.4 Методы профилактической коррекции в эксперименте

В качестве способа профилактической коррекции изменений, вызванных тяжелыми металлами, было использовано комплексное соединение 5-аминосалициловой кислоты с окисленным пектином.

Окисленный пектин был получен на базе кафедры физической химии и химической экологии Башкирского Государственного Университета под руководством профессора Зимина Ю. С. в рамках научного сотрудничества. В работе использовали яблочный пектин со средней молекулярной массой 213 кДа ($[\eta] = 2,3$ дл/г, 298 ± 1 К, вода) фирмы Fluka (Германия). Озон-кислородную смесь получали с помощью озонатора. Пероксид водорода использовали квалификации «ч. д. а.», а сульфат железа (II) — квалификации «х.ч.». Растворителем служила свежеперегнанная бидистиллированная вода. Окисление водных растворов яблочного пектина проводили в стеклянном термостатируемом реакторе барботажного типа с периодическим отбором проб. За ходом окислительного процесса следили по изменению концентрации карбоксильных ($-\text{COOH}$) групп, концентрацию которых

определяли методом потенциометрического титрования с помощью pH-метра «pH-150МИ». Кинетическая схема представлена 13 ключевыми стадиями радикально-цепного окисления пектина яблочного, составленными на основе классических представлений о механизмах жидкофазного окисления органических соединений и экспериментальных результатов по озонированному окислению полисахарида [40].

В дальнейшем комплексное соединение 5-аминосалициловой кислоты с окисленным пектином получают путем смешивания эквимольных количеств компонентов в растворителе (вода) с последующим перемешиванием реакционной смеси при комнатной температуре в течение 24 часов, удалением растворителя при пониженном давлении и выделением продукта [41].

Полученный хелатный агент, комбинация пектина и оксиметилурацила, был апробирован в сериях экспериментальных исследований при интоксикации хлоридом кадмия и гидроксидом алюминия.

1.5 Статистическая и математическая обработка данных

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 21 (IBM, USA). Проверка распределений на нормальность осуществлялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для оценки значимости различий между группами использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и апостериорные критерии Тьюки и Тамхейна. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка. Критический уровень

значимости (p) принят равным 0,05. Оценка корреляции ранговых переменных осуществлялась с применением коэффициента Пирсона. При величине коэффициента $r < 0,25$ выявляли слабую корреляцию, при $r = 0,25-0,6$ — умеренную корреляцию, $r > 0,6$ — сильную корреляцию.

Кривая зависимости «доза-ответ» визуализировалась с помощью прикладного пакета программ для визуализации научных данных GraphPad Prism, версия 8.0.1 (244).

3.2.2 Оценка эффективности при воздействии гидроксида алюминия

Результаты, полученные в экспериментальном исследовании, направленном на оценку эффективности применения окисленного пектина в качестве профилактического агента против токсического действия гидроксида алюминия приведены на рисунках 101–122.

Наименьшая интенсивность экспрессии *Kim1* была зарегистрирована в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)», достигнув значения $-1,41 \pm 0,19$ отн. ед., что свидетельствует о максимальном подавлении маркера повреждения почек на фоне комплексной терапии. В контрольной

группе «К-» уровень экспрессии *Kim1* был принят за $0,0 \pm 0,42$ отн. ед. В группе «Алюминий (3 мес.)» показатель составил $-0,53 \pm 0,70$ отн. ед. и не отличался от контроля ($p = 2,918$). Аналогичным образом, значимых отличий от группы «К-» не было выявлено в группах «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($-0,99 \pm 0,45$ отн. ед.; $p = 0,759$) и «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» ($-0,43 \pm 0,52$ отн. ед.; $p = 1,000$). Группа «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» демонстрировала тенденцию к снижению ($-1,27 \pm 0,22$ отн. ед.; $p = 0,066$). При этом только в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» снижение экспрессии *Kim1* стало статистически значимым относительно контроля ($p = 0,021$).

Попарное сравнение между группами, подвергавшимися воздействию алюминия, не выявило статистически значимых различий в уровнях *Kim1*. Например, не обнаружено существенных различий между группами «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» и «Алюминий (3 мес.)» ($-0,99 \pm 0,45$ отн. ед. против $-0,53 \pm 0,70$ отн. ед.; $p = 1,000$), а также между группами «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» и «Алюминий (3 мес.)» ($-1,27 \pm 0,22$ отн. ед. против $-0,53 \pm 0,70$ отн. ед.; $p = 1,000$). Схема коррекции с применением пек-ОМУ как во время нагрузки, так и в восстановительный период привела к наиболее выраженному снижению *Kim1* ($-1,41 \pm 0,19$ отн. ед.) по сравнению с группой, получавшей только алюминий и воду ($-0,99 \pm 0,45$ отн. ед.; $p = 1,000$). На Рисунке 101 представлено графическое отображение всех полученных результатов.

Наибольший уровень экспрессии гена *Zip1* отмечался в группе «Алюминий (3 мес.)», достигая значения $+0,82 \pm 0,58$ отн. ед. Минимальные показатели были зафиксированы в группе «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($-0,82 \pm 0,22$ отн. ед.), что демонстрирует значительный размах варьирования в 1,64 условных единиц после прекращения поступления металла. При сравнении с группой отрицательного контроля «К-» ($0,0 \pm 0,51$ отн. ед.) ни в одной из экспериментальных групп не было обнаружено статистически значимых отклонений: «Алюминий (3 мес.)» ($p = 1,000$), «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($p = 1,000$), «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($-0,05 \pm 0,28$ отн. ед.; $p = 0,409$), «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» ($-0,38 \pm 0,45$ отн. ед.; $p = 1,000$) и «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($-0,11 \pm 0,78$ отн. ед.; $p = 1,000$).

Сравнительный анализ между группами выявил определенную тенденцию к нормализации экспрессии *Zip1* на фоне применения пек-ОМУ. Так, в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» показатель ($-0,11 \pm 0,78$ отн. ед.) был достоверно выше, чем в группе пассивного восстановления «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($-0,82 \pm 0,22$ отн. ед.; $p = 1,000$). Аналогичная положительная динамика наблюдалась при сравнении группы «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» с группами «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» ($-0,38 \pm 0,45$ отн. ед.; $p = 1,000$) и «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($-0,05 \pm 0,28$ отн. ед.; $p = 0,409$). При этом прямое сравнение между различными схемами коррекции не показало существенных различий: «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» против «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($p = 1,000$) и «Алюминий

(3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» против «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» ($p = 1,000$). Все полученные данные отображены на Рисунке 102.

Наибольшая экспрессия гена *Zip8* отмечалась в группе «Алюминий (3 мес.)», где её уровень достиг $0,97 \pm 0,77$ отн. ед. В противоположность этому, минимальная экспрессия ($-1,64 \pm 0,12$ отн. ед.) была зафиксирована в группе «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)», что свидетельствует о резком подавлении активности гена в восстановительном периоде без специализированной коррекции. Показатель группы «Алюминий (3 мес.)» статистически не отличался от контроля «К-» ($0,0 \pm 0,43$ отн. ед., $p = 0,982$), тогда как в группе «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» снижение было статистически значимым как относительно контроля ($p = 0,003$), так и относительно группы «Алюминий (3 мес.)» ($p = 0,010$). Применение пек-ОМУ в режиме постэкспозиционной коррекции («Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)») привело к умеренному повышению уровня экспрессии до $-0,78 \pm 0,44$ отн. ед., что не имело статистической значимости ($p = 0,541$). Более выраженный эффект наблюдался в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)», где значение ($0,78 \pm 0,50$ отн. ед.) существенно превышало показатель группы, получавшей воду ($p < 0,001$). Наиболее сбалансированный профиль экспрессии был достигнут в группе непрерывной терапии «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($-0,24 \pm 0,58$ отн. ед.). Прямые сравнения между различными схемами коррекции не выявили строгой статистической значимости ($p > 0,22$), однако общая тенденция указывает на преимущество постоянного применения пек-ОМУ. Все описанные изменения визуализированы на Рисунке 103.

Наивысший уровень экспрессии гена *Mt1a* был зарегистрирован в группе «А1+Пек-ОМУ (3 месяца)+Пек-ОМУ (1 месяц)», достигнув значения $1,12 \pm 0,53$ отн. ед. относительно контроля. В группе «А1 (3 месяца)» показатель составил $0,89 \pm 0,37$ отн. ед., не демонстрируя статистически значимого отличия от контрольной группы «К-» ($0,0 \pm 0,16$ отн. ед., $p = 0,054$). Группа «А1 (3 месяца)+вода (1 месяц)» показала минимальное изменение экспрессии ($0,01 \pm 0,20$ отн. ед.), практически не отличаясь от контроля ($p = 0,976$). Применение пек-ОМУ исключительно в восстановительный период («А1 (3 месяца)+Пек-ОМУ (1 месяц)») привело к увеличению показателя до $0,20 \pm 0,27$ отн. ед. Наиболее выраженная активация гена *Mt1a* наблюдалась при непрерывной коррекции пек-ОМУ, где значение $1,12 \pm 0,53$ отн. ед., не достигло строгой статистической значимости ($p = 0,084$), однако продемонстрировало четкую тенденцию к усилению синтеза защитных белков. Полученные данные, отражающие динамику экспрессии *Mt1a* в различных экспериментальных условиях, представлены на Рисунке 104.

Наибольшая экспрессия гена *Mt2a* наблюдалась в группе «Алюминий (3 месяца)», где её уровень достиг $2,76 \pm 0,43$ отн. ед., что статистически значимо превышало показатель контрольной группы «К-» ($0,0 \pm 0,37$ отн. ед., $p < 0,001$). В группе «Алюминий (3 месяца)+вода (1 месяц)» значение экспрессии снизилось до $-0,37 \pm 0,21$ отн. ед., не отличаясь

от контроля ($p=1,000$), но демонстрируя значимое снижение относительно группы «Алюминий (3 месяца)» ($p<0,001$). Наиболее выраженное подавление экспрессии было зафиксировано в группе «Алюминий (3 месяца)+пек-ОМУ (1 месяц)» ($-1,24\pm 1,95$ отн. ед.; $p=1,138$). Совместное введение алюминия и пек-ОМУ в течение 3 месяцев сопровождалось сохранением высокого уровня экспрессии ($2,61\pm 1,05$ отн. ед.), сопоставимого с группой «Алюминий (3 месяца)» ($p=0,898$). Наиболее сбалансированный профиль экспрессии отмечен в группе непрерывного лечения «Алюминий+пек-ОМУ (3 месяца)+пек-ОМУ (1 месяц)» ($0,84\pm 0,54$ отн. ед.), где показатель приближался к контрольным значениям ($p=0,785$). Сравнительный анализ подтвердил, что только комбинированная схема применения пек-ОМУ способствовала существенной нормализации экспрессии *Mt2a*. Все полученные результаты визуализированы на Рисунке 105.

Пиковый уровень экспрессии гена *Mt3a* зафиксирован в группе «Алюминий (3 м.)», достигнув значения $5,99\pm 0,80$ отн. ед., что статистически значимо превышало контрольный уровень ($p<0,001$). В группе «Алюминий (3 м.) + вода (1 м.)» показатель снизился до $-1,10\pm 0,66$ отн. ед., не отличаясь от контроля ($p=1,000$), но демонстрируя достоверное снижение относительно группы «Алюминий (3 м.)» ($p<0,001$). Еще более выраженное снижение экспрессии наблюдалось в группе «Алюминий (3 м.) + пек-ОМУ (1 м.)» ($-1,23\pm 1,02$ отн. ед.; $p=1,000$). В группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 м.)» уровень экспрессии составил $3,34\pm 1,04$ отн. ед., что было ниже, чем в группе «Алюминий (3 м.)», но без статистической значимости ($p=0,302$). Наиболее эффективной оказалась схема непрерывной коррекции «Алюминий + пек-ОМУ (3 м.) + пек-ОМУ (1 м.)», где показатель экспрессии ($-0,30\pm 0,50$ отн. ед.) практически не отличался от контрольных значений, демонстрируя оптимальную нормализацию функции гена. Все представленные данные отображены на Рисунке 106.

Наибольшая экспрессия гена *Zip1* отмечалась в группе «Алюминий (3 м.) + вода (1 м.)», где показатель достиг $2,97\pm 0,38$ отн. ед. относительно контроля, что свидетельствует о компенсаторной активации транспортных систем в ответ на токсическое воздействие. В группе «Алюминий (3 м.) + пек-ОМУ (1 м.)» уровень экспрессии снижался до $1,36\pm 0,39$ отн. ед., демонстрируя модулирующий эффект комплексного препарата в восстановительный период.

Наиболее существенная нормализация экспрессии *Zip1* до значений, близких к контрольным ($0,11\pm 0,33$ отн. ед.), наблюдалась при совместном введении алюминия с пек-ОМУ в течение всего экспериментального периода. Данный результат подчеркивает выраженный профилактический эффект непрерывной терапии, предотвращающей нарушения металлотранспортной функции. Динамика изменений экспрессии *Zip1* наглядно представлена на Рисунке 107.

Экспрессия гена *Zip8* достигала максимального значения в группе «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($0,60\pm 0,18$ отн. ед.), тогда как минимальный уровень зафиксирован в группе «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($-0,16\pm 0,44$ отн. ед.).

Ни один из экспериментальных показателей не демонстрировал статистически значимых отличий от контрольной группы «К-» ($p > 0,05$). При сравнении с группой «Алюминий (3 мес.)» ($0,05\pm 0,50$ отн. ед.) группы, получавшие пек-ОМУ в период воздействия алюминия, показывали сходные значения: «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» ($0,13\pm 0,48$ отн. ед.; $p = 1,000$) и «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($0,12\pm 0,17$ отн. ед.; $p = 1,000$). Сравнение различных схем коррекции не выявило существенных различий: группа «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($-0,16\pm 0,44$ отн. ед.) не отличалась от группы «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($0,60\pm 0,18$ отн. ед.; $p = 1,000$). Продолжительность применения пек-ОМУ также не оказывала значимого влияния («Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» против «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)», $p = 0,988$). Полученные данные, иллюстрирующие отсутствие выраженного регуляторного воздействия комплекса пек-ОМУ на экспрессию *Zip8*, представлены на Рисунке 108.

Экспрессия гена *Mt1a* варьировала в диапазоне от $-0,76\pm 0,44$ отн. ед. в группе «Алюминий (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)» до $0,13\pm 0,50$ отн. ед. в группе «Алюминий (3 месяца)». При сравнении с контрольной группой «К-» ($0,0\pm 0,28$ отн. ед.) ни одно из наблюдаемых изменений не достигло уровня статистической значимости ($p > 0,05$ для всех сравнений). Сравнительный анализ между экспериментальными группами также не выявил существенных различий в уровнях экспрессии *Mt1a*. Показатели групп «Алюминий (3 месяца) + вода (1 месяц)» ($-0,40\pm 0,64$ отн. ед.), «Алюминий + пек-ОМУ (3 месяца)» ($-0,25\pm 0,66$ отн. ед.) и «Алюминий + пек-ОМУ (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)» ($0,11\pm 0,24$ отн. ед.) статистически не отличались как от группы «Алюминий (3 месяца)», так и между собой ($p > 0,05$). Наблюдаемая тенденция к повышению экспрессии в группе с непрерывной коррекцией пек-ОМУ ($0,11\pm 0,24$ отн. ед.) по сравнению с группой, получавшей коррекцию только в восстановительный период ($-0,76\pm 0,44$ отн. ед.), не достигла статистической значимости ($p = 1,148$). Полученные данные, иллюстрирующие отсутствие статистически значимого влияния экспериментальных воздействий на экспрессию *Mt1a*, представлены на Рисунке 109.

Показатели экспрессии гена *Mt2a* демонстрировали вариабельность между экспериментальными группами, достигая максимального значения $0,24\pm 0,35$ отн. ед. при пероральном получении животными комплекса пек-ОМУ и минимального уровня $-0,70\pm 1,03$ отн. ед. при совместном трехмесячном введении алюминия с корректором. При сравнении с контрольной группой «К-» ($-0,0\pm 0,29$ отн. ед.) ни в одной из групп не было выявлено статистически значимых отклонений: различия с показателями групп «Алюминий (3 месяца)» ($-0,15\pm 0,45$ отн. ед.; $p = 1,000$), «Алюминий (3 месяца) + вода (1 месяц)» ($-0,04\pm 0,36$ отн. ед.; $p = 0,924$) и других вариантов воздействия оставались незначимыми.

Сравнительный анализ между экспериментальными группами также не выявил достоверных различий в уровнях экспрессии *Mt2a*. Не наблюдалось статистически значимой разницы между группой «Алюминий (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)»

($0,08 \pm 0,52$ отн. ед.) и группой «Алюминий + пек-ОМУ (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)» ($0,24 \pm 0,35$ отн. ед.; $p = 1,000$), как и между другими сравниваемыми парами. На Рисунке 110 представлена полная динамика изменений экспрессии *Mt2a* во всех исследованных группах.

Экспрессия гена *Mt3a* колебалась от $-1,0 \pm 0,53$ отн. ед. в группе «Алюминий (3 месяца) + вода (1 месяц)» до $+0,44 \pm 0,46$ отн. ед. в группе «Алюминий (3 месяца)». Ни одно из зафиксированных изменений не достигло статистической значимости относительно контрольной группы «К-»: сравнения с группами «Алюминий (3 месяца)» ($p = 1,000$), «Алюминий + пек-ОМУ (3 месяца)» ($+0,28 \pm 0,54$ отн. ед.; $p = 1,000$) и другими вариантами воздействия показали $p > 0,05$.

Сравнительный анализ между экспериментальными группами также не выявил достоверных различий. Не было обнаружено статистически значимых отличий между группой «Алюминий + пек-ОМУ (3 месяца)» ($+0,28 \pm 0,54$ отн. ед.) и группой «Алюминий (3 месяца) + вода (1 месяц)» ($-1,0 \pm 0,53$ отн. ед.; $p = 1,000$), как и между другими сравниваемыми парами. На Рисунке 111 представлена полная картина изменений экспрессии *Mt3a* при различных схемах экспериментального воздействия.

Наименьшая активность АСТ зафиксирована в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($200,54 \pm 5,61$ Ед/л), тогда как максимальное значение отмечено в группе «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($248,60 \pm 12,40$ Ед/л). При сравнении с контролем «К-» ($230,04 \pm 12,32$ Ед/л) статистически значимых различий не выявлено ни в одной из экспериментальных групп: «Алюминий (3 мес.)» ($209,18 \pm 10,72$ Ед/л; $p = 1,000$), «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($215,80 \pm 8,61$ Ед/л; $p = 1,000$) и других ($p > 0,05$).

Сравнительный анализ между опытными группами показал, что только непрерывное применение пек-ОМУ приводило к статистически значимому эффекту. Активность АСТ в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($200,54 \pm 5,61$ Ед/л) была достоверно ниже, чем в группе «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($248,60 \pm 12,40$ Ед/л; $p = 0,006$). При этом различные схемы применения пек-ОМУ не демонстрировали значимых различий между собой: сравнение групп «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» и «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» ($204,06 \pm 11,30$ Ед/л; $p = 0,769$) не выявило статистической значимости. Полученные результаты свидетельствуют о том, что именно непрерывное введение пек-ОМУ оказывает наиболее выраженный положительный эффект на нормализацию активности АСТ, что наглядно отображено на Рисунке 112.

Показатели активности АЛТ демонстрировали разнонаправленные изменения в зависимости от схемы экспериментального воздействия. Наименьшее значение фермента зафиксировано в группе «Алюминий (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)» ($69,22 \pm 4,33$ Ед/л), тогда как группа с непрерывной коррекцией пек-ОМУ показала максимальный уровень ($88,72 \pm 5,81$ Ед/л). При сравнении с контрольной группой «К-» ($79,07 \pm 2,94$ Ед/л) статистически значимых различий не обнаружено ни в одной

из экспериментальных групп ($p > 0,05$ для всех сравнений). Сравнительный анализ между опытными группами также не выявил статистически значимых различий в активности АЛТ. Несмотря на заметные численные расхождения между отдельными схемами применения пек-ОМУ, все межгрупповые сравнения оставались в зоне статистической незначимости ($p > 0,05$). На Рисунке 113 отражена полная картина изменений активности АЛТ при различных вариантах экспериментального воздействия.

Уровень ЛДГ в группе животных, получавших алюминий в течение 3 месяцев, был существенно ниже, чем в контрольной группе ($1595,88 \pm 123,08$ Ед/л против $2601,19 \pm 149,01$ Ед/л, $p < 0,001$). В группе, где воздействие алюминия сочеталось с введением воды, показатель ЛДГ не отличался от контрольного значения ($2610,50 \pm 208,73$ Ед/л, $p = 0,970$). Применение пек-ОМУ на фоне интоксикации алюминием (группа «Алюминий (3м.) + пек-ОМУ (1м.)») также приводило к значению активности ЛДГ, сопоставимому с контролем ($2737,12 \pm 162,76$ Ед/л, $p = 0,474$). В группе, получавшей комбинацию алюминия и пек-ОМУ в течение 3 месяцев, средний уровень ЛДГ составил $2122,88 \pm 92,81$ Ед/л, что было достоверно ниже, чем в контроле ($p = 0,028$). Аналогичное статистически значимое снижение активности фермента относительно контрольной группы наблюдалось и при дополнительном введении пек-ОМУ после основного курса алюминия ($1959,75 \pm 134,93$ Ед/л, $p = 0,003$). При этом между группами, получавшими разные схемы терапии пек-ОМУ — «Алюминий + пек-ОМУ (3м.)», «Алюминий + пек-ОМУ (3м.) + пек-ОМУ (1м.)», «Алюминий (3м.)» и «Алюминий (3м.) + вода (1м.)» — значимых различий в уровне ЛДГ выявлено не было. На Рисунке 114 представлено детальное распределение показателей ЛДГ во всех экспериментальных группах.

Активность щелочной фосфатазы варьировала в зависимости от схемы экспериментального воздействия, достигая минимального значения $411,25 \pm 30,35$ Ед/л в группе «Алюминий (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)» и максимального уровня $522,88 \pm 45,82$ Ед/л в группе «Алюминий (3 месяца) + вода (1 месяц)». При сравнении с контрольной группой «К-» ($455,50 \pm 34,35$ Ед/л) ни одна из экспериментальных групп не показала статистически значимых отклонений ($p > 0,05$ для всех сравнений).

Сравнительный анализ между опытными группами также не выявил достоверных различий. Хотя группы, получавшие пек-ОМУ в различных режимах, демонстрировали определенные тенденции в изменении активности ЩФ, эти различия не достигали статистической значимости ($p > 0,05$). Наиболее выраженная тенденция к нормализации активности фермента наблюдалась при непрерывном применении пек-ОМУ в течение всего экспериментального периода. Динамика изменений активности щелочной фосфатазы при различных схемах воздействия представлена на Рисунке 115.

Наименьшая концентрация общего белка зафиксирована в группе «Алюминий (3 мес.)» ($79,85 \pm 1,11$ г/л), что статистически значимо ниже контрольных значений ($91,82 \pm 2,43$ г/л; $p < 0,001$). В группе «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» показатель

восстановился до $89,38 \pm 1,13$ г/л, оставаясь ниже контроля, но без статистической значимости.

Применение пек-ОМУ в восстановительный период («Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)») способствовало повышению уровня белка до $83,94 \pm 1,49$ г/л, что оставалось значимо ниже контроля ($p=0,035$). Наиболее эффективной оказалась схема совместного введения алюминия с пек-ОМУ («Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)»), где концентрация белка достигла $98,46 \pm 10,71$ г/л, не отличаясь от контроля ($p=0,801$).

Последовательное применение препарата («Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)») показало результат $83,50 \pm 2,02$ г/л, значительно уступающий контрольным значениям ($p=0,037$). Полученные данные демонстрируют, что именно одновременное, а не последовательное введение пек-ОМУ с алюминием обеспечивает наиболее эффективную защиту белкового обмена, что отражено на Рисунке 116.

Концентрация альбумина демонстрировала статистически значимые изменения в зависимости от схемы применения пек-ОМУ. Наименьший уровень зарегистрирован в группе «Алюминий (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)» ($27,77 \pm 0,57$ г/л), тогда как максимальное значение достигнуто при совместном введении алюминия с пек-ОМУ ($34,56 \pm 1,07$ г/л). Именно эта схема показала достоверное превышение показателей относительно контрольной группы «К-» ($30,14 \pm 1,08$ г/л; $p=0,01$).

Сравнительный анализ выявил существенное преимущество одновременного применения алюминия и пек-ОМУ над другими схемами. Уровень альбумина в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 месяца)» значимо превосходил показатели групп «Алюминий (3 месяца) + вода (1 месяц)» ($p < 0,001$) и «Алюминий (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)» ($p < 0,001$). При этом продолжительная терапия пек-ОМУ после завершения экспозиции алюминием («Алюминий + пек-ОМУ (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)») не обеспечивала дополнительного положительного эффекта, демонстрируя уровень $28,79 \pm 1,16$ г/л. Полученные результаты убедительно свидетельствуют о максимальной эффективности профилактического применения пек-ОМУ, что наглядно иллюстрирует Рисунок 117.

Уровень мочевой кислоты достиг максимального значения в группе «Алюминий (3 месяца)+вода (1 месяц)» ($209,82 \pm 27,69$ мкмоль/л), тогда как минимальные показатели зарегистрированы при совместном введении алюминия с пек-ОМУ ($121,50 \pm 4,54$ мкмоль/л). Сравнение с контрольной группой «К-» ($151,06 \pm 13,73$ мкмоль/л) не выявило статистически значимых различий в большинстве экспериментальных групп ($p > 0,05$). Межгрупповой анализ показал, что уровень мочевой кислоты в группе «Алюминий (3 месяца)+вода (1 месяц)» статистически превышал показатели групп «Алюминий (3 месяца)» ($121,88 \pm 4,54$ мкмоль/л; $p=0,02$) и «Алюминий (3 месяца)+пек-ОМУ (1 месяц)» ($141,14 \pm 4,51$ мкмоль/л; $p=0,028$). Наиболее эффективной схемой оказалось одновременное введение алюминия с пек-ОМУ («Алюминий+пек-ОМУ (3 месяца)»), где уровень мочевой кислоты ($121,50 \pm 3,40$ мкмоль/л) был значимо ниже, чем

в группе «Алюминий (3 месяца)+вода (1 месяц)» ($p=0,022$) и группе с отсроченным восстановлением «Алюминий (3 месяца)+пек-ОМУ (1 месяц)» ($p=0,009$). Продолжительное применение пек-ОМУ в восстановительный период не обеспечило дополнительных преимуществ. Данные отражены на Рисунке 118.

Концентрация мочевины достигала максимальных значений в группе отрицательного контроля «К-» ($15,15 \pm 0,54$ ммоль/л), тогда как минимальный уровень зарегистрирован в группе «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($5,61 \pm 0,73$ ммоль/л). Во всех группах, подвергавшихся воздействию алюминия, отмечалось статистически значимое снижение концентрации мочевины относительно контроля ($p < 0,05$), за исключением группы «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» ($13,48 \pm 0,62$ ммоль/л; $p=0,030$). Сравнительный анализ между экспериментальными группами выявил значительные различия. Уровень мочевины в группе «Алюминий (3 мес.)» ($12,05 \pm 0,20$ ммоль/л) существенно превышал показатели групп «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($9,78 \pm 0,31$ ммоль/л; $p < 0,001$) и «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($5,61 \pm 0,73$ ммоль/л; $p < 0,001$). Наиболее выраженный корректирующий эффект отмечен при применении пек-ОМУ в восстановительный период в группе «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)», где концентрация мочевины была на 53,5% ниже, чем в группе с пассивным восстановлением «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)». Группа с непрерывной коррекцией «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» показала промежуточный результат ($8,09 \pm 0,43$ ммоль/л). Полученные данные свидетельствуют о выраженном влиянии пек-ОМУ на метаболизм мочевины, с максимальной эффективностью при назначении в восстановительный период, что отражено на Рисунке 119.

Уровень креатинина варьировал в зависимости от схемы экспериментального воздействия, достигнув минимального значения $280,30 \pm 3,62$ мкмоль/л в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» и максимального показателя $295,76 \pm 8,28$ мкмоль/л в группе «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)». Статистический анализ не выявил значимых различий между опытными группами и контролем «К-», а также между различными схемами применения пек-ОМУ ($p > 0,05$ для всех сравнений). Сравнительный анализ показал сходные результаты в группах «Алюминий (3 мес.) + пек-ОМУ (1 мес.)» ($291,26 \pm 5,47$ мкмоль/л) и «Алюминий + пек-ОМУ (3 мес.)» ($281,82 \pm 2,93$ мкмоль/л), что свидетельствует о сопоставимой эффективности различных режимов коррекции. Наблюдаемые тенденции к снижению уровня креатинина при применении пек-ОМУ, особенно в схеме непрерывного восстановления, не достигли статистической значимости, но могут указывать на определенный протекторный потенциал препарата. Динамика изменений концентрации креатинина при различных схемах экспериментального воздействия визуализирована на Рисунке 120.

Наименьший уровень триглицеридов зарегистрирован в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)» ($0,62 \pm 0,08$ ммоль/л), тогда как максимальное значение отмечено в группе «Алюминий (3 месяца) + вода (1 месяц)»

($1,95 \pm 0,17$ ммоль/л). Статистический анализ выявил достоверное увеличение концентрации триглицеридов в группе «Алюминий (3 месяца) + вода (1 месяц)» относительно контроля «К-» ($1,46 \pm 0,11$ ммоль/л; $p = 0,023$) и группы «Алюминий (3 месяца)» ($1,11 \pm 0,14$ ммоль/л; $p = 0,001$). Применение пек-ОМУ в восстановительный период («Алюминий (3 месяца) + пек-ОМУ (1 месяц)») способствовало снижению уровня триглицеридов до $1,33 \pm 0,13$ ммоль/л, что было значимо ниже показателей группы с пассивным восстановлением «Алюминий (3 мес.) + вода (1 мес.)» ($p = 0,029$). Наиболее выраженный гиполипидемический эффект достигнут при непрерывном использовании пек-ОМУ, в группе Алюминий + пек-ОМУ (3м.) + пек-ОМУ (1м.), где уровень триглицеридов ($0,62 \pm 0,08$ ммоль/л) был достоверно ниже контрольных значений ($p < 0,001$) и показателей всех других экспериментальных групп. Полученные результаты демонстрируют синергический эффект комплексного применения пек-ОМУ, обеспечивающего

коррекцию липидного обмена как в период воздействия алюминия, так и в восстановительной фазе, что наглядно представлено на Рисунке 121.

Концентрация ХСТ во всех опытных группах, получавших алюминий в различных режимах введения, не показала статистически значимых отклонений от группы К-. Так, в группе «Алюминий (3м.)» средний уровень ХСТ составил $3,38 \pm 0,29$ ммоль/л против $3,58 \pm 0,18$ ммоль/л в контроле. Аналогичным образом, в группе «Алюминий + пек-ОМУ (3м.) + пек-ОМУ (1м.)» значение $3,98 \pm 0,17$ ммоль/л также не отличалось статистически от контрольных показателей. При попарном сравнении между всеми экспериментальными группами, включая сравнение группы «Алюминий (3м.) + вода (1м.)» и группы «Алюминий + пек-ОМУ (3м.) + пек-ОМУ (1м.)», а также групп «Алюминий + пек-ОМУ (3м.)» и «Алюминий + пек-ОМУ (3м.) + пек-ОМУ (1м.)», не было выявлено статистически значимых различий. Визуальное представление распределения средних значений ХСТ по всем группам демонстрирует Рисунок 122.

Литература | References

- Alasfar R. H., Isaifan R. J. Aluminum environmental pollution: the silent killer. *Environmental Science and Pollution Research International*. 2021 Sep;28(33):44587–44597. doi: 10.1007/s11356-021-14700-0ю
- Igbokwe I. O., Igwenagu E., Igbokwe N. A. Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects. *Interdisciplinary Toxicology*. 2019 Oct;12(2):45–70.
- Sabir D. K., Al-Masri A., Aldayel M. F., Sharaf A. A. Modulating oxidative stress, apoptosis, and mitochondrial dysfunctions on cardiotoxicity induced by aluminum phosphide pesticide using resveratrol. *Toxicological Mechanisms and Methods*. 2024 Jul;34(6):727–735.
- Ganhör C., Mayr L., Zolles J. et al. Airborne Aluminum as an Underestimated Source of Human Exposure: Quantification of Aluminum in 24 Human Tissue Types Reveals High Aluminum Concentrations in Lung and Hilar Lymph Node Tissues. *Environmental Science & Technology*. 2024 Jul 02;58(26):11292–11300.
- Berlana D., López-Hellín J., Pau-Parra A., Ferrer-Costa R. Comparing Aluminum Concentrations in Adult and Pediatric Parenteral Nutrition Solutions: Multichamber-Bag versus Compounded Parenteral Nutrition. *Nutrients*. 2024 Apr 01;16(7).
- de Lima W. F., Né Y. G. S., Aragão W. A. B. et al. Global Scientific Research Landscape on Aluminum Toxicology. *Biological Trace Element Research*. 2023 Jul;201(7):3210–3224.
- Exley C. A biogeochemical cycle for aluminium? *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2003 Sep 15;97(1):1–7.
- Mudge D. W., Johnson D. W., Hawley C. M., et al. Do aluminium-based phosphate binders continue to have a role in contemporary nephrology practice? *BMC Nephrology*. 2011 May 13;12:20.
- Rahimzadeh M. R., Kazemi S., Amiri R. J., et al. Aluminum Poisoning with Emphasis on Its Mechanism and Treatment of Intoxication. *Emergency Medicine International*. 2022;2022:1480553.
- Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
- Kutlugildina G. G., Zimin Yu. S., Mustafin A. G., Sakhibgareeva M. V., Spivak S. I. The kinetic scheme of oxidative transformations of apple pectoditin is represented by an ozone-oxygen mixture // Butlerov communications. 2020;61(2):79–89. (in Russ.)
Кутлугильдина Г. Г., Зимин Ю. С., Мустафин А. Г., Сахибгареева М. В., Спивак С. И. Кинетическая схема окислительных превращений яблочного пекподтина представлена озono-кислородной смесью. Бутлеровские сообщения. 2020;61(2):79–89.
- Kutlugildina G. G., Zimin Yu. S., Gimadieva A. R., Karimov D. O., Khusnutdinova N. Yu., Repina E. F. [Complex compound of 5-aminosalicylic acid with oxidized pectin exhibiting antiulcer activity, and a method for its production]. Russian Federation Patent for Invention RU 2818 489 Cl. — 2024. (in Russ.)
Кутлугильдина Г. Г., Зимин Ю. С., Гимадиева А. Р., Каримов Д. О., Хуснутдинова Н. Ю., Репина Э. Ф. Комплексное соединение 5-аминосалициловой кислоты с окисленным пектином, проявляющее противоязвенную активность, и способ его получения. Патент РФ на изобретение RU 2818 489 Cl. — 2024.
- Ghorbel I., Chaabane M., Elwej A. et al. Expression of metallothioneins I and II related to oxidative stress in the liver of aluminium-treated rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2016 Oct;122(4):214–222. doi: 10.1080/13813455.2016.1187176.
- Wang X., Li M., Liu Y. et al. Oxidized pectin/collagen self-healing hydrogel accelerated wound healing and skin regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2025;237:124618.
- Khosrowshahi N. D., Amini H., Khoshfetrat A. B., Rahbarghazi R. Oxidized pectin/collagen self-healing hydrogel accelerated the regeneration of acute hepatic injury in a mouse model. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2025 Apr;304(Pt 2):140931. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.140931.
- Myshkin V. A., Enikeyev D. A., Srubilin D. V. Antitoxic protection of the body using antidotes, antioxidants and other membrane protectors. *Archiv EuroMedica*. 2014;4(2):51–56.