

Зиатдинова М.М., Валова Я.В., Мухаммадиева Г.Ф., Усманова Э.Н., Каримов Д.О., Хуснутдинова Н.Ю., Байгильдин С.С.

Транскрипционная активность генов металлотионеинов при остром отравлении хлоридом кадмия

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

Введение. Кадмий входит в число наиболее токсичных тяжёлых металлов, широко распространённых в окружающей среде. Он обладает длительным периодом полураспада, приводя к накоплению его в различных органах, что в свою очередь является причиной возникновения многих неблагоприятных последствий для здоровья человека.

Материал и методы. Моделирование острого токсического отравления хлоридом кадмия производили на белых беспородных крысах мужского пола, разделённых на группы в зависимости от времени экспозиции. В качестве материалов исследования использовали образцы тканей печени и почек, в гомогенате которых определяли уровень мРНК генов металлотионеинов.

Результаты. Установлено, что максимальное значение кратности экспрессии гена *MT1* в печени достигалось спустя 6 ч ($16,36 \pm 0,77$; $p < 0,001$), а в почках по прошествии суток после интоксикации хлоридом кадмия ($6,12 \pm 0,43$; $p < 0,001$). Активность гена *MT2* в печени была наиболее выраженной в интервале 2–4 ч ($14,35 \pm 1,73$; $14,78 \pm 1,44$; $p < 0,001$), в то время как в почечных тканях увеличение количества мРНК зафиксировано спустя 24 ч ($7,32 \pm 0,63$; $p < 0,001$). Уровень транскриптов гена *MT3* в тканях печени был понижен на всём протяжении эксперимента, однако в почечной ткани отмечена противоположная картина, где максимум достигался спустя сутки после введения токсиканта ($6,14 \pm 0,31$; $p < 0,001$).

Заключение. Таким образом, повышение экспрессии металлотионеина в ответ на присутствие в организме ионов кадмия может применяться в качестве генетического маркера при отравлении его солями.

К л ю ч е в ы е с л о в а : хлорид кадмия; экспрессия; острая интоксикация; металлотионеины.

Для цитирования: Зиатдинова М.М., Валова Я.В., Мухаммадиева Г.Ф., Усманова Э.Н., Каримов Д.О., Хуснутдинова Н.Ю., Байгильдин С.С. Транскрипционная активность генов металлотионеинов при остром отравлении хлоридом кадмия. Гигиена и санитария. 2020; 99 (9): 990-995. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-9-990-995>

Для корреспонденции: Зиатдинова Мунира Мунировна, мл. науч. сотр. отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» Роспотребнадзора, 450106, Уфа. E-mail: munira.munirovna@yandex.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Зиатдинова М.М., Каримов Д.О.; сбор и обработка материала – Зиатдинова М.М., Валова Я.В., Мухаммадиева Г.Ф., Усманова Э.Н., Байгильдин С.С.; статистическая обработка – Зиатдинова М.М., Валова Я.В.; написание текста – Зиатдинова М.М.; утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Поступила 30.06.2020

Принята к печати 18.09.2020

Опубликована 20.10.2020

Munira M. Ziatdinova, Yana V. Valova, Guzel F. Mukhammadiyeva, Elza N. Usmanova, Denis O. Karimov, Nadezhda Yu. Khusnutdinova, Samat S. Baygil'din

Transcriptional activity of metallothionein genes in acute poisoning caused by cadmium chloride

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

Introduction. Cadmium is one of the most toxic heavy metals widely distributed in the environment. It has a long half-life, leading to its accumulation in various organs, which in turn is the cause of many adverse effects on human health.

Material and methods. Acute toxic poisoning with cadmium chloride was simulated on white outbred male rats, divided into groups depending on the exposure time. Samples of liver and kidney tissues were used as study materials, in the homogenate of which the level of mRNA of metallothionein genes was determined.

Results. It was found that the maximum value of the multiplicity of *MT1* gene expression in the liver was reached after 6 hours (16.36 ± 0.77 ; $p < 0.001$), and in the kidneys one day after intoxication with cadmium chloride (6.12 ± 0.43 ; $p < 0.001$). The activity of the *MT2* gene in the liver was most pronounced in the range of 2–4 hours (14.35 ± 1.73 ; 14.78 ± 1.44 ; $p < 0.001$), while in the renal tissues an increase in the amount of mRNA was recorded after 24 hours (7.32 ± 0.63 ; $p < 0.001$). The level of *MT3* gene transcripts in liver tissues was decreased throughout the experiment, however, the opposite picture was observed in the kidney tissue, where the maximum was reached one day after the administration of the toxicant (6.14 ± 0.31 ; $p < 0.001$).

Conclusion. Thus, an increase in metallothionein expression in response to the presence of heavy metal ions in the body can be used as a genetic marker in case of poisoning with various compounds.

Key words: cadmium chloride; expression; acute intoxication; metallothioneins.

For citation: Ziatdinova M.M., Valova Ya.V., Mukhammadiyeva G.F., Usmanova E.N., Karimov D.O., Khusnutdinova N.Yu., Bajgil'din S.S. Transcriptional activity of metallothionein genes in acute poisoning caused by cadmium chloride. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2020; 99 (9): 990-995. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-9-990-995>

For correspondence: Munira M. Ziatdinova, MD, junior researcher of the Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory of laboratory animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation. E-mail: munira.munirovna@yandex.ru

Information about the authors:

Ziatdinova M.M., <https://orcid.org/0000-0002-1848-7959>;

Mukhammadiyeva G.F., <https://orcid.org/0000-0002-7456-4787>;

Karimov D.O., <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>;

Khusnutdinova N.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-5596-8180>

Valova Ya.V., <https://orcid.org/0000-0001-6605-9994>

Usmanova E.N., <https://orcid.org/0000-0002-5455-6472>

Baygil'din S.S., <https://orcid.org/0000-0002-1856-3173>

Conflict of Interest. The authors of the article have no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no financial sponsorship

Contribution: the concept and design of the study – Ziatdinova M.M., Karimov D.O.; the collection and processing of material – Ziatdinova M.M., Valova Ya.V., Mukhammadiyeva G.F., Usmanova E.N., Bajgil'din S.S.; statistical processing – Ziatdinova M.M., Valova Ya.V.; writing text – Ziatdinova M.M.; approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

Received: June 30, 2020

Accepted: September 18, 2020

Published: October 20, 2020

Введение

Кадмий (Cd) является одним из наиболее токсичных тяжёлых металлов, широко распространённым в окружающей среде как в естественных условиях, так и в качестве загрязнения, поступающего из промышленных, сельскохозяйственных и других источников [1]. Он представляет собой серьёзную проблему для общественного здоровья, занимая седьмое место среди наиболее опасных веществ для здоровья человека с точки зрения частоты воздействия и токсичности в рейтинге Агентства по регистрации токсичных веществ и болезней (ATDSR) [2]. Cd влияет на широкий спектр клеточных событий, включая аномальную пролиферацию, апоптоз и канцерогенез. Вследствие долгого периода полураспада данного металла (от 5 до 30 лет) его воздействие даже на относительно низких уровнях со временем вызывает нефро-, остео- и иммунотоксичность. К тому же длительное воздействие Cd оказывает влияние на печень, репродуктивную и сердечно-сосудистую системы [3–5]. Кроме того, Cd был классифицирован как канцероген первой категории Международным агентством по исследованию рака при ингаляционном поступлении в организм [6]. Получена достоверная корреляция между хроническим воздействием Cd и риском развития рака толстого кишечника, молочной железы, рака лёгких и простаты человека [7].

В стрессовых ситуациях организм активирует ряд защитных механизмов, таких как эффективное выведение, снижение абсорбции, иммобилизация в клеточных гранулах или образование связывающих молекул [8]. Большая часть Cd в организме связана с небольшим, богатым цистеином металлосвязывающим белком металлотиионеином (MT) [5].

Металлотиионеины представляют собой группу низкомолекулярных (6000–7000 Da) металлосвязывающих белков, которые впервые были идентифицированы из коры почки лошади в 1957 г. Margoshes и Vallee [9]. Высокое содержание цистеина (~30%) наделяет их способностью связывать эссенциальные (Zn и Cu) и токсичные (Cd, Ag и Hg) ионы тяжёлых металлов [10]. В физиологических условиях MT связывают преимущественно Zn, но показано, что в условиях окислительного стресса происходит вытеснение Zn тяжёлыми металлами [11]. Благодаря наличию тиоловых групп MT защищают клетки от свободнорадикальных процессов; окисление этих групп приводит к высвобождению ионов металлов и олигомеризации белка [12]. Известно, что MT участвуют в транспорте, депонировании, обмене ионов металлов, участвуют в процессах ангиогенеза и апоптоза, в защите от металл-индуцированных повреждений ДНК, антиоксидантной защите, влияют на иммунный ответ и канцерогенез [5, 11].

Также они способны предотвращать окислительный стресс и апоптотическую гибель клеток в ЦНС. Они способствуют выживанию и регенерации нейронов *in vivo* и защищают от токсичности ионов металлов, окислительного стресса и повреждения цитокинов вследствие церебральной ишемии или инфекции, поэтому их можно рассматривать как ранние и чувствительные биомаркеры окислительно-восстановительной сигнализации при нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Паркинсона, Альцгеймера, множественная системная атрофия, инсульт и эпилепсия [13].

У млекопитающих охарактеризованы четыре класса MT. Различия представленных форм обусловлены преимущественно небольшими изменениями в первичной структуре, посттрансляционными модификациями, скоростью разложения и типом включенного иона металла. Несмотря на физико-химическое сходство, их роль и встречаемость в тканях значительно различаются. MT-1 и MT-2 присутствуют почти во всех типах тканей, в то время как MT-3 и MT-4 экспрессируются в ограниченных типах тканей. MT-3 обнаружен главным образом в головном мозге, а также в тканях сердца, почек и тестикулах; MT-4 – в многослойных плоскоклеточных эпителиальных клетках кожи, пищевода и языка [14, 15].

Экспрессия и активация белков MT вызываются целым рядом факторов, включая глюкокортикоиды, цитокины, активные формы кислорода, радиацию, ионы металлов, воспалительные (липополисахариды) и алкилирующие агенты [10].

Ключевую роль в регуляции транскрипции промотора генов *MT1* и *MT2* играет фактор транскрипции-1 (MTF-1), который активируется при связывании с цинком и, соединяясь с металлочувствительным элементом промотора (MRE), вызывает экспрессию генов *MT1* и *MT2* [11, 16].

По данным Klaassen и соавт. отсутствие *MT1* и *MT2* увеличивает Cd-индуцированную летальность и гепатотоксичность, тогда как повышенная экспрессия MT связана с более благоприятным прогнозом [17]. В то же время сообщается, что индукция MT не является гарантией защиты от Cd-индуцированного повреждения почек [18].

Цель данного исследования заключалась в изучении активности генов *MT1*, *MT2* и *MT3* в печени и почках крыс при остром отравлении хлоридом кадмия.

Материал и методы

Острое токсическое поражение печени и почек вызвали путём перорального введения водного раствора CdCl₂ (дихлорид кадмия) в дозе 2,9 мг/кг массы тела однократно. Почки декапитированных крыс подвергали исследованию

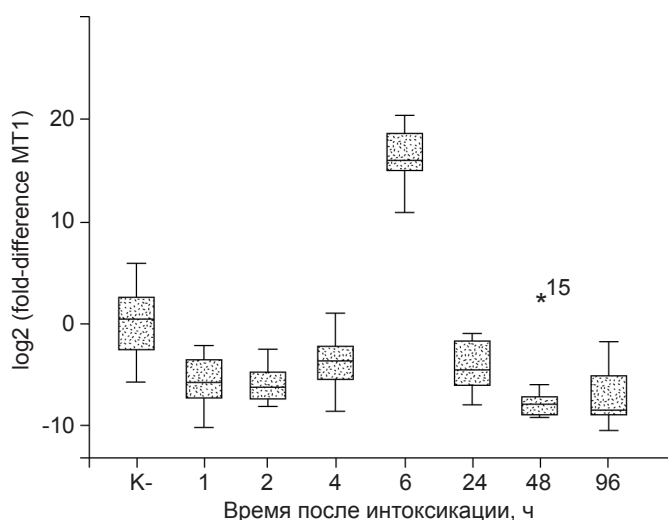


Рис. 1. Экспрессия гена *MT1* в ткани печени крыс в зависимости от временной экспозиции.

спустя 1; 2; 4; 6; 24; 48 и 96 ч после затравки. Животным контрольной группы внутрижелудочно вводили воду. Всего в опытах использовано 96 белых беспородных крыс мужского пола (84 крысы в экспериментальной группе и 12 – в группе контроля) с массой тела 150–190 г. Условия содержания и кормления были одинаковы для всех групп животных. При уходе за животными, питании и проведении экспериментов руководствовались базисными нормативными документами: Рекомендациями Комитета по экспериментальной работе с использованием животных при Минздраве России, рекомендациями ВОЗ, рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (Приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755 и приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.). Кусочки почек сразу после декапитации и вскрытия замораживали жидким азотом и заливали ExtractRNA (ЗАО Евrogen). Для определения функционального состояния печени и почек использовали следующие методы: экстракция тотальной РНК тризолом, обратная транскрипция и ПЦР-амплификация в режиме реального времени на приборе RotorGene (QIAGEN). Анализ экспрессии генов в тканях печени и почек крыс в норме и при токсическом отравлении проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием олигонуклеотидных специфичных праймеров фирмы «Евроген», содержащих интеркалирующий краситель SYBRGreen. Статистическую обработку данных исследования проводили с использованием прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Нулевую гипотезу об отсутствии статистически значимых различий между изучаемыми группами определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента, поскольку кратность экспрессии была представлена количественными данными с нормальным распределением. Проверку распределения выборки на отсутствие различий с гипотетическим нормальным распределением осуществляли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Проведён анализ активности гена *MT1* в тканях печени и почек в зависимости от времени после интоксикации хлоридом кадмия.

Анализ кратности экспрессии гена *MT1* в тканях печени выявил статистически значимые различия между группами ($F = 95,76$; $p < 0,001$) (рис. 1). После введения $CdCl_2$ в

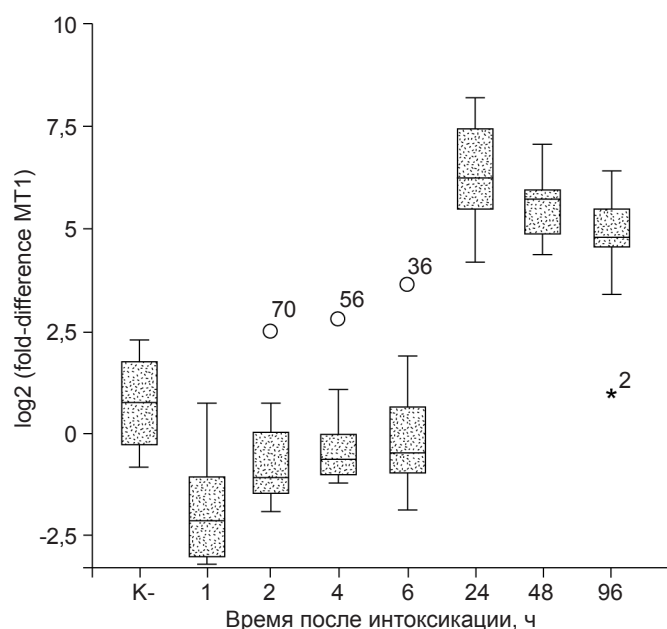


Рис. 2. Экспрессия гена *MT1* в почечной ткани крыс в зависимости от времени экспозиции.

той или иной степени отмечалось снижение уровня транскриптов на всём промежутке эксперимента. Исключение составила лишь группа с 6-часовой экспозицией, где наблюдался значительный и резкий подъём кратности экспрессии ($16,36 \pm 0,77$; $p < 0,001$). Так, в интервале от 1 до 2 ч был отмечен существенный спад количества транскриптов ($-5,67 \pm 0,69$; $-6,03 \pm 0,54$; $p < 0,001$), который сменялся небольшим подъёмом спустя 4 ч ($-4,06 \pm 0,79$; $p = 0,013$). На промежутке времени от 6 до 24 ч происходило внезапное снижение кратности экспрессии ($-4,23 \pm 0,73$; $p = 0,008$) с дальнейшим его падением через 48 ч ($-7,17 \pm 0,93$; $p < 0,001$). Практически идентичные показатели обнаружены при оценке уровня экспрессии спустя 96 ч после введения $CdCl_2$ ($-7,12 \pm 0,88$; $p < 0,001$).

Оценка кратности экспрессии этого же гена в почках также выявила статистически значимые различия между группами ($F = 52,92$; $p < 0,001$) (рис. 2). Через час после интоксикации $CdCl_2$ отмечено незначительное снижение количества транскриптов ($-0,41 \pm 0,54$; $-2,36 \pm 0,41$). В интервале от 1 до 6 ч наблюдалось плавное повышение кратности экспрессии гена *MT1* ($-2,36 \pm 0,41$; $-1,26 \pm 0,40$; $-0,48 \pm 0,32$; $-0,03 \pm 0,70$). Через сутки произошёл резкий скачок уровня транскриптов в сторону подъёма ($6,12 \pm 0,43$) с последующим понижением спустя 48 и 96 ч ($5,21 \pm 0,20$; $4,18 \pm 0,48$). Стоит отметить, что уровни значимости различий с контрольной группой достигли показатели, отмеченные в группах с 24-, 48- и 96-часовой экспозицией ($p < 0,001$).

При оценке экспрессии гена *MT2A* в печёночной ткани авторами выявлены статистически значимые различия между группами ($F = 47,06$; $p < 0,001$) (рис. 3). Через час после введения $CdCl_2$ наблюдали незначительное снижение количества транскриптов по сравнению со значением контроля ($0,00 \pm 0,41$; $-1,58 \pm 0,51$). Однако спустя 2 ч после начала эксперимента отмечен резкий подъём уровня транскриптов гена *MT2A*, что статистически значимо превышало значение, полученное в контрольной группе ($14,35 \pm 1,73$; $p < 0,001$). Спустя 4 ч после интоксикации $CdCl_2$ существенных изменений в количестве транскриптов не наблюдали ($14,78 \pm 1,44$; $p < 0,001$). Вместе с тем более продолжительное воздействие токсиканта приводило к более выраженному угнетению транскрипционной активности гена *MT2A* ($-5,23 \pm 0,51$;

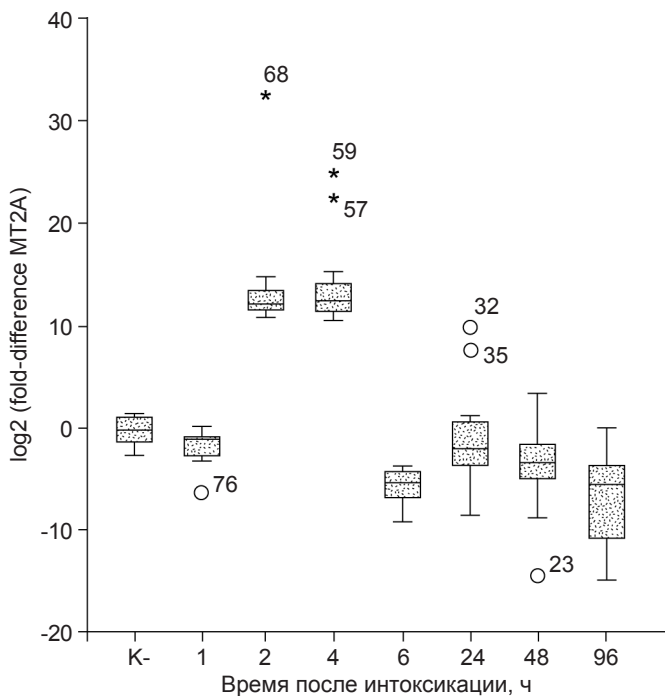


Рис. 3. Экспрессия гена *MT2A* в печени крыс в зависимости от времени экспозиции.

$-0,71 \pm 1,69$; $-3,91 \pm 1,53$). К тому же своего минимального значения экспрессия исследуемого гена достигла спустя 96 ч после начала эксперимента ($-7,59 \pm 1,39$; $p = 0,009$).

Анализ кратности экспрессии того же гена в почечной ткани также достиг уровня статистической значимости ($F = 33,83$; $p < 0,001$) (рис. 4). Спустя час после интоксикации CdCl_2 происходило существенное снижение кратности экспрессии гена *MT2A* относительно группы контроля ($-0,36 \pm 0,34$; $-2,57 \pm 0,43$; $p = 0,045$). Наиболее выраженная реакция в ответ на введение токсиканта отмечена через 24 ч с момента начала эксперимента ($7,32 \pm 0,63$; $p < 0,001$). В интервалах времени от 1 до 6 ч происходило плавное повышение количества транскриптов, однако сравнение полученных различий с контрольной группой уровня значимости не достигло ($-2,57 \pm 0,43$; $-1,19 \pm 0,37$; $0,06 \pm 0,26$; $0,94 \pm 0,84$). На промежутке от 24 до 48 ч наблюдали резкий спад кратности экспрессии гена *MT2A* ($7,32 \pm 0,63$; $1,67 \pm 0,22$; $p < 0,001$), переходящий в плавное снижение уровня транскриптов спустя 96 ч ($0,88 \pm 0,43$; $p < 0,001$).

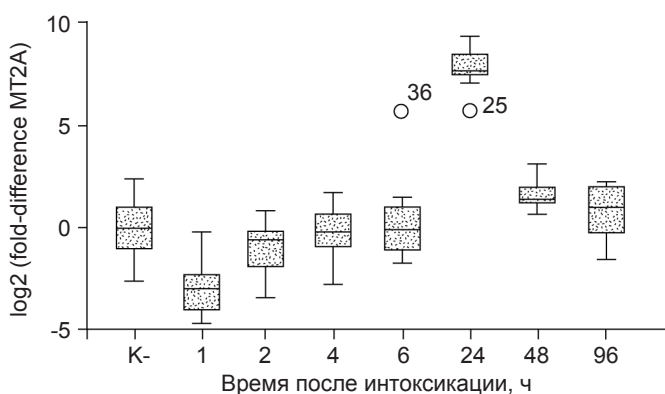


Рис. 4. Экспрессия гена *MT2A* в почечной ткани в зависимости от времени экспозиции.

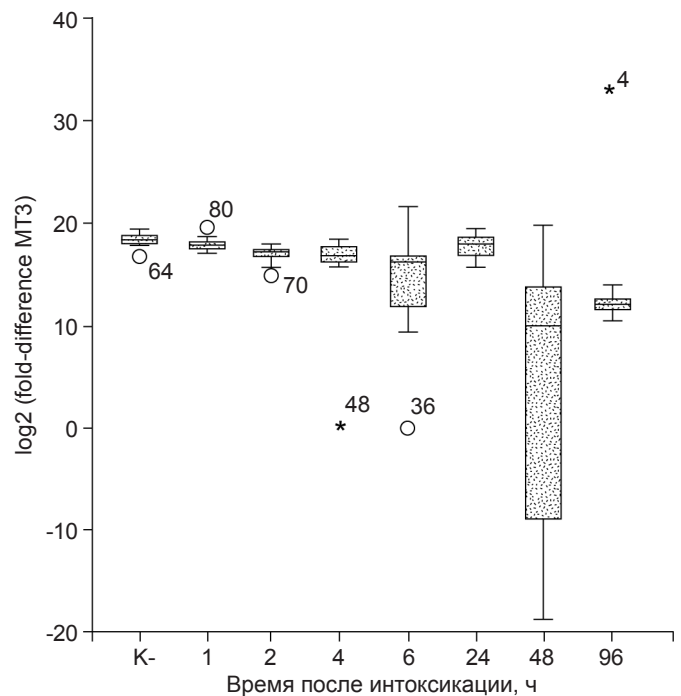


Рис. 5. Экспрессия гена *MT3* в ткани печени в зависимости от времени экспозиции.

После интоксикации CdCl_2 активность гена *MT3* в тканях печени крыс достигла уровня статистической значимости между группами ($F = 7,24$; $p < 0,001$) (рис. 5). На всём промежутке эксперимента наблюдалось в более или менее выраженной степени снижение количества транскриптов ($0,00 \pm 0,20$; $-0,30 \pm 0,19$; $-1,37 \pm 0,25$; $-1,30 \pm 0,28$; $-2,71 \pm 1,06$; $-0,51 \pm 0,36$; $-14,22 \pm 4,57$; $-4,42 \pm 1,92$), при

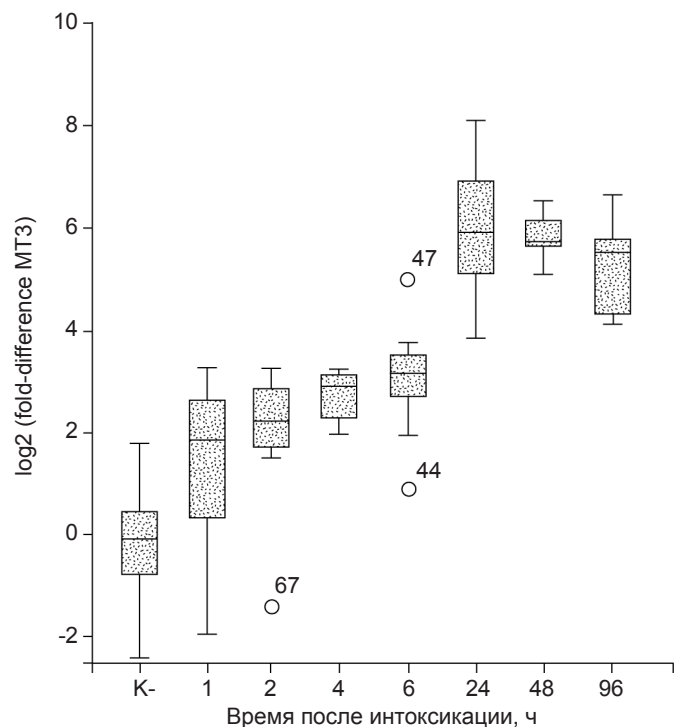


Рис. 6. Экспрессия гена *MT3* в почечной ткани в зависимости от времени экспозиции.

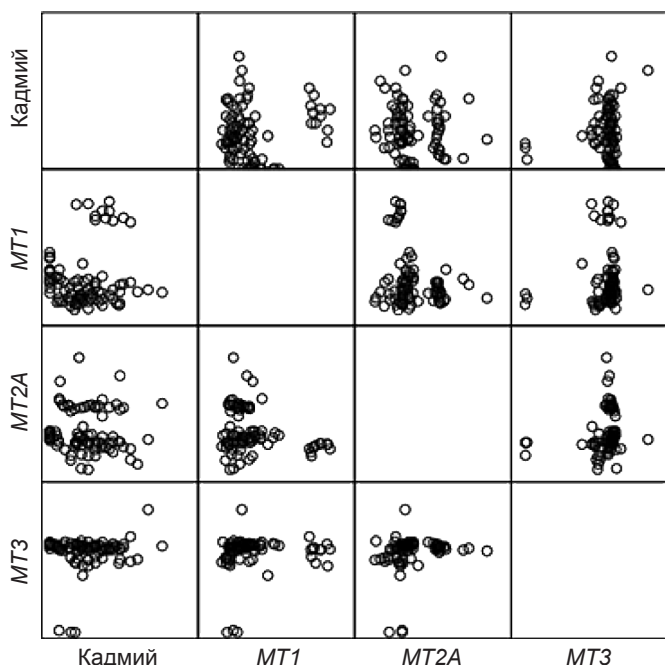


Рис. 7. Корреляционный анализ генов металлотионеинов в тканях печени.

этом минимальное значение данного показателя отмечено спустя 48 ч после введения $CdCl_2$ ($-14,22 \pm 4,47$). Однако уровни значимости различий с контрольной группой достигли сравнение лишь групп с двух- и четырёхчасовой временной экспозицией ($p = 0,009$ и $p = 0,039$ соответственно).

Статистическую значимость между группами показала и оценка кратности экспрессии гена *MT3* в почечной ткани животных после введения $CdCl_2$ ($F = 8,25$; $p < 0,001$) (рис. 6). В противоположность результатам, полученным в тканях печени, уровень транскриптов в почках имел тенденцию к подъёму на всем промежутке эксперимента. В интервале от 1 до 6 ч наблюдали плавное повышение кратности экспрессии ($-0,11 \pm 0,38$; $1,33 \pm 1,90$; $2,10 \pm 0,45$; $2,72 \pm 0,36$; $3,18 \pm 0,40$) с более резким увеличением количества транскриптов спустя сутки ($6,14 \pm 0,31$). Далее отмечалось незначительное снижение показателей экспрессии по прошествии 48 ч и 96 ч ($5,99 \pm 0,26$; $5,36 \pm 0,46$ соответственно). При этом уровни значимости различий с контрольной группой достигли практически все группы исследования. Исключение составила лишь группа, соответствующая 1-часовой временной экспозиции.

Проведён корреляционный анализ между уровнем экспрессии генов *MT1*, *MT2* и *MT3* и содержанием Cd в тканях печени и почек. Сравнение уровня транскриптов генов металлотионеинов в печени показало, что экспрессия гена *MT2A* имела отрицательную корреляцию с экспрессией гена *MT1* ($r = -0,241$, $p = 0,023$). Кроме того, была обнаружена тенденция к наличию положительной корреляции между экспрессией гена *MT2A* и *MT3* ($r = 0,201$, $p = 0,059$) (рис. 7).

Сравнение уровня экспрессии исследуемых генов в почках показало, что экспрессия гена *MT2A* имела сильную положительную корреляцию с экспрессией генов *MT1* и *MT3* ($r = 0,805$, $p < 0,001$ и $r = 0,607$ $p < 0,001$ соответственно), а также слабую положительную корреляцию с содержанием кадмия в почках ($r = 0,214$, $p = 0,040$). В отношении гена *MT3* выявлена сильная корреляционная связь его транскрипционной активности с уровнем экспрессии генов *MT1* и *MT2A* ($r = 0,779$, $p < 0,001$ и $r = 0,607$ $p < 0,001$ соответственно) и с содержанием кадмия в почках ($r = 0,59$, $p < 0,001$) (рис. 8).

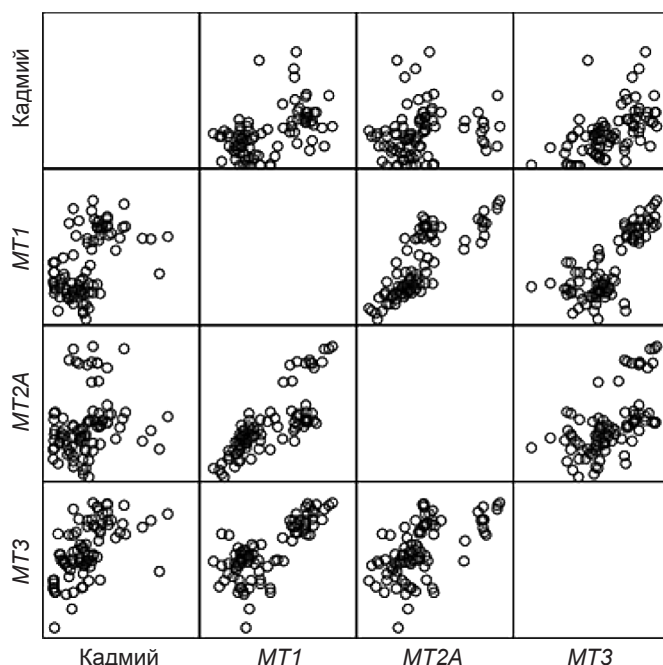


Рис. 8. Корреляционный анализ генов металлотионеинов в тканях почек.

Обсуждение

Cd является известным канцерогенным и иммунотоксичным тяжёлым металлом. Токсичность Cd основана на так называемой ионной мимикрии, которая определяется заменой таких элементов, как кальций (Ca) и цинк (Zn). Это может привести к неправильному функционированию белка и в конечном итоге вызвать стресс эндоплазматического ретикулума (ER) и гибель клеток [19].

Выполнение многообразных функций МТ зависит от их внутриклеточного распределения или компартиментализации, а также тканевой экспрессии этих белков. Поскольку считается, что МТ индуцируется в тканях в ответ на воздействие Cd и участвует в его метаболизме и детоксикации, уровень экспрессии МТ в тканях и его выведение из организма должны отражать неблагоприятное воздействие данного металла [20].

В проведённом эксперименте наиболее выраженные изменения активности гена *MT1* в тканях печени отмечены через 6 ч после введения $CdCl_2$. На данном этапе зафиксирован резкий скачок количества мРНК, что может свидетельствовать об активации белков МТ в ответ на попадание в организм токсина. Однако остальные промежутки времени эксперимента характеризовались пониженным уровнем транскриптов.

При анализе транскрипционной активности гена *MT1* в почечной ткани наблюдалось повышение кратности экспрессии в интервале от 6 до 24 ч, на котором отмечен резкий скачок количества мРНК. Дальнейшее поведение гена характеризовалось плавным понижением уровня транскриптов, тем не менее данные показатели были на порядок выше значений, полученных на начальном этапе эксперимента. Известно, что комплекс Cd-МТ в первую очередь образуется в печени, а затем медленно выделяется в кровоток и достигает почек. После фильтрации Cd реабсорбируется в проксимальных канальцах и откладывается в почках. МТ растворяется, выделяя форму свободных металлов, способную вызывать повреждения [21]. Этим можно объяснить более раннюю активацию гена *MT1* в печени с более поздней экспрессией в почках.

Оценивая активность гена *MT2A* в тканях печени, авторы наблюдали максимальный уровень транскриптов по прошествии 2 и 4 ч. Однако данный подъём сменился значительным снижением кратности экспрессии в интервале 6–96 ч, что, возможно, связано с истощением пула адаптационного потенциала системы антиоксидантной защиты. В аналогичных исследованиях показано, что в ответ на воздействие Cd обе изоформы *MT1* и *MT2A* в тканях печени достигали своего пика спустя 3 ч после начала эксперимента. Кроме того, отмечалось, что количество мРНК гена *MT1* было ниже, чем уровень транскриптов гена *MT2A* [22].

Изучая транскрипционную активность того же гена в почечной ткани, отмечено незначительное снижение количества мРНК гена *MT2A* спустя час после интоксикации CdCl₂ с последующим плавным повышением и резким скачком кратности экспрессии через сутки.

При анализе выраженности гена *MT3* в тканях печени на всём промежутке эксперимента зарегистрировано снижение активности гена с минимальным показателем через 2 сут после введения хлорида кадмия.

Другую картину наблюдали при оценке экспрессии гена *MT3* в почечной ткани в ответ на интоксикацию хлоридом кадмия. Во всех временных точках эксперимента количество транскриптов мРНК повышалось и достигало максимального значения в интервале 24–96 ч с момента начала эксперимента, что, возможно, отражает стадии развития ответа на окислительный стресс.

Ранее сообщалось, что *MT3* экспрессируется главным образом в головном мозге, но его наличие также обнаружено в некоторых периферических органах, включая незначитель-

ную активность гена в почечных клетках крыс [23]. Учитывая данный факт, можно объяснить отрицательную экспрессию гена *MT3* в тканях печени и присутствие его активности в почечной ткани. Кроме того, показано, что, несмотря на наличие металлочувствительного элемента, ген *MT3* не реагирует на такие индукторы, как тяжёлые металлы, окислительный стресс и глюкокортикоиды [10].

Несмотря на то что гены *MT1* и *MT2A* активируются одним фактором транскрипции, корреляционный анализ исследуемых генов в печени показал лишь наличие слабой отрицательной связи экспрессии гена *MT2A* с экспрессией гена *MT1*.

Однако при поиске связи между активностью исследуемых генов и содержанием кадмия в почках обнаружена сильная положительная корреляция между экспрессией генов *MT2A*, *MT3* и *MT1*, а также сильная положительная корреляция между экспрессией гена *MT3* и накоплением Cd в почках.

Заключение

Таким образом, сверхэкспрессия генов MT в ответ на поступление ионов тяжёлых металлов может служить генетическим маркером отравления организма. Однако обнаруженные различия в уровне содержания количества мРНК генов MT требуют дальнейшего исследования для оценки поведения данных генов в условиях хронической интоксикации Cd, поскольку изменения в экспрессии генов при хроническом воздействии могут быть менее значительными по сравнению с острым отравлением.

Литература (п.п. 1–2, 4–7, 9–10, 13–23 см. References)

- Кривошеев А.Б., Потеряева Е.Л., Кривошеев Б.Н., Куприянова Л.Я., Смирнова Е.Л. Токсическое действие кадмия на организм человека. *Медицина труда и промышленная экология*. 2012; (6): 35–42.
- Пыхтеева Е.Г. Металлопротеин: биологические функции 3. Практическое применение металлопротеина и его диагностическое значение. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2010; (2): 58–63.
- Рыспекова Н.Н., Нурмухамбетов А.Н., Балабекова М.К., Аканов А.А. Металлопротеины и их роль в адаптации к действию повреждающих факторов (Обзор литературы). *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2014; (1): 298–303.
- Безручко Н.В., Рубцов Г.К., Григорьева О.М. Металлопротеины: взаимосвязь с окислительной модификацией белков и липидов, методы мониторинга. *Вестник Томского государственного педагогического университета*. 2015; (11): 161–8.

References

- Nair A.R., Degheselle O., Smeets K., Van Kerkhove E., Cuypers A. Cadmium-Induced Pathologies: Where is the oxidative balance lost (or not)? *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14(3): 6116–43. <https://doi.org/10.3390/ijms14036116>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ATSDR's Substance Priority List; 2019. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html>
- Krivosheev A.B., Poteryaeva E.L., Krivosheev B.N., Kupriyanova L.Ya., Smirnova E.L. Toxic effects of cadmium on the human body (literature review). *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2012; (6): 35–42. (in Russian)
- Buha A., Matovic V., Antonijevic B., Bulat Z., Curcic M., Renieri E.A., et al. Overview of cadmium thyroid disrupting effects and mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(5): 1501. <https://doi.org/10.3390/ijms19051501>
- Thirumoorthy N., Shyam Sunder A., Manisenthil Kumar K., Senthil Kumar M., Ganesh G., Chatterjee M. A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology. *World J. Surg. Oncol.* 2011; 9: 54. <https://doi.org/10.1186/1477-7819-9-54>
- International Agency for Research on Cancer. List of classifications, Volumes 1–122. Available at: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications-volumes/>
- Pal D., Suman S., Kolluru V., Sears S., Das T.P., Alattasi H., et al. Inhibition of autophagy prevents cadmium-induced prostate carcinogenesis. *Br. J. Cancer*. 2017; 117(1): 56–64. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.143>
- Pykhteeva E.G. Metallothionein: biological functions 3. practical application of metallothionein and his diagnostic value. *Aktual'nye problemy transportnoy meditsiny*. 2010; (2): 58–63. (in Russian)
- Hamer D.H. Metallothionein. *Annu. Rev. Biochem.* 1986; 55: 913–51. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.55.070186.004405>
- Vašák M., Meloni G. Mammalian metallothionein-3: new functional and structural insights. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(6): 1117. <https://doi.org/10.3390/ijms18061117>
- Ryspekova N.N., Nurmukhambetov A.N., Balabekova M.K., Akanov A.A. Metallothioneins and their role in adaptation to damaging factors. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta*. 2014; (1): 298–303. (in Russian)
- Bezruchko N.V., Rubtsov G.K., Grigor'eva O.M. Metallothionein: relationship with oxidative modification of proteins and lipids, monitoring methods. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta*. 2015; (11): 161–8. (in Russian)
- Ryspekova N.N., Nurmukhambetov A.N., Balabekova M.K., Akanov A.A. Metallothioneins and their role in adaptation to damaging factors. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta*. 2014; (1): 298–303. (in Russian)
- Bezruchko N.V., Rubtsov G.K., Grigor'eva O.M. Metallothionein: relationship with oxidative modification of proteins and lipids, monitoring methods. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta*. 2015; (11): 161–8. (in Russian)
- Sharma S., Rais A., Sandhu R., Nel W., Ebadi M. Clinical significance of metallothioneins in cell therapy and nanomedicine. *Int. J. Nanomedicine*. 2013; 8: 1477–88. <https://doi.org/10.2147/ijn.s42019>
- Ruttkey-Nedecky B., Nejdil L., Gumulec J., Zitka O., Masarik M., Eck-schlager T., et al. The role of metallothionein in oxidative stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14(3): 6044–66. <https://doi.org/10.3390/ijms14036044>
- Takahashi S. Molecular functions of metallothionein and its role in hematological malignancies. *J. Hematol. Oncol.* 2012; 5: 41. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-5-41>
- Kimura T., Kambe T. The functions of metallothionein and ZIP and ZnT transporters: an overview and perspective. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17(3): 336. <https://doi.org/10.3390/ijms17030336>
- Klaassen C.D., Liu J. Metallothionein transgenic and knock-out mouse models in the study of cadmium toxicity. *J. Toxicol. Sci.* 1998; (23 Suppl. 2): 97–102. https://doi.org/10.2131/jts.23.supplementii_97
- Liu Y.P., Liu J., Palmiter R.D., Klaassen C.D. Metallothionein-I-transgenic mice are not protected from acute cadmium–metallothionein-induced nephrotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1996; 137(2): 307–15. <https://doi.org/10.1006/taap.1996.0085>
- Sandbichler A.M., Höckner M. Cadmium protection strategies—a hidden trade-off? *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17(1): 139. <https://doi.org/10.3390/ijms17010139>
- Lu J., Jin T., Nordberg G., Nordberg M. Metallothionein gene expression in peripheral lymphocytes from cadmium-exposed workers. *Cell Stress Chaperones*. 2001; 6(2): 97–104. [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(2001\)006%3C0097:mgeipl%3E2.0.co;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(2001)006%3C0097:mgeipl%3E2.0.co;2)
- Andjelkovic M., Buha Djordjevic A., Antonijevic E., Antonijevic B., Stanic M., Kotur-Stevuljevic J., et al. Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver, and kidney. *J. Environ. Res. Public Health*. 2019; 16(2): 274. <https://doi.org/10.3390/ijerph16020274>
- Ren X.Y., Zhou Y., Zhang J.P., Feng W.H., Jiao B.H. Expression of metallothionein gene at different time in testicular interstitial cells and liver of rats treated with cadmium. *World J. Gastroenterol.* 2003; 9(7): 1554–8. <https://doi.org/10.3748/wjg.v9.i7.1554>
- Hozumi I., Suzuki J.S., Kanazawa H., Hara A., Saio M., Inuzuka T., et al. Metallothionein-3 is expressed in the brain and various peripheral organs of the rat. *Neurosci. Lett.* 2008; 438(1): 54–8. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.04.047>