Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр
медико-профилактических технологий управления рисками
здоровью населения»

Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Е.В. Пескова

ПРОТЕОМНЫЙ КОД В ГИГИЕНЕ

Монография

Пермь
2026

УДК 616-092; 57.044
ББК 51.2

Рецензенты:
О.Ю. Милушкина, член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук,
ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва;
Р.В. Бузинов, доцент, доктор медицинских наук, заслуженный врач
Российской Федерации,
ФБУН «Северо-Западный центр гигиены и общественного здоровья»,
г. Санкт-Петербург

Протеомный код в гигиене: Монография / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Е.В. Пескова. – Пермь: ООО «Издательский дом «Типография купца Тарасова», 2026. – 296 с.: ил.

В монографии рассматриваются подходы к прогнозу и предикции риска здоровью человека на основе исследования вариативности протеомного профиля в условиях воздействия химических веществ среды обитания, преимущественно с атмосферным воздухом. Рассмотрена динамика протеомного ремоделинга как отражение воздействия химической контаминации биосред. Представлен систематизированный анализ информации о структурно-зависимых молекулярных механизмах модификации протеомного профиля при воздействии токсикантов. Приведены результаты собственных исследований по идентификации протеомных биомаркеров и их применению в системе донозологической диагностики и оценки рисков для здоровья человека. Изложены методологические основы анализа вариативности протеомного профиля в условиях воздействия различных химических веществ и их комбинаций. Рассмотрены перспективы и вызовы протеомных исследований в условиях химической контаминации биосред для задач прикладных гигиенических исследований: для выявления молекулярных маркеров воздействия химических веществ, прогнозирования негативных эффектов, формирования превентивных стратегий минимизации рисков.

Издание предназначено для специалистов, работающих в сфере гигиены и профилактической медицины, в органах и учреждениях Роспотребнадзора, учреждениях научного и образовательного профиля, интернов, аспирантов, докторантов, практических врачей медико-профилактического направления.

ISBN 978-5-91437-201-6

© ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 2026
© Оформление. ООО «ИД «Типография купца Тарасова», 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5

Список литературы к разделу «Введение» 7

ГЛАВА 1. ДИНАМИКА ПРОТЕОМНОГО РЕМОДЕЛИНГА КАК ОТРАЖЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ БИОСРЕД 9

1.1. Современные гигиенические аспекты химического загрязнения объектов среды обитания и пути поступления токсикантов в организм ... 9

1.2. Биосреды человека как репрезентативные матрицы для оценки нагрузки токсикантами и ранних биологических эффектов 16

1.3. Молекулярные основы химически индуцированных нарушений здоровья: протеомика в декодировании сигнатур токсического воздействия 25

Список литературы к главе 1 31

ГЛАВА 2. СТРУКТУРНО-ЗАВИСИМЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МОДИФИКАЦИИ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ 39

2.1. Металлоэлементы: механизмы протеомной токсичности 39

2.2. Ароматические углеводороды и их влияние на протеомный гомеостаз 57

2.3. Неорганические фторсодержащие соединения: специфика нарушения белкового обмена 67

2.4. Комбинированное воздействие химических веществ на протеомный профиль 73

Список литературы к главе 2 80

ГЛАВА 3. МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АНАЛИЗА ВАРИАТИВНОСТИ ПРОТЕОМА: ПОДХОДЫ И ИНСТРУМЕНТЫ 105

3.1. Сквозная экспериментальная платформа: от пробоподготовки до количественного масс-спектрометрического анализа 105

3.2. Биоинформатическая интерпретация результатов на основе визуализации и интеграции данных 117

Список литературы к главе 3 127

ГЛАВА 4. ПРОТЕОМНЫЕ БИОМАРКЕРЫ В ПРЕДИКТИВНОЙ ОЦЕНКЕ РИСКОВ ЗДОРОВЬЮ ПРИ ХИМИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ 130

4.1. Идентификация биомаркеров химической экспозиции 130

4.2. Верификация и валидация протеомных биомаркерных панелей в экспериментальных условиях 138
4.3. Построение предиктивных моделей на основе интегральных протеомных данных 156
Список литературы к главе 4 232

ГЛАВА 5. ПЕРСПЕКТИВЫ И ВЫЗОВЫ ПРОТЕОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В УСЛОВИЯХ ХИМИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ 242
5.1. Интеграция протеомного анализа с различными направлениями биологии и медицины 242
5.2. Протеомный анализ как прикладной инструмент в гигиенических исследованиях 247
5.3. Сопоставительный анализ результатов экспериментального моделирования и натурных наблюдений 264
Список литературы к главе 5 269
Приложение к главе 5 276

ВВЕДЕНИЕ

В условиях интенсивной технологической трансформации и форсированного инновационного развития экономики химическое загрязнение объектов среды обитания трансформируется в системный риск для здоровья населения. Данный вызов носит многоуровневый характер: от первичных молекулярно-клеточных нарушений до долгосрочных медико-демографических последствий, что определяет проблему как приоритетную в повестке устойчивого развития государства [Онищенко Г.Г. и др., 2024; Зайцева Н.В. и др., 2025]. В этом контексте Россия актуализирует стратегические приоритеты, напрямую связывая благополучие нации с качеством окружающей среды и эффективностью систем профилактики и минимизации рисков как неотъемлемого условия обеспечения здоровья нынешних и будущих поколений. Такой подход является фундаментальным условием обеспечения национальной безопасности и сохранения трудового потенциала страны в рамках реализации курса на технологический суверенитет.

Особую остроту проблема приобретает в условиях постоянного и длительного воздействия химических веществ, в том числе в составе опасных комбинаций, формирующих устойчивый риск ущербообразующих последствий для здоровья. Одной из доминирующих причин химического загрязнения атмосферного воздуха в большинстве регионов РФ являются выбросы стационарных источников. Согласно данным систематического мониторинга, в 70 % городов фиксируются превышения предельно допустимых концентраций (ПДК) по приоритетным токсикантам [Государственный доклад, 2025]. Наиболее напряженная санитарно-гигиеническая ситуация характерна для промышленных центров с высокой концентрацией металлургических кластеров (Урал, Сибирь, Центральная Россия). Пылегазовые эмиссии данных предприятий здесь представляют собой многокомпонентные смеси, включающие оксиды металлов (меди, никеля, хрома, алюминия и др.), полициклические ароматические углеводороды (в частности, бенз(а)пирен), газообразные соединения фтора, взвешенные вещества, кремнийсодержащие аэрозоли и др. Перечисленные вещества обладают выраженной кумулятивной способностью (накопление в биосредах), демонстрируют синергизм при совместном воздействии и характеризуются мультитаргетной цитотоксичностью. Индукция хронического воспаления, развитие системного окислительного стресса, эпигенетические модификации и дисрегуляция сигнальных путей пролиферации и апоптоза обуславливают значительные медико-демографические потери [Ракитский В.Н.

и др., 2020]. Повышенную восприимчивость к данной экспозиции демонстрируют уязвимые группы населения: дети в критические периоды развития, взрослое население репродуктивного возраста и лица с отягощенным коморбидным фоном.

Вместе с тем традиционные системы гигиенического контроля и профилактики имеют ряд фундаментальных ограничений. К ним относятся: отсутствие учета комбинированного действия многокомпонентных смесей, что снижает точность прогноза риск-ассоциированных нарушений; игнорирование индивидуальной генетической детерминированности ответа; смещение диагностического фокуса на стадию манифестации клинических симптомов. Кроме того, эпидемиологические методы обладают недостаточной прогностической мощностью в условиях малоинтенсивного хронического воздействия.

В ответ на данные вызовы формируется новая научно-практическая парадигма: переход от констатирующего реагирования к персонализированной превенции. Данный подход базируется на ранней детекции молекулярных маркеров экспозиции, предиктивном моделировании рисков с применением омиксных технологий и разработке таргетных стратегий профилактики [Зайцева Н.В. и др., 2025]. Ведущую роль в изучении патогенетических механизмов на молекулярно-клеточном уровне играет протеомика, обладающая наибольшим потенциалом в идентификации биомаркеров ранних метаболических сдвигов и оценке системного ответа организма на химическое воздействие [Corzett T.H. et al., 2010; Зайцева Н.В. и др., 2020]. Высокая аналитическая значимость протеомики обусловлена прецизионным детектированием изменений белкового профиля биологических сред (плазма крови, моча, слюна), что позволяет осуществлять мониторинг динамических процессов на молекулярно-клеточном уровне. Потенциал построения многоуровневых моделей – от субклеточного до популяционного – существенно повышает прогностическую надежность оценки рисков для здоровья [Anderson N.L., Anderson N.G., 2002; Corzett et al., 2010]. Практическое приложение протеомного профилирования имеет широкую направленность. Характеристика изменений белковой композиции биосред, в первую очередь плазмы крови, используется для изучения молекулярного ответа организма человека на существующие условия среды обитания, а также прогноза потенциальных негативных эффектов на самой ранней стадии их формирования, предшествующей развитию признаков и симптомов метаболических нарушений вследствие клеточно-тканевого повреждения [Зайцева Н.В. и др., 2020]. Применение технологий протеомного профилирования позволяет уточнить и расширить спектр органов-мишеней, ассоциированных с воздействием специфических токсикантов, что повышает точность прогноза развития заболеваний и негативных исходов, а также отдаленных эффектов воздействия [Wetmore B.A., Merrick B.A., 2004; Зайцева Н.В. и др., 2020, 2024a, 2024b; Землянова М.А. и др., 2022, 2023].

Вместе с тем, несмотря на значительное число исследований, данные об изменениях экспрессии генов и синтеза белков при воздействии токсичных химических веществ остаются фрагментарными и неоднозначными. Сохраняет-

ся дефицит инструментов для количественного прогнозирования каскадных негативных эффектов на различных иерархических уровнях организации живого. Недостаточно изучены протеомные сдвиги при комбинированном воздействии химических смесей, отсутствуют универсальные панели биомаркеров, существует неопределенность пороговых концентраций веществ в биосредах, инициирующих молекулярные нарушения при комбинированной экспозиции.

Интеграция данных мониторинга, биомаркерных исследований и прогностического моделирования на основе протеомного анализа позволяет разрабатывать эффективные научно обоснованные превентивные стратегии минимизации рисков, повышать точность оценок риск-ассоциированных нарушений здоровья, в том числе при аэрогенном воздействии химических веществ. Такой подход позволяет повысить эффективность мер профилактики, направленных на минимизацию рисков и причинение вреда здоровью, что способствует формированию здоровой, продуктивной и устойчивой к внешним воздействиям популяции.

В связи с этим выявление и систематизация молекулярных маркеров, ассоциированных с воздействием химических веществ, представляет собой актуальную гигиеническую задачу. Её решение обеспечивает эффективный инструмент для раннего прогнозирования негативных эффектов, расширяет перечень белковых мишеней, вовлечённых в патогенетические процессы при воздействии химических веществ, в том числе комбинированного характера, повышает адресность и эффективность формирования превентивных стратегий минимизации рисков и устранения негативных последствий их реализации.

Представленная работа отвечает на вызовы эпохи антропоцена, где химическое загрязнение становится одним из ключевых факторов, определяющих здоровье популяции. Внедрение протеомных технологий в систему санитарно-эпидемиологического надзора открывает путь к превентивной медицине нового поколения, способной выявлять риски на самой ранней стадии, персонализировать профилактические меры, обеспечивать устойчивое развитие человеческого капитала.

Результаты исследования вносят вклад в решение стратегических задач охраны здоровья населения, укрепления национальной безопасности и технологического суверенитета страны в долгосрочной перспективе.

Список литературы к разделу «Введение»

Государственный доклад, 2025. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2024 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2025. 424 с.

Зайцева, Н.В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современный инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, О.В. Долгих // Гигиена и санитария. 2020; 99(1): 6–12. DOI: 10.47470/0016-9900-2020-99-1-6-12.

Зайцева, Н.В. Клеточно-молекулярные и системные биомаркеры в гигиене / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Ю.В. Кольдибекова. Пермь, 2025. 744 с. ISBN: 978-5-6054514-0-2.

Зайцева, Н.В. Оценка нарушений метаболических процессов на основе квантификации белков-мишеней у детей при аэрогенном воздействии оксида алюминия / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Е.В. Пескова и др. // Гигиена и санитария. 2024a; 103(9): 1009–1016. DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-9-1009-1016.

Зайцева, Н.В. Прогноз вероятных негативных эффектов, инициированных трансформацией протеомного профиля плазмы крови человека при комбинированном воздействии химических веществ / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Е.В. Пескова // Гигиена и санитария. 2024b; 103(5): 407–415. DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-5-407-415.

Землянова, М.А. Протеомное профилирование плазмы крови при хронической экспериментальной экспозиции оксидом алюминия как инструмент прогноза негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека / М.А. Землянова, Е.В. Пескова, М.С. Степанков // Гигиена и санитария. 2023; 102(10): 1125–1131. DOI: 10.47470/0016-9900-2023-102-10-1125-1131.

Землянова, М.А. Создание биоинформационной матрицы молекулярных маркеров для прогнозирования риск-ассоциированных нарушений здоровья / М.А. Землянова, Н.В. Зайцева, Ю.В. Кольдибекова и др. // Анализ риска здоровью. 2022; 2: 174–184. DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.16.

Онищенко, Г.Г. Анализ риска здоровью в стратегии государственного социально-экономического развития: монография: в 2 т. / Г.Г. Онищенко, Н.В. Зайцева, А.Ю. Попова [и др.]; под общей ред. Г.Г. Онищенко, Н.В. Зайцевой. 2-е изд., перераб. и доп. М.; Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2024. 1048 с.

Ракитский, В.Н. Современные вызовы и пути совершенствования оценки и управления рисками здоровью населения / В.Н. Ракитский, С.В. Кузьмин, С.Л. Авалиани и др. // Анализ риска здоровью. 2020; 3: 23–29. DOI: 10.21668/health.risk/2020.3.03.

Anderson, N.L. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects / N.L. Anderson, N.G. Anderson // Molecular and Cellular Proteomics. 2002; 1(11): 845–867. DOI: 10.1074/mcp.r200007-mcp200.

Corzett, T.H. Statistical analysis of variation in the human plasma proteome / T.H. Corzett, I.K. Fodor, M.W. Choi [et al.] // J Biomed Biotechnol. 2010; 2010: 258494. DOI: 10.1155/2010/258494.

Wetmore, B.A. Toxicoproteomics: proteomics applied to toxicology and pathology / B.A. Wetmore, B.A. Merrick // Toxicol Pathol. 2004; 32(6): 619–642. DOI: 10.1080/01926230490518244.

ГЛАВА 1

ДИНАМИКА ПРОТЕОМНОГО РЕМОДЕЛИНГА КАК ОТРАЖЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ БИОСРЕД

1.1. Современные гигиенические аспекты химического загрязнения объектов среды обитания и пути поступления токсикантов в организм

В современной гигиенической науке приоритетной задачей выступает системная оценка причинно-следственных связей между факторами среды обитания и их негативным воздействием на здоровье населения. Эта задача приобретает особую значимость в контексте сохраняющегося глобального тренда к росту заболеваемости, ассоциированной с загрязнением среды обитания [ВОЗ, 2017-2019; WHO, 2018], недостаточной эффективности существующих регуляторных и управленческих стратегий по профилактике и минимизации риска для здоровья [Зайцева Н.В., 2014; Онищенко Г.Г. и др., 2014; Попова А.Ю., 2014; Miri M. et al., 2018]. Сложная структура экспозиционных нагрузок, выражающаяся в комбинированном и комплексном воздействии химических веществ при различных путях поступления в организм («химические коктейли»: смеси токсичных металлов, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), летучих органических соединений, взвешенных частиц и др.), сочетанное влияние факторов различного генеза (химический, физический и др.), а также хронический характер воздействия с отсроченными и кумулятивными эффектами [Ракитский В.Н. и др., 2019; Manisalidis I. et al., 2020] усугубляют сложившуюся тенденцию и выводят проблему в число приоритетных.

Ключевыми детерминантами риска определены: многофакторность и синергизм взаимодействующих агентов, затрудняющие прогнозирование токсического эффекта; длительность воздействия, ведущая к накоплению повреждений на клеточно-молекулярном уровне; неравномерность распределения рисков в популяции, обусловленная биологическими и социальными диспропорциями [Рахманин Ю.А. и др., 2015; Зайцева Н.В. и др., 2019b; Ракитский В.Н. и др., 2020]. Они характеризуются уязвимостью определенных групп населения в критические возрастные периоды, связанной с анатомо-физиологическими особенностями, и, как следствие, незрелостью или истощением барьерных и детоксикационных систем, ведущих к более высокой экспозиции на единицу массы тела. Социальная незащищенность отдельных слоев населения с ограниченным доступом к качественной медицинской помощи и ресурсам адаптации может снижать способность к репарации и компенсации повреждений. В совокупности это может усиливать негативные последствия для здоровья, обусловленные воздействием факторов риска среды обитания.

Международные и национальные экспертные оценки свидетельствуют и подтверждают в течение длительного периода времени, что химический фактор среды обитания выступает в качестве приоритетного с точки зрения формирования риск-ассоциированных нарушений здоровья населения [WHO, 2011a, 2013, 2023; ВОЗ, 2013; Р 2.1.10.3968-23, 2023]. Только в Европейском регионе ежегодно регистрируется более 4 миллионов случаев смерти и 103 миллионов потерянных лет здоровой жизни. Количество случаев соматической неинфекционной патологии, ассоциированной с химическими токсикантами среды обитания, в детском возрасте достигает 30-40 % от общего бремени болезней. Речь идёт не только о респираторных заболеваниях (астма, бронхиты), но и о нарушениях нейрокогнитивного развития (снижение IQ, синдром дефицита внимания и гиперактивности), эндокринных дисфункциях и онкогематологических заболеваниях [Prüss-Ustün A. et al., 2016; WHO, 2022]. Данная статистика не только служит индикатором текущих потерь, но и формирует тревожную перспективу: раннее повреждение здоровья ребёнка программирует повышенные риски хронических заболеваний во взрослом возрасте, снижая потенциал будущего поколения и его продолжительности жизни.

Приоритетность химического фактора с позиций ущербообразующих последствий, о чем свидетельствует сохраняющийся уровень заболеваемости и смертности в условиях экспозиций химических загрязнений, обусловлена его масштабностью многосредового (с атмосферным воздухом, питьевыми водами, продуктами питания и др.) воздействия на популяционном уровне. Это связано с объективными процессами в рамках государственной политики, в том числе с необходимостью обеспечения технологического лидерства России, конкурентоспособности высокотехнологической продукции, созданной на основе отечественных производственных процессов. Многоуровневость характера повреждений у конкретного индивидуума, затрагивающих молекулярно-клеточные процессы (ДНК-повреждения, окислительный стресс и др.), органные функции в целом, патогенетически детерминирует различные нарушения метаболизма, проявляющиеся в конечном итоге в виде широкого спектра ущербообразующих состояний. Они включают, но не ограничиваются, онкологические заболевания, патологию нервной, дыхательной, сердечно-сосудистой, иммунной, эндокринной систем и др. Данное многообразие проявлений не случайно и свидетельствует о глубоком системном воздействии комплекса химических загрязнителей (таких, например, как металлы, стойкие органические соединения, тонкодисперсные частицы и др.) на фундаментальные биологические процессы. Они способны выступать в роли мутагенов (провоцируя онкогенез), эндокринных разрушителей (нарушая гормональный баланс и метаболизм), прооксидантов (вызывая окислительный стресс и хроническое воспаление), а также иммунотоксикантов (подавляя или, наоборот, гиперактивируя иммунный ответ). Наблюдаемый спектр патологических процессов и состояний является прямым отражением множества точек приложения токсикантов на клеточном и субклеточном уровнях, что подтверждает необходимость рассматривать здоровье населения и состояние среды обитания как единую, взаимосвязанную систему.

Ведущей риск-образующей средой в глобальном масштабе является атмосферный воздух. Основным источником загрязнения атмосферного воздуха, как в Российской Федерации, так и в большинстве промышленно развитых стран, остаются компоненты выбросов от стационарных источников, среди которых ключевую роль играют предприятия металлургического и топливно-энергетического комплексов [Зайцева Н.В. и др., 2019]. На этих предприятиях в ходе производства генерируются значительные объёмы пылегазовых выбросов, характеризующихся многокомпонентностью. В структуре выбросов доминируют твёрдые частицы (PM2.5, PM10), диоксид серы (SO_2), оксиды азота (NOx), оксид углерода, металлы (никель, медь, марганец, хром, ванадий, алюминий и др.), а также ряд специфических органических и неорганических соединений (например, полициклические ароматические углеводороды, газообразные и твердые соединения фтора). В условиях наращивания промышленного производства формируются зоны с особо высоким уровнем загрязнения атмосферного воздуха и стабильно сохраняется совокупная токсическая нагрузка на население, проживающее на таких территориях. Для подавляющего большинства веществ – компонентов выбросов, а особенно для их реальных комбинаций механизмы токсического действия, отдалённые последствия для здоровья (включая трансгенерационные эффекты) и особенности синергизма или антагонизма остаются слабо изученными, что существенно усложняет оценку их опасности для здоровья [Munsif R.J. et al., 2021]. Существующая система регламентирования, основанная преимущественно на оценке рисков отдельных веществ в референтных дозах, не соответствует скорости появления новых веществ и соединений, накоплению данных об их комбинированном воздействии и возможных синергетических эффектах. Это создаёт методологический и регуляторный разрыв: потенциальный вклад таких комплексных смесей в глобальный рост неинфекционных заболеваний (онкологических, респираторных, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных) может быть статистически достоверно выявлен лишь спустя десятилетия латентного периода, когда масштаб воздействия и ущерб для здоровья населения становятся необратимыми.

При аэрогенных экспозициях химических веществ на человека первоначальным реципиентом являются органы дыхательной системы (верхний отдел – нос, глотка, трахея, средний и нижний – бронхи и легкие), которые занимают уникальное положение в организме, поскольку образуют обширную (площадью 70-100 м^2) и тонкую границу раздела между внутренней средой и внешней атмосферой. Дыхательные пути от носоглотки до альвеол выстланы эпителием, находящимся в состоянии непрерывного прямого контакта с вдыхаемым воздухом. Эта анатомическая особенность делает респираторный тракт основными входными воротами для любых респирабельных (вдыхаемых) компонентов атмосферы, включая газы, пары, аэрозоли и твёрдые частицы.

Для защиты от постоянной экспозиции дыхательная система обладает рядом сложных барьерных и клиренсных механизмов. Специализированные эпителиальные клетки, выстилающие различные отделы тракта (мерцательные,

бокаловидные, клетки Клара, альвеолоциты), обеспечивают полифункциональную активность. Ключевыми защитными системами являются [Cook D.N., Bottomly K., 2007; Voynow J.A., Rubin B.K., 2009]:

– мукоцилиарный клиренс – скоординированное движение ресничек перемещает слой слизи с осаждёнными частицами из нижних дыхательных путей в глотку для последующего удаления;

– антиоксидантная и детоксикационная системы – клетки эпителия экспрессируют ферменты (например, цитохром Р450, супероксиддисмутазу), нейтрализующие реактивные молекулы и метаболизирующие ксенобиотики;

– иммунологический барьер – эпителиальные и резидентные иммунные клетки (альвеолярные макрофаги, дендритные клетки) модулируют врождённый и гуморальный иммунный ответ, обеспечивая распознавание и элиминацию патогенов и чужеродных агентов.

Несмотря на эту многоуровневую защиту, при интенсивной кратковременной или низкоуровневой хронической экспозиции её ёмкость может быть превышена. Токсиканты при поступлении в дыхательные пути преодолевают барьеры несколькими путями [Pisi G. et al., 2009]:

– механическое и химическое раздражение – взвешенные частицы (PM2.5, PM10) и газообразные вещества выраженного раздражающего и пульмонотоксического действия (SO_2, O_3, NOx) повреждают эпителий, нарушая функцию ресничек и увеличивая проницаемость барьера;

– нейрогенное воспаление – вещества преимущественно раздражающего действия (высокорастворимые в воде – аммиак, хлористый водород, формальдегид, акролеин; средне- и низкорастворимые в воде – хлор, диоксид азота и др.) стимулируют чувствительные С-волокна блуждающего нерва, в изобилии иннервирующие эпителий. Это вызывает аксон-рефлекс, приводящий к выбросу нейропептидов (например, субстанции Р), что провоцирует нейрогенное воспаление, бронхоконстрикцию (сужение дыхательных путей) и кашлевой рефлекс;

– системная диссеминация – микро- и наночастицы (оксиды металлов), а также вещества, растворенные в воде, способны проникать через альвеолярно-капиллярную мембрану непосредственно в кровоток, становясь источником системной токсичности для отдельных органов (сердце, сосуды, головной мозг и др.).

Следовательно, при ингаляционном пути поступления химические вещества выступают двояко: как локальный фактор риска развития повреждения респираторной системы (астма, ХОБЛ, фиброз, пневмония) и как ключевой механизм запуска окислительного стресса и хронического низкоинтенсивного воспаления, способствующего развитию широкого спектра неинфекционных заболеваний.

Систематизация имеющейся информации о модифицирующем действии наиболее распространённых при аэрогенной экспозиции токсических веществ – взвешенных частиц (PM10, PM2.5, ультрадисперсных частиц PM0.1), специфических химических агентов (оксидов серы, азота, углерода; метал-

лов – Al, As, Cd, Cr, Ni, Pb; летучих органических соединений – формальдегид, бензол, фенолы) – позволила выделить ключевые универсальные звенья в патоморфозе заболеваний органов дыхания [Gupta R.C., 2019; Зайцева Н.В. и др., 2025]. Эти звенья формируют континуум повреждения от начальной альтерации до хронического воспаления и ремоделирования ткани:

– прямое цитотоксическое и прооксидантное действие – индуцируется оксидативный стресс, повреждающий липиды, белки и ДНК клеток респираторного эпителия, как следствие – активация апоптоза или некроз;

– дисфункция и альтерация барьерного эпителия – повреждение реснитчатых клеток и альвеолоцитов I типа, ведущее к нарушению мукоцилиарного клиренса, повышению проницаемости альвеолярно-капиллярной мембраны и разрушению сурфактанта;

– нарушение репарации и регенерации – токсическое подавление функции альвеолоцитов II типа, ответственных за синтез сурфактанта и регенерацию эпителия, способствует формированию гиалиновых мембран и фиброзу;

– дисрегуляция иммунного ответа – активируется сложное взаимодействие между альвеолярными макрофагами, дендритными клетками и лимфоцитами с последующей поляризацией иммунного ответа в сторону Th2/Th17-типа, что способствует аллергической сенсибилизации и нейтрофильному воспалению, стимуляции образования сенсибилизированных Т-эффекторов, подавлению продукции ключевых регуляторных интерлейкинов (например, IL-10) и интерферонов – нарушающая противовирусную защиту и обуславливающая развитие воспаления.

Последовательная или сочетанная реализация данных патогенетических механизмов создаёт основу для развития и прогрессирования широкого спектра хронических неинфекционных заболеваний органов дыхания: от бронхита, бронхиальной астмы и ХОБЛ до интерстициальных болезней лёгких. Это обуславливает формирование дополнительной, предотвратимой заболеваемости, приводящей к росту медико-демографических потерь (смертность, инвалидизация, снижение качества жизни) и связанных с ними значимых экономических последствий [Зайцева Н.В. и др., 2017]. Подтверждением сказанного являются статистические данные, свидетельствующие, что основную долю (около 70 %) дополнительных случаев, ассоциированных с качеством атмосферного воздуха, у населения в целом по Российской Федерации формируют болезни органов дыхания. Эта проблема носит системный характер и регистрируется более чем в половине субъектов РФ. При этом среднероссийские уровни превышены на территориях порядка 17-20 % регионов в диапазоне от 1,5 до 10 и более раз. Заболеваемость всего населения болезнями органов дыхания вероятностно ассоциирована с загрязнением атмосферного воздуха гидроксибензолом и его производными, аммиаком, азота оксидом, хлором и его соединениями, свинцом, марганцем, взвешенными веществами и прочими примесями [Государственный доклад, 2025]. На детское население (0–14 лет) приходится от 58 % до 65 % всех респираторных заболеваний, связанных с качеством воздуха. Повышенная чувствительность детского контингента к

воздействию аэрогенных экспозиций обусловлена совокупностью анатомо-физиологических и иммунологических особенностей:

– относительно высокой лёгочной вентиляцией на единицу массы тела;

– незрелостью мукоцилиарного аппарата и местных механизмов антиоксидантной защиты;

– повышенной проницаемостью альвеолярно-капиллярного барьера;

– более высокой относительной дозой ингаляционного воздействия (на единицу массы тела).

Негативное воздействие с атмосферным воздухом загрязняющих веществ на детский организм способно запускать каскад патологических процессов в респираторной системе. Особенно значимыми последствиями хронической аэрогенной экспозиции становятся длительно текущие воспалительные и гиперреактивные состояния дыхательных путей. К ним относятся рецидивирующие риниты, синуситы, ларингиты и трахеобронхиты, а также более тяжёлые формы патологий: хронический аллергический ринит и бронхиальная астма с выраженным аллергическим компонентом. При этом патогенное влияние каждого химического агента имеет свою специфику, определяемую его физико-химическими свойствами и тропностью к определённым структурам дыхательной системы [Маклакова О.А., 2019; Попова А.Ю. и др., 2019].

В этом аспекте особую опасность представляют взвешенные частицы (PM), чьё неблагоприятное действие в первую очередь связано со способностью нарушать целостность эпителиального барьера и оказывать прямое цитотоксическое воздействие на клетки респираторного тракта [Neuberger M., Moshammer H., 2004]. Механизм воздействия определяется дисперсностью частиц:

– частицы PM10 осаждаются преимущественно в верхних и крупных бронхах;

– респирабельная фракция (PM2.5 и менее) проникает в дистальные отделы легких, достигая альвеолярного пространства.

В лёгких частицы подвергаются фагоцитозу альвеолярными макрофагами. Однако при высокой или хронической нагрузке этот защитный механизм становится дезадаптивным: происходит «перегрузка» макрофагов, их дегрануляция и высвобождение провоспалительных цитокинов, что инициирует хроническое воспаление, окислительный стресс и может вести к пролиферативным изменениям и фиброзу [Neuberger M., Moshammer H., 2004; WHO, 2018]. Помимо механического и химического раздражения, мелкодисперсные частицы часто выступают конденсационными ядрами и адсорбентами для других высокотоксичных соединений (металлов, ПАУ, например, пиренов), доставляя их глубоко в дыхательные пути и усиливая комплексный негативный эффект. Результаты масштабных эпидемиологических исследований, включая смешанные продольные и поперечные когортные обследования школьников, убедительно доказывают прямую корреляцию между повышенными концентрациями в атмосферном воздухе таких приоритетных загрязнителей, как диоксид серы (SO_2) и взвешенные частицы (PM), и ростом заболеваемости, а также увеличением частоты смертности от болезней органов дыхания среди детского населения [WHO, 2018].

Проблемно ориентированный анализ имеющихся научных данных убедительно свидетельствует: загрязнение атмосферного воздуха представляет собой многогранную гигиеническую проблему глобального масштаба. Её сущность обусловлена присутствием в воздушной среде комплекса химических соединений различной структуры и физико-химических свойств, включая:

• газообразные вещества (оксиды азота, серы, озон, летучие органические соединения);

• аэрозоли (в том числе вторичные, образующиеся в атмосфере в результате фотохимических реакций);

• твёрдые частицы различной дисперсности – от ультрамелких наночастиц (< 100 нм) до крупнодисперсных взвесей (> 10 мкм).

При ингаляционном поступлении эти загрязнители проникают в дыхательные пути, где реализуют своё биологическое действие. Важно подчеркнуть, что их роль не сводится к инициированию отдельных негативных эффектов. Накопленные эпидемиологические и экспериментальные данные позволяют квалифицировать атмосферные загрязнители как ключевой этиологический и патогенетический фактор в формировании хронической респираторной патологии у подверженного воздействию населения, в первую очередь у детей.

Этиологическая роль загрязнителей проявляется в следующем:

– прямая инициация воспалительных реакций в респираторном тракте;

– сенсибилизация иммунной системы с последующим развитием аллергических заболеваний;

– подавление местных защитных механизмов (мукоцилиарного клиренса, антимикробной активности сурфактанта);

– повреждение эпителиального барьера дыхательных путей.

В результате даже относительно низкие уровни хронического воздействия атмосферных загрязнителей способны запускать каскад патологических реакций:

– локальное воспаление и окислительный стресс в дыхательных путях;

– сенсибилизация и формирование аллергической сенситизации;

– структурная перестройка бронхиального эпителия и ремоделирование дыхательных путей;

– прогрессирующее снижение лёгочной функции.

Эти процессы создают предпосылки для развития широкого спектра хронических респираторных заболеваний, включая бронхиальную астму, хронический бронхит, рецидивирующие инфекции дыхательных путей, нарушение роста и развития лёгочной ткани.

Таким образом, современные научные данные обосновывают необходимость рассмотрения загрязнения атмосферного воздуха не как изолированного фактора риска, а как системного патогенетического драйвера хронической респираторной патологии, особенно в детской популяции. Это требует разработки комплексных профилактических стратегий, направленных на снижение экспозиции, повышение резистентности уязвимых групп населения, устранение негативных последствий риск-ассоциированных нарушений здоровья.

1.2. Биосреды человека как репрезентативные матрицы для оценки нагрузки токсикантами и ранних биологических эффектов

Для оценки уровня воздействия химических веществ на организм в условиях внешнесредовой экспозиции современный арсенал биомониторинга предоставляет исследователю широкий выбор биологических субстратов. К числу наиболее информативных матриц относятся:

• цельная кровь и её фракции;

• моча (как индикатор выведения водорастворимых метаболитов);

• волосы (отражающие кумулятивное воздействие на протяжении недель-месяцев);

• грудное молоко (важный маркер для оценки переноса веществ в период лактации);

• слюна (неинвазивный субстрат для определения свободных форм соединений);

• выдыхаемый воздух (для летучих органических соединений и газов) и др.

Однако рациональный выбор биосубстрата требует учёта комплекса взаимосвязанных факторов [ВОЗ, 2015]:

а) физико-химические и токсикокинетические свойства загрязнителя:

– скорость и степень всасывания через различные пути поступления,

– особенности распределения в организме (липофильность, связывание с белками),

– интенсивность биотрансформации (образование метаболитов),

– период полувыведения и пути экскреции;

б) характеристики внешнесредовой экспозиции:

– концентрация вещества в приоритетных средах (атмосферный воздух, питьевая вода, почва, пищевые продукты),

– длительность воздействия (острое, подострое, хроническое),

– комбинированность и сочетанность воздействия (наличие сопутствующих загрязнителей);

в) методологические и практические аспекты:

– чувствительность и специфичность аналитического метода,

– инвазивность процедуры отбора образца,

– стабильность аналита в биоматериале при хранении и транспортировке,

– наличие обоснованных референтных уровней для интерпретации результатов.

Следовательно, оптимальный выбор биосубстрата должен базироваться на комплексном анализе токсикокинетики вещества, параметров экспозиции и методических возможностей химико-аналитической базы. Это позволяет обеспечить достоверность оценки внутреннего бремени химических веществ и адекватно охарактеризовать риски для здоровья популяции [ВОЗ, 2015].

В отечественной практике гигиенических исследований выбор биологического субстрата для оценки химической экспозиции нередко диктуется прагма-

тическими соображениями: доступностью лабораторных методик и удобством процедуры отбора проб. Такой подход, хотя и обеспечивает операциональность исследования, зачастую оставляет вне фокуса внимания ключевые факторы, критически влияющие на достоверность количественного определения вещества, корректность интерпретации полученных данных, обоснованность выводов о риске для здоровья.

Для перехода от эмпирического выбора к научно обоснованному решению необходим системный учёт фундаментальных характеристик анализируемого вещества и его поведения в биологических системах [Куценко С.А., 2004; Калетина Н.И., 2008; ВОЗ, 2015].

К числу ключевых критериев выбора биосубстрата относятся:

1) химическая природа вещества, определяющая базовые механизмы взаимодействия с биологическими матрицами:

– металлы (тяжёлые, переходные) – склонны к связыванию с белками, накоплению в тканях органов,

– органические соединения – вариабельность метаболизма (окисление, конъюгация),

– неорганические соединения – специфичные пути экскреции (например, через почки);

2) физико-химические свойства, влияющие на распределение и доступность в биосредах:

– молекулярная масса и конформация – проницаемость через биологические барьеры,

– липофильность – накопление в жировой ткани, проникновение через мембраны,

– способность к ионизации – растворимость, транспорт в водных средах,

– агрегатное состояние – пути поступления (ингаляционный, пероральный, перкутанный);

3) токсикокинетические параметры, формирующие временную динамику концентрации в биосубстратах:

– скорость и пути резорбции (лёгкие, ЖКТ, кожа),

– распределение (объём распределения, связывание с белками),

– биотрансформация (образование активных/токсичных метаболитов),

– экскреция (почечная, печёночная, лёгочная);

4) способность преодолевать биологические барьеры, определяющая локализацию воздействия и выбор целевого субстрата:

– гематоэнцефалический барьер (преимущественно нейротоксиканты),

– гематоплацентарный барьер (репротоксиканты),

– слизистые оболочки (раздражающие вещества),

– другие гистогематические барьеры;

5) потенциал к бионакоплению, обуславливающий выбор субстрата для оценки кумулятивного воздействия:

– жировая ткань (липофильные соединения, например, ПХБ, ДДТ),

– костная ткань (металлы, например, свинец, стронций, алюминий),

– паренхиматозные органы – печень, почки (металлы, например, медь, кадмий);

6) характеристики экспозиции, задающие временные рамки и приоритетные матрицы анализа:

– вид воздействия (острое, хроническое),

– интенсивность (концентрация в среде),

– продолжительность (дни, месяцы, годы),

– временная удалённость (текущее или ретроспективное воздействие).

Практические последствия необоснованного выбора при недостаточном учете перечисленных критериев включают:

• ложнозавышенные/ложнозаниженные результаты (например, анализ мочи при кумулятивных токсикантах);

• неверную интерпретацию периода экспозиции (краткосрочное вместо долгосрочного);

• недооценку рисков для уязвимых органов-мишеней;

• некорректные выводы об эффективности профилактических мер.

Согласно обобщённому мировому опыту, представленному в токсикологических профилях (ATSDR), обзорах Европейского регионального бюро ВОЗ и других авторитетных источниках, информативность различных биосубстратов для оценки экспозиции к токсикантам действительно существенно различается. Наибольшей диагностической ценностью обладают следующие биологические среды:

– цельная кровь (венозная) и плазма – индикатор текущей концентрации вещества в организме (мг/л, мкг/мл) на момент обследования, отражает его содержание в системном кровотоке и подходит для оценки острой или недавней экспозиции;

– моча (предпочтительно суточная) – служит маркером недавнего поступления и выведения токсиканта, концентрация может выражаться в мг/л, мг/сутки или быть стандартизирована по креатинину (мкг/г креатинина), что нивелирует влияние диуреза; ее часто применяют для оценки экспозиции к быстро метаболизируемым и экскретируемым веществам;

– волосы и ногти – аккумулируют вещества за длительный период (недели-месяцы), предоставляя ретроспективную информацию о хронической экспозиции, предшествовавшей отбору проб (мг/кг);

– плацента, пуповинная кровь, грудное молоко – уникальные матрицы для оценки пренатальной и перинатальной экспозиции, их анализ (мг/кг, мг/л) позволяет судить о дозовой нагрузке на плод и новорождённого, отражая транспорт токсиканта от матери.

Выбор конкретного биомаркера для оценки экспозиции химическими веществами напрямую зависит от их токсикокинетики, в частности, от стабильности и метаболической судьбы в организме. Для устойчивых (персистентных) ксенобиотиков, таких как диоксины, диоксиноподобные полихлорированные бифенилы (ПХБ) и многие металлы, в качестве биомаркера обычно выступает концентрация самого исходного соединения. Его определяют в крови (цельной,

сыворотке или плазме) или моче, где оно накапливается и сохраняется длительное время. Для веществ, подвергающихся быстрой биотрансформации, например, органофосфатных пестицидов и фталатов, измерение исходного соединения часто неинформативно из-за его короткого периода полувыведения. В этом случае экспозицию оценивают по концентрации одного или нескольких стабильных метаболитов, которые преимущественно анализируют в моче.

Развитие аналитических технологий в последнее десятилетие радикально трансформировало возможности биомониторинга химических веществ в биологических матрицах. Ключевую роль сыграли методы, сочетающие сверхнизкие пределы обнаружения и высокую специфичность, что открыло доступ к исследованию ранее недоступных аналитов [Уланова Т.С. и др., 2016, 2018, 2020]. Ведущие технологии нового поколения и их преимущества представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1

Ведущие технологии нового поколения

Наименование технологии	Преимущества	Применение
1	2	3
Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS)	• пределы обнаружения: от единиц до сотен частей на триллион (ppt, нг/л) для большинства элементов; • мультиэлементный анализ (одновременное определение десятков элементов); • широкий динамический диапазон (от ppt до %); • высокая воспроизводимость	• тяжёлые металлы (Pb, Hg, Cd, As); • микроэлементы; • редкоземельные элементы в крови, моче, волосах, тканях
Лазерная абляция с ICP-MS (LA-ICP-MS)	• пространственное разрешение (микрокартирование распределения элементов в тканях); • минимизация потерь при пробоподготовке; • анализ микрообразцов (например, отдельных волос или срезов тканей)	• металлы в ногтях, зубах, биопсийных материалах
Высокоэффективная жидкостная хроматография – тандемная масс-спектрометрия (HPLC-MS/MS)	• пределы обнаружения: до пикограммов на миллилитр (pg/mL); • идентификация метаболитов сложных органических соединений; • селективность в условиях матричных помех	• пестициды; • Фталаты; • бисфенолы в моче и плазме

Окончание таблицы 1.1

1	2	3
Газовая хроматография – масс-спектрометрия высокого разрешения (GC-HRMS)	• точное определение молекулярной массы	• стойкие органические загрязнители (СОЗ); • полихлорированные бифенилы (ПХБ); • диоксины в жировых тканях и грудном молоке

Прорывные возможности новых методов обеспечивают:

– исследование ультраследовых концентраций – ранее недоступные для анализа уровни (например, < 0,1 мкг/л ртути в крови) теперь поддаются количественному определению; появилась возможность изучать фоновые экспозиции населения к токсикантам;

– мультиэлементный и мультианалитный скрининг – одновременное определение десятков соединений в одном образце сокращает время и стоимость анализа (например, анализ 25 металлов в моче методом ICP-MS проводится за 3 минуты);

– пространственное картирование – LA-ICP-MS позволяет визуализировать распределение элементов в тканях (например, накопление свинца в дентине зуба как маркер хронической экспозиции);

– анализ микрообразцов – достаточно 10–50 мкл крови или единичного волоса для полного профиля элементов, это критически важно для исследований детей и анализа архивных биообразцов;

– идентификация метаболитов – HPLC MS/MS выявляет даже короткоживущие метаболиты (например, диэтилтиофосфаты – маркеры воздействия органофосфатов).

Детальная характеристика отдельных биологических матриц

Цельная венозная кровь и её фракции (плазма, сыворотка) представляют собой «золотой стандарт» биомониторинга для широкого спектра веществ, отражая их текущую концентрацию в системном кровотоке на момент забора пробы (мг/л, мкг/мл). Ключевым преимуществом крови как матрицы является её уникальная физиологическая роль: находясь в состоянии динамического равновесия с тканями и органами, она служит интегральным индикатором свободной (недепонированной) фракции вещества, доступной для биологического действия. Несмотря на инвазивность процедуры, её широкое применение обусловлено высокой степенью стандартизации методик забора, соответствующих клиническим протоколам, что обеспечивает сопоставимость результатов. Однако этот же фактор остаётся главным ограничением, потенциально снижая готовность к участию в исследованиях (особенно у детей и определённых групп населения) и требуя соблюдения строгих условий транспортировки и хранения проб.

Пуповинная кровь и плацента. Их анализ является уникальным инструментом для прямой оценки пренатальной экспозиции, отражая трансплацентарный перенос химических веществ от матери к плоду в критический период его развития. Эти биоматериалы служат прямыми индикаторами воздействия, которому подвергался плод во время беременности [Jurewicz J. et al., 2013; Smolders R. et al., 2015]. Данные матрицы наиболее информативны для мониторинга стойких органических загрязнителей и металлов, обладающих свойством биоаккумуляции. Высокая степень корреляции уровней загрязнителей, например, свинца, в парных пробах материнской и пуповинной крови или плаценте наглядно подтверждает факт их активного переноса через плацентарный барьер [Sanders T. et al., 2009]. Эти исследования позволяют количественно оценить реальную химическую нагрузку на плод, когда его чувствительность к токсикантам максимальна, что имеет ключевое значение для прогнозирования рисков нарушения развития.

Грудное молоко представляет собой уникальную биологическую матрицу для оценки воздействия липофильных и персистентных химических веществ. Его анализ позволяет получить два критически важных типа данных [Jurewicz J. et al., 2013; Smolders R. et al., 2015]:

– интегральная экспозиция матери – отражает долгосрочную кумулятивную нагрузку, накопленную в жировой ткани организма;

– актуальная экспозиция младенца – показывает реальную дозу токсикантов, поступающих ребёнку с питанием в период лактации.

Ключевыми мишенями для анализа в грудном молоке являются стойкие органические загрязнители (СОЗ) и тяжёлые металлы, обладающие липофильностью и способностью к биоаккумуляции: диоксины и диоксиноподобные соединения (ПХДД, ПХДФ, ПХБ), бромированные антипирены, перфторированные вещества, фталаты, бисфенол А, алкилфенолы, а также металлы (свинец, кадмий, ртуть). Несмотря на высокую информативность, применение этого биосубстрата имеет ряд ограничений:

– анализ возможен только в период лактации;

– необходим относительно большой объем пробы (около 50 мл), а её забор может быть инвазивным и психологически дискомфортным для женщины;

– концентрация веществ может варьироваться в зависимости от времени кормления, жирности молока и стадии лактации.

Моча, особенно суточная, является одним из наиболее востребованных биосубстратов для оценки недавнего и текущего поступления химических веществ. Преимущественно она используется для мониторинга быстро метаболизирующихся и выводимых соединений, концентрация которых в крови слишком низка или вариабельна. К ним относятся многие эндокринные разрушители (бисфенол А, фталаты, парабены), летучие органические соединения, ПАУ и нестойкие пестициды. Интерпретация и временные рамки:

– для оценки острой или кратковременной экспозиции (последние часы-дни) концентрацию выражают в мг/л или мкг/л;

– для нивелирования влияния водной нагрузки и получения более точной суточной дозы используют пересчёт на объем суточной мочи (мг/сут) или стандартизацию по креатинину (мкг/г креатинина).

Анализ мочи также информативен для оценки экспозиции рядом металлов, однако интерпретация результатов требует учёта специфики каждого элемента. Уровень ртути в моче является специфичным биомаркером недавнего воздействия [Mason R.P. et al., 2001]. При значительной экспозиции концентрация кадмия в моче служит индикатором долгосрочного накопления в организме (в основном в почках) [Adams S.V., Newcomb P.A., 2014]. Однако на низких уровнях экспозиции его содержание может сильно варьировать под влиянием физиологических факторов, не связанных с токсической нагрузкой [Chaumont A. et al., 2013]. Определение алюминия в моче предпочтительно для оценки хронической экспозиции и отражает его общую концентрацию в организме [Мартынова М.О. и др., 2014]. Главными преимуществами анализа мочи являются неинвазивность сбора и возможность получения большого объёма пробы. Однако широкое применение ограничивается высокой вариабельностью её состава (в зависимости от времени суток, диеты, питьевого режима) и индивидуальными различиями в скорости выведения, что требует строгой стандартизации протоколов отбора проб [Aylward L.L., 2014].

Волосы и ногти являются уникальными биосубстратами для ретроспективной оценки долговременной (от нескольких недель до месяцев и лет) экспозиции к химическим веществам. Их основное преимущество заключается в способности аккумулировать загрязнители на протяжении всего периода роста, формируя своеобразный «биологический архив» воздействия, предшествовавшего моменту взятия пробы. Преимуществами волос и ногтей в качестве матрицы являются:

– неинвазивность и простота сбора, транспортировки и хранения;

– высокое содержание кератина – белковая структура, богатая сульфгидрильными группами, активно связывает многие элементы и органические соединения, обеспечивая стабильность включений [He K., 2011].

Волосы и ногти широко используются для мониторинга металлов (мышьяк, кадмий, свинец, а также редкоземельные и урановые элементы) и стойких органических загрязнителей (некоторые хлорорганические пестициды, парабены, полиароматические углеводороды) [Агаджанян И.А., Скальный А.В., 2001; Барановская Н.В., 2003; Appenzeller B.M., Tsatsakis A.M., 2012]. Несмотря на потенциал, применение волос и ногтей в качестве биоматериала имеет существенные ограничения:

– поверхность волос и ногтей легко адсорбирует вещества из окружающей среды (пыль, косметика, шампуни), что требует строгих протоколов отмывки проб для дифференциации внутреннего и внешнего поступления;

– использование красок, лаков, химических завивок или наращивания может кардинально менять исходный состав образца и искажать результаты;

– скорость роста, цвет, толщина волос, а также состояние обмена веществ влияют на уровень инкорпорации элементов;

– неприменимость у лиц с алопецией, новорожденных, а также необходимость в относительно большом количестве материала для анализа (50-200 мг) могут ограничивать использование в некоторых популяционных исследованиях.

Следовательно, волосы и ногти представляют собой ценный, но методологически сложный инструмент для оценки хронической экспозиции, требующий тщательной стандартизации преаналитического этапа и критической интерпретации данных.

Слюна, являясь фильтратом плазмы крови, представляет собой перспективный биосубстрат для неинвазивного биомониторинга. Её ключевое преимущество – простота и полная безопасность отбора проб, что особенно важно для исследований среди детей, беременных женщин и в популяционных скринингах. Однако её применение имеет существенные методологические ограничения, которые сужают спектр анализируемых веществ:

– через гематосаливарный барьер эффективно проникают в основном липофильные соединения с низкой молекулярной массой и нейтральным зарядом в физиологических условиях, это делает слюну подходящей для мониторинга летучих органических соединений, котинина (биомаркера табакокурения), этанола, некоторых лекарств и пестицидов;

– для большинства ксенобиотиков равновесная концентрация в слюне значительно ниже, чем в плазме крови (обычно составляет 1-10 %);

– в результате низких исходных концентраций и возможной адсорбции аналитов на стенках контейнеров существующие аналитические методы часто обладают недостаточной чувствительностью для определения следовых уровней загрязнителей при реальных, особенно экологически значимых дозах экспозиции;

– на состав может влиять недавний приём пищи, курение или использование гигиенических средств.

Несмотря на привлекательность, слюна остаётся нишевым биосубстратом, применение которого требует высокочувствительной аналитической аппаратуры и строгого контроля условий отбора проб [Michalke B. et al., 2015].

Молочные зубы представляют собой уникальный и ценный архивный биосубстрат для ретроспективной оценки хронической экспозиции детей к тяжёлым металлам и микроэлементам (свинец, кадмий, стронций, цинк, фтор). Их главное преимущество – способность аккумулировать металлы на протяжении всего периода формирования и минерализации (от внутриутробного развития до выпадения), отражая кумулятивную дозовую нагрузку за несколько лет. Совместный элементный и гистологический анализ дентина (например, с использованием лазерной абляции и масс-спектрометрии) позволяет проводить временную реконструкцию экспозиции. Поскольку дентин формируется послойно и не ремоделируется, исследование его различных зон (пренатальный дентин, линии роста) даёт беспрецедентную информацию о хронологии воздействия, включая критические периоды, такие как внутриутробное развитие и первый год жизни [Shepherd T.J. et al., 2012].

Выдыхаемый воздух представляет собой уникальный неинвазивный подход, позволяющий оценить реальную лёгочную дозу и биодоступность летучих токсикантов. Поскольку целевые вещества поступают напрямую из альвеолярного кровотока и тканей дыхательной системы, их концентрация в выдохе напрямую коррелирует с внутренней экспозицией в органах-мишенях – лёгких и дыхательных путях. Метод основан на установлении равновесия между концентрацией летучего соединения в альвеолярном воздухе и его уровнем в лёгочной капиллярной крови. Это позволяет рассчитать парциальное давление вещества и косвенно оценить его содержание в организме, минуя сложные заборы крови. Ограничения и сфера применения [ВОЗ, 2015]:

– информация преимущественно отражает воздействие на респираторный тракт и плохо подходит для оценки системной токсичности или нагрузки на другие органы;

– применим только к летучим органическим соединениям (ЛОС) с достаточной упругостью пара, таким как бензол, толуол, формальдегид, некоторые растворители;

– наиболее информативен для оценки острой или недавней (часы) экспозиции, так как большинство ЛОС быстро метаболизируются и выводятся;

– требует стандартизации условий отбора проб (объем выдоха, задержка дыхания) и высокочувствительного оборудования (например, масс-спектрометрии в реальном времени) для детекции следовых концентраций.

Корректный выбор биоматериала является фундаментальным условием получения достоверных данных в биомониторинге.

Для обеспечения валидности исследования, направленного на определение концентрации химического вещества как маркера экспозиции, выбранный биосубстрат должен соответствовать трём ключевым критериям:

1. Временная репрезентативность: биосубстрат должен адекватно отражать конкретное «временное окно» экспозиции, соответствующее цели исследования:

– для оценки текущей или острой экспозиции (часы-дни) подходят кровь и моча;

– для интегральной оценки хронической нагрузки (недели-годы) могут использоваться волосы, ногти или дентин молочных зубов;

– для ретроспективного анализа воздействия в пренатальный период – пуповинная кровь, плацента или пренатальный дентин.

2. Аналитическая релевантность и специфичность: биоматериал должен позволять определять вещество в форме, имеющей токсикологическую значимость, с учётом его химических свойств и метаболической судьбы:

– для персистентных соединений (металлы, СОЗ) чаще измеряют исходное вещество в крови или депонирующих тканях;

– для быстро метаболизирующихся веществ (органофосфаты, фталаты) целевым аналитом служат их стабильные метаболиты, обычно в моче;

– субстрат должен иметь совместимый с методом анализа матрикс и обеспечивать достаточную для детекции концентрацию аналита.

3. Стабильность аналита в пробе – отобранный образец должен обеспечивать сохранность определяемого вещества на всех этапах – от момента взятия до проведения анализа. Это требует учёта факторов, влияющих на стабильность: температурный режим хранения и транспортировки, светочувствительность, окисляемость, адсорбция на стенках контейнера, ферментативная или микробная деградация. Для нестабильных соединений необходимо использовать специальные консерванты, ингибиторы или протоколы немедленной обработки проб (например, заморозки).

Оптимальный выбор представляет собой баланс между этими требованиями и практическими аспектами, такими как инвазивность процедуры, готовность населения к участию и логистические возможности.

Практическое значение для биомониторинга [Шилов В.В. и др., 2019; Ларионова Т.К. и др., 2023; Зайцева Н.В. и др., 2025]:

• ранняя диагностика токсического воздействия: выявление субклинических уровней накопления токсикантов до появления симптомов (например, обнаружение кадмия в моче на уровне 0,5 мкг/г креатинина как предиктор нефротоксичности);

• ретроспективная оценка экспозиции: анализ волос и ногтей позволяет реконструировать хронологию воздействия за месяцы/годы;

• изучение механизмов токсичности: корреляция распределения элементов в тканях с патоморфологическими изменениями;

• эпидемиологические исследования: массовые скрининги с высокой точностью (например, национальный мониторинг уровней ртути в волосах);

• оценка эффективности профилактических мер: мониторинг снижения биомаркеров после введения регуляторных ограничений (например, запрет свинца в бензине).

Таким образом, для обеспечения аналитической достоверности и эпидемиологической релевантности исследований необходимо проводить предварительную оценку токсикокинетики вещества, сопоставлять свойства загрязнителя с характеристиками биосубстратов, учитывать специфику экспозиции и целевые показатели здоровья, использовать валидированные методы анализа, соответствующие матрице. Только такой подход позволит получить научно обоснованные данные, пригодные для оценки риска здоровью, разработки гигиенических нормативов, мониторинга эффективности регуляторных мер.

1.3. Молекулярные основы химически индуцированных нарушений здоровья: протеомика в декодировании сигнатур токсического воздействия

В современной санитарно-эпидемиологической практике (в частности, в деятельности Роспотребнадзора) ключевое значение имеет построение системы доказательств для установления вредного воздействия факторов среды обитания на здоровье человека и предотвращения такого воздействия.

Для расширения возможностей и усиления доказательности причинно-следственных связей в системе «воздействие факторов среды обитания – здоровье населения» требуется развитие новых аналитических подходов, способных раскрывать молекулярные механизмы ответных реакций организма на внешнесредовые воздействия, особенно на ранних стадиях их формирования [Залесский В.Н., Дынник О.Б., 2005]. Актуальность этих разработок соответствует тренду современных проблемно ориентированных направлений научных исследований фундаментального характера как в мире, так и в России.

Значимость изучения молекулярных механизмов реагирования организма позволяет решать три стратегические задачи [Зайцева Н.В. и др., 2020; 2024; Землянова М.А. и др., 2023]:

– идентификация принципиально новых маркеров эффекта на молекулярном уровне как основа новых технологий раннего выявления и прогноза развития заболеваний на индивидуальном и популяционном уровне;

– обоснование систем молекулярных мишеней воздействия, являющихся базой для разработки более эффективных мер профилактики нарушений состояния здоровья в условиях воздействия внешнесредовых факторов, направленных на снижение риска и негативных последствий его реализации;

– использование целевых молекулярных маркеров в биомониторинге для повышения эффективности систем наблюдения и контроля, своевременного выявления негативных тенденций и прогноза.

Наиболее чувствительным и адекватным индикатором молекулярных сдвигов в условиях воздействия химических и иных факторов риска является изменение строения и уровня белков. Белки представляют собой основную структурную единицу организма человека и формируют протеомный профиль – совокупность всех белков (протеинов) и их модификаций в организме.

Исследование протеома человека находится в центре внимания мирового научного сообщества. Важнейшим международным инициативным проектом в этой области является проект «Протеом человека» (www.hupo.org). По масштабам и научной значимости этот проект превосходит проект «Геном человека», открывает новые возможности для понимания молекулярных основ здоровья и риск-ассоциированных нарушений, способствует разработке научно обоснованных инновационных методов диагностики, профилактики и мониторинга воздействий химических загрязнений среды обитания.

Протеом человека характеризуется динамичностью – его состав и структура непрерывно изменяются под влиянием внешнесредовых факторов. Это свойство обусловливает его высокую диагностическую ценность: служит оперативным индикатором физиологических и патологических процессов, позволяет оценивать текущее состояние организма через идентификацию белков в конкретный момент времени, в том числе присутствующих в ультранизкой концентрации (на уровне рецепторов) [Petncom E., Liotta L., 2003].

Получение и сравнительный анализ протеомных карт на уровнях «индивидуум – группа – популяция» даёт возможность выявлять изменения концен-

трации или структуры белков при переходе между состояниями «нормальное – донозологическое (предболезненное) – патологическое», обосновывать новые белковые маркеры состояний, предшествующих развитию патологии, и использовать их для формирования доказательной базы причинно-следственных связей между воздействием факторов риска и изменениями в организме человека.

Для раннего выявления воздействия неблагоприятных техногенных химических факторов среды обитания критически важен поиск белков-мишеней, претерпевающих структурные изменения под их воздействием. Ключевые преимущества такого подхода: обнаружение изменений до появления биомаркеров клеточного поражения; возможность своевременного прогноза риск-ассоциированных нарушений и применения профилактических мер; снижение риска развития заболеваний. Наличие таких изменённых белков-мишеней при отсутствии биомаркеров клеточного поражения позволяет своевременно применять меры профилактики и снижать риск развития патологии.

Современные аналитические методы и технические решения позволяют обнаруживать изменения белков-мишеней на самой ранней стадии процесса – до клеточного и органного поражения.

Истоки и определения протеомики

Понятие «протеом» как продолжение «белкового эквивалента генома» введено в 1994 году [Wilkins M.R. et al., 1996]. Сам термин «протеомика» предложен в 1995 году [Wasinger V.C. et al., 1995]. Протеомика (англ. proteomics) – область молекулярной биологии, посвящённая идентификации и количественному анализу белков в биообразцах. Её задача состоит в определении совокупных индивидуальных белков, которые содержатся в биологических образцах организма (сыворотке/плазме крови, спинномозговой жидкости, моче, биоптатах тканей) [James P., 1997; Сучков С.В. и др., 2013].

Протеомный анализ действительно направлен на одновременное изучение множества белков, которые в совокупности характеризуют исследуемый объект – организм, ткань, клетку или биологический процесс. Эта методология позволяет получить системное представление о состоянии биологического объекта, так как протеом отражает динамические изменения, связанные с физиологическими и патологическими процессами, воздействием факторов внешней среды и др. [Anderson, N.L. et al., 2009; Суярова Е.А., Тарасова Г.Н., 2015; Baer B., Millar A.H., 2016].

Фундаментальные задачи протеомного анализа

Протеомный анализ ставит перед собой ряд фундаментальных исследовательских задач, направленных на всестороннее описание белковых молекул в биологической системе. Ключевыми из них являются:

1. Каталогизация и инвентаризация белков. Составление максимально полного списка (каталога) всех белков, присутствующих в конкретном биологическом образце, клетке, ткани или организме.

2. Идентификация неизвестных белков. Обнаружение и характеристика новых, ранее не аннотированных белков, существование которых не было предсказано на основе данных геномного секвенирования.

3. Определение посттрансляционных модификаций (ПТМ). Так как функция белка часто регулируется после его синтеза, критически важной задачей является выявление и картирование ПТМ (таких как фосфорилирование, гликозилирование, ацетилирование и др.), которые существенно изменяют свойства и активность белков.

4. Количественный анализ. Измерение уровня экспрессии или абсолютного количества белков позволяет проводить сравнительный анализ протеомов в различных условиях (например, в норме и при патологии, до и после воздействия, в разные моменты времени). Это основа для выявления биомаркеров и понимания динамики биологических процессов.

Однако каталогизации и количественной оценки недостаточно для полного понимания биологической функции. Более сложной и существенной задачей является функциональная характеристика белков, включающая [Wilkins M.R. et al., 1996; Федорова О.С., Коваль В.В., 2010]:

• определение белковых взаимодействий и молекулярных путей. Поскольку белки редко функционируют изолированно, необходимо установить сети их взаимодействий с другими белками, а также с молекулами ДНК, РНК, липидами и метаболитами. Это позволяет реконструировать молекулярные пути, вовлеченные как в нормальные физиологические процессы, так и в патогенез заболеваний;

• определение субклеточной локализации. Выяснение точного внутриклеточного расположения белка (ядро, митохондрии, плазматическая мембрана и т.д.) часто является ключевым для понимания его роли.

Практико-ориентированные задачи протеомного анализа в аспекте профилактической медицины непосредственно нацелены на решение конкретных проблем, связанных с воздействием факторов риска, в первую очередь химических [Сучков С.В. и др., 2013; Зайцева Н.В. и др., 2020]:

– поиск диагностических и прогностических биомаркеров, то есть обнаружение специфических белков или их паттернов в легкодоступных биосредах (крови, моче, слюне), которые могут служить для раннего выявления риск-ассоциированных нарушений здоровья, прогноза их течения и мониторинга эффективности мер профилактики;

– идентификация белков-мишеней внешнесредового воздействия химических веществ для обоснования адресных мер профилактики;

– системное изучение изменений протеома для расшифровки молекулярных путей, лежащих в основе молекулярных механизмов патогенеза развития риск-ассоциированных заболеваний и негативных эффектов;

– развитие персонализированной медицины на основе анализа индивидуального протеомного профиля для подбора наиболее эффективных профилактических мероприятий с учетом особенностей организма.

Исторический контекст и современные проекты

Фундаментальный сдвиг в биомедицинской парадигме произошел в 2001 году с формальным завершением международного проекта «Геном человека», ознаменовавшим переход к эре «омиксных» технологий [Weinstein J.N., 2001]. Результатом этого этапа стала публикация первой «черновой» последовательности усредненного генома, послужившей основой для идентификации ключевых кодирующих регионов [Finishing the euchromatic sequence of the human genome, 2004]. Однако подлинная полнота данных была достигнута лишь спустя два десятилетия: в 2022 году консорциум Telomere-to-Telomere (T2T) представил первую бесшовную сборку человеческого генома без пропусков (от теломеры до теломеры), закрыв пробелы в наиболее сложных гетерохроматиновых участках [Nurk S. et al., 2022].

Современный этап геномных исследований характеризуется переходом к масштабным популяционным проектам, направленным на формирование глобальных биорепозиториев. Среди ключевых международных инициатив выделяются:

• UK Biobank: в 2023 году проект завершил полногеномное секвенирование 500 тысяч участников, открыв международному научному сообществу доступ к крупнейшему массиву данных, связывающих генетику с фенотипическими признаками и историей болезней [Whole-genome sequencing of 490,640 UK Biobank participants, 2025];

• «All of Us» (США): долгосрочная программа, ставящая целью секвенирование 1 миллиона геномов. К началу 2026 года база данных уже включает более 633 тысяч участников, при этом особое внимание уделяется этногеографическому разнообразию для преодоления «европоцентричности» современной генетики [Genomic data in the All of Us Research Program, 2024];

• GenomeAsia 100k: проект, сфокусированный на анализе генетической архитектуры популяций стран Азии (целевой объем – 100 тысяч геномов), что критически важно для понимания специфики наследственных заболеваний в этом регионе [GenomeAsia100K Project, 2019];

• Российская инициатива «100 000+Я»: национальный проект, стартовавший в 2024 году. Его задача – генотипирование 100 тысяч россиян для выявления уникальных популяционных вариантов и создания «генетического портрета» страны, что послужит фундаментом для развития персонализированной медицины в России.

Логическим развитием этих усилий стало создание пангенома человека – новой концепции референсного генома в форме графа. В отличие от линейной последовательности одного индивидуума, пангеном аккумулирует все известные вариации в популяции, позволяя более точно картировать сложные участ-

ки ДНК [Liao W.W. et al., 2023]. Первая полноценная итерация пангенома, включающая сотни высокоточных сборок (T2T), ожидается к середине 2026 года.

От генома к протеому: системная иерархия биологических данных

Успешная реализация проекта «Геном человека» заложила фундамент для перехода от статического картирования нуклеотидных последовательностей к функциональному анализу их продуктов – белков [Finishing the euchromatic sequence of the human genome, 2004]. Несмотря на то что геном предоставляет исчерпывающую «карту инструкций», именно протеом выступает конечным звеном реализации генетической информации.

Логическим развитием биомедицинских исследований стал запуск в 2010 году международного проекта «Протеом человека» (HPP). В отличие от относительно стабильного генома, протеом обладает выраженной контекстной зависимостью: его состав динамически меняется в зависимости от типа ткани, клеточного цикла и физиологического статуса организма [Archakov A. et al., 2012]. Сложность протеомного анализа обусловлена наличием множественных посттранскрипционных и посттрансляционных модификаций (ПТМ), в результате чего число индивидуальных протеоформ человека варьируется, по разным оценкам, от сотен тысяч до миллиона [Lander E.S. et al., 2001; Fang G. et. al., 2010].

Архитектура проекта HPP базируется на двух стратегических направлениях:

1. Chromosome-Centric HPP (C-HPP): систематическая инвентаризация белков, кодируемых генами конкретных хромосом. В рамках международного распределения российская группа исследователей курирует хромосому 18, выбранную благодаря оптимальному сочетанию плотности белок-кодирующих генов (около 300) и их высокой клинической значимости [Archakov A. et al., 2011, 2018].

2. Biology/Disease-Driven HPP (B/D-HPP): исследование протеомных профилей при патологических состояниях (онкологических, нейродегенеративных, сердечно-сосудистых заболеваниях) для верификации новых биомаркеров и мишеней таргетной терапии [Aebersold R. et al., 2013].

К 2026 году консолидированные усилия ученых позволили аннотировать белковую экспрессию более чем для 93 % белок-кодирующих генов. Актуальные данные о локализации, вариантах и уровнях экспрессии белков аккумулируются в открытых репозиториях, таких как ProteomicsDB (https://www.proteomicsdb.org/), обеспечивая базу для развития прецизионной медицины.

Критически важный вклад в функциональную интерпретацию протеома вносит проект Human Protein Atlas (HPA). С использованием высокоспецифичных антител, методов иммуногистохимии и продвинутой визуализации проект формирует детальные пространственные карты локализации белков на клеточном и органном уровнях [Thul P.J., Lindskog C., 2018]. Структура HPA включает специализированные модули:

• Tissue Atlas: профили распределения белков во всех основных типах тканей человека;

• Cell Atlas: прецизионная субклеточная локализация в органеллах;

• Pathology Atlas: корреляция уровней экспрессии белков с показателями выживаемости при 17 типах онкологических заболеваний;

• Brain Atlas: сравнительная база данных экспрессии в тканях мозга человека, свиньи и мыши;

• Blood Atlas: атлас протеомных профилей отдельных популяций клеток крови.

Для обеспечения верификации и метаанализа колоссальных массивов масс-спектрометрических данных функционирует международный консорциум ProteomeXchange. Эта инфраструктура предоставляет стандартизированный глобальный доступ к результатам исследований, гарантируя прозрачность и возможность повторного анализа первичных данных научным сообществом [Deutsch E.W. et al., 2023].

Синергия рассмотренных инициатив формирует многоаспектную и динамичную картину человеческого протеома, где проекты не конкурируют, а взаимно дополняют друг друга. Эта интегративная база знаний служит фундаментом для перехода к персонализированной превентивной медицине, в которой ранняя диагностика и профилактика риск-ассоциированных состояний базируются на глубоком анализе индивидуального молекулярного профиля.

Таким образом, большинство патологических сдвигов, детерминированных воздействием факторов риска, находит прямое отражение в аберрациях протеомного профиля. В этом контексте протеомный анализ становится ключевым инструментом донозологической диагностики и прогноза. Он позволяет идентифицировать ранние белковые «предвестники» (биомаркеры) заболеваний, расшифровывать сигнальные пути трансформации нормы в патологию, а также объективно оценивать эффективность профилактических и корректирующих стратегий. Подобный подход открывает путь к реализации модели предиктивно-превентивной медицины, нацеленной на радикальное повышение эффективности сохранения здоровья и увеличение периода активного долголетия.

Список литературы к главе 1

Агаджанян, Н.А. Химические элементы в среде обитания и экологический портрет человека / Н.А. Агаджанян, А.В. Скальный. М: Изд-во КМК, 2001. 83 с. ISBN: 5-87317-080-0.

Барановская, Н.В. Элементный состав биологических материалов и его использование для выявления антропогенно-измененных территорий на примере южной части Томской области: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 – Экология / Барановская Наталья Владимировна. Томск, 2003. 20 с.

ВОЗ, 2013. Здоровье-2020: Основы европейской политики в поддержку действий всего государства и общества в интересах здоровья и благополучия [Электронный ресурс]. Европейское региональное Бюро ВОЗ, 2013.

URL: https://whodc.mednet.ru/ru/osnovnye-publikaczii/politika-i-oczenka-v-oblasti-zdravooxraneniya/2219.html (дата обращения 29.09.2025).

ВОЗ, 2015. Глобальные факторы риска для здоровья. Смертность и бремя болезней, обусловленные некоторыми основными факторами риска. Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2015. 70 с.

ВОЗ, 2017. Отчет Шестой министерской конференции по окружающей среде и охране здоровья. Острава, Чешская Республика: ВОЗ, 2017. 109 с.

ВОЗ, 2018. Качество воздуха и здоровье: информационный бюллетень о Целях в области устойчивого развития (ЦУР): задачи, связанные со здоровьем [Электронный ресурс]. Европейское региональное Бюро ВОЗ, 2018. URL: https://iris.who.int/handle/10665/340800 (дата обращения 29.09.2025).

ВОЗ, 2019. Неинфекционные заболевания и загрязнение атмосферного воздуха. Копенгаген: Европейское региональное Бюро ВОЗ, 2019. 12 с.

Государственный доклад, 2025. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2024 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2025. 424 с.

Зайцева, Н.В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современный инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, О.В. Долгих // Гигиена и санитария. 2020; 99(1): 6–12. DOI: 10.33029/0016-9900-2020-99-1-6-120.

Зайцева, Н.В. Клеточно-молекулярные и системные биомаркеры в гигиене / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Ю.В. Кольдибекова. Пермь, 2025. 744 с. ISBN: 978-5-6054514-0-2.

Зайцева, Н.В. Научные принципы применения биомаркеров в медико-экологических исследованиях // Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, В.П. Чащин, А.Б. Гудков // Экология человека. 2019; 9: 4–14. DOI: 10.33396/1728-0869-2019-9-4-14.

Зайцева, Н.В. Особенности изменений биохимических и гематологических показателей у детей, потребляющих питьевую воду с повышенным содержанием марганца / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Д.Л. Мазунина // Здоровье населения и среда обитания. 2014; 2: 41–44.

Зайцева, Н.В. Оценка аэрогенного воздействия приоритетных химических факторов на здоровье детского населения в зоне влияния предприятий по производству алюминия / Н.В. Зайцева, Т.И. Жданова-Заплесвичко, С.В. Клейн // Экологические проблемы современности: выявление и предупреждение неблагоприятного воздействия антропогенно детерминированных факторов и климатических изменений на окружающую среду и здоровье населения: сборник материалов Международного Форума Научного совета РФ по экологии человека и гигиене окружающей среды. М., 2017: 168–171.

Зайцева, Н.В. Оценка аэрогенного воздействия приоритетных химических факторов на детское население в зоне влияния предприятий по производству алюминия / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Ю.В. Кольдибекова [и др.] // Гигиена и санитария. 2019; 98(1): 68–75. DOI: 10.18821/0016-9900-2019-98-1-68-75.

Зайцева, Н.В. Прогноз вероятных негативных эффектов, инициированных трансформацией протеомного профиля плазмы крови человека при комбинированном воздействии химических веществ / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Е.В. Пескова // Гигиена и санитария. 2024; 103(5): 407–415. DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-5-407-415.

Залесский, В.Н. Молекулярная медицина: Протеомные диагностические технологии и методы молекулярной терапии / В.Н. Залесский, О.Б. Дынник // Врачебное дело. 2005; 1/2: 3–10.

Землянова, М.А. Маркеры аэрогенной комбинированной экспозиции металлоксидными соединениями и трансформированного протеомного профиля плазмы крови у детей / М.А. Землянова, Н.В. Зайцева, Ю.В. Кольдибекова [и др.] // Анализ риска здоровью. 2023; 1: 137–146. DOI: 10.21668/health.risk/2023.1.13.

Калетина, Н.И. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов / Н.И. Калетина; под ред. проф. Н.И. Калетиной. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2008. 1016 с. ISBN: 978-5-9704-0613-7.

Куценко, С.А. Основы токсикологии: Научно-методическое издание / С.А. Куценко. СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2004. 720 с. ISBN: 5-93929-092-2.

Ларионова, Т.К. Использование биологического мониторинга для оценки вреда здоровью в условиях загрязнения окружающей среды металлами / Т.К. Ларионова, Р.А. Даукаев, М.А. Землянова [и др.] // Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО. 2023; 31(6): 44–53. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-6-44-53.

Маклакова, О.А. Оценка риска развития заболеваний органов дыхания и коморбидной патологии у детей в условиях загрязнения атмосферного воздуха химическими веществами техногенного происхождения (когортное исследование) / О.А. Маклакова // Анализ риска здоровью. 2019; 2: 56–63. DOI: 10.21668/health.risk/2019.2.06.

Мартынова, М.О. К вопросу современных представлений влияния алюминия на живые организмы [Электронный ресурс] / М.О. Мартынова, К.М. Козырев, Ж.К. Албегова // Современные проблемы науки и образования. 2014; 2: 302. URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=12441 (дата обращения 21.03.2025).

Онищенко, Г.Г. Химическая безопасность – важнейшая составляющая санитарно-эпидемиологического благополучия населения / Г.Г. Онищенко // Токсикологический вестник. 2014; 1: 2–6.

Попова, А.Ю. Здоровье населения как целевая функция и критерий эффективности мероприятий федерального проекта «Чистый воздух» / А.Ю. Попова, Н.В. Зайцева, И.В. Май // Анализ риска здоровью. 2019; 4: 4–13. DOI: 10.21668/health.risk/2019.4.01.

Попова, А.Ю. Стратегические приоритеты Российской Федерации в области экологии с позиции сохранения здоровья нации / А.Ю. Попова // Здоровье населения и среда обитания. 2014; 2(251): 4–7.

Р 2.1.10.3968-23. Руководство по оценке риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания: Р 2.1.10.3968-23. М., 301 с. (утв. Главным санитарным врачом Российской Федерации, 06.09.2023).

Ракитский, В.Н. Анализ риска здоровью при воздействии атмосферных загрязнений как составная часть стратегии уменьшения глобальной эпидемии неинфекционных заболеваний / В.Н. Ракитский, С.Л. Авалиани, С.М. Новиков [и др.] // Анализ риска здоровью. 2019; 4: 30–36. DOI: 10.21668/health.risk/2019.4.03.

Ракитский, В.Н. Современные вызовы и пути совершенствования оценки и управления рисками здоровью населения / В.Н. Ракитский, С.В. Кузьмин, С.Л. Авалиани [и др.] // Анализ риска здоровью. 2020; 3: 23–29. DOI: 10.21668/health.risk/2020.3.03.

Рахманин, Ю.А. Современные проблемы оценки риска воздействия факторов окружающей среды на здоровье населения и пути ее совершенствования / Ю.А. Рахманин, С.М. Новиков, С.Л. Авалиани [и др.] // Анализ риска здоровью. 2015; 2: 4–14. DOI: 10.21668/health.risk/2015.2.01.

Сучков, С.В. Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии / С.В. Сучков, Д.А. Гнатенко, Д.С. Костюшев [и др.] // Вестник РАМН. 2013; 1: 65–71. DOI: 10.15690/vramn.v68i1.540.

Суярова, Е.А. Диагностические возможности протеомного профилирования в гастроэнтерологии [Электронный ресурс] / Е.А. Суярова, Г.Н. Тарасова // Фундаментальные исследования. 2015; 1 (часть 9): 1921–1925. URL: https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=38454 (дата обращения 27.01.2026).

Уланова, Т.С. Методические и критериальные аспекты исследований по определению токсичных элементов и химических соединений в биосредах / Т.С. Уланова, Т.В. Нурисламова, Т.Д. Карнажицкая [и др.] // Анализ риска здоровью – 2020: Материалы X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 2 т. Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2020. Т. 1: 142–147.

Уланова, Т.С. Методические и практические аспекты определения общей ртути в образцах цельной крови, мочи и волос методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой / Т.С. Уланова, Е.С. Стенно, Г.А. Вейхман // Анализ риска здоровью. 2018; 2: 120–128. DOI: 10.21668/health.risk/2018.2.14.

Уланова, Т.С. Методические особенности определения химических соединений и элементов в биологических средах / Т.С. Уланова, Т.В. Нурисламова, Т.Д. Карнажицкая, О.В. Гилева // Гигиена и санитария. 2016; 95(1): 116–122. DOI: 10.18821/0016-9900-2016-95-1-112-116.

Федорова, О.С. Постгеномная история – повесть длиною в жизнь / О.С. Федорова, В.В. Коваль // Наука из первых рук. Академия обществу. 2010; 2(32): 82–84.

Шилов, В.В. Биомониторинг воздействия вредных химических веществ на основе современных биомаркеров (обзор литературы) / В.В. Шилов,

О.Л. Маркова, А.В. Кузнецов // Гигиена и санитария. 2019; 98(6): 545–596. DOI: 10.18821/0016-9900-2019-98-6-591-596.

Adams, S.V. Cadmium blood and urine concentrations as measures of exposure: NHANES 1999–2010 / S.V. Adams, P.A. Newcomb // J Expo Sci Environ Epidemiol. 2014; 24(2): 163–170. DOI: 10.1038/jes.2013.55.

Aebersold, R. The biology/disease-driven human proteome project (B/D-HPP): enabling protein research for the life sciences community / R. Aebersold, G.D. Bader, A.M. Edwards [et al.] // J Proteome Res. 2013; 12(1): 23–27. DOI: 10.1021/pr301151m.

Anderson, N.L. A human proteome detection and quantitation project / N.L. Anderson, N.G. Anderson, T.W. Pearson [et al.] // Mol Cell Proteomics. 2009; 8(5): 883–886. DOI: 10.1074/mcp.R800015-MCP200.

Appenzeller, B.M. Hair analysis for biomonitoring of environmental and occupational exposure to organic pollutants: state of the art, critical review and future needs / B.M. Appenzeller, A.M. Tsatsakis // Toxicology Letters. 2012; 210(2): 119–140. DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.10.021.

Archakov, A. Chromosome-centric approach to overcoming bottlenecks in the Human Proteome Project / A. Archakov, V. Zgoda, A. Kopylov [et al.] // Expert Rev Proteomics. 2012; 9(6): 667–676. DOI: 10.1586/epr.12.54.

Archakov, A. Gene-centric view on the human proteome project: the example of the Russian roadmap for chromosome 18 / A. Archakov, A. Aseev, V. Bykov [et al.] // Proteomics. 2011; 11(10): 1853–1856. DOI: 10.1002/pmic.201000540.

Aylward, L.L. Sources of variability in biomarker concentrations / L.L. Aylward, S.M. Hays, R. Smolders [et al.] // J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2014; 17(1): 45–61. DOI: 10.1080/10937404.2013.864250.

Baer, B. Proteomics in evolutionary ecology / B. Baer, A.H. Millar // J Proteomics. 2016; 135: 4–11. DOI: 10.1016/j.jprot.2015.09.031.

Chaumont, A. Associations of urinary cadmium with age and urinary proteins: further evidence of physiological variations unrelated to metal accumulation and toxicity / A. Chaumont, C. Voisin, G. Deumer [et al.] // Environ Health Perspect. 2013; 121(9): 1047–1053. DOI: 10.1289/ehp.1306607.

Cook, D.N. Innate immune control of pulmonary dendritic cell trafficking / D.N. Cook, K. Bottomly // Proc Am Thorac Soc. 2007; 4(3): 234–239. DOI: 10.1513/PATS.200701-026AW.

Deutsch, E.W. The ProteomeXchange consortium at 10 years: 2023 update / E.W. Deutsch, N. Bandeira, Y. Perez-Riverol [et al.] // Nucleic Acids Res. 2023; 51(D1): D1539–D1548. DOI: 10.1093/nar/gkac1040.

Fang, G. Getting started in gene orthology and functional analysis / G. Fang, N. Bhardwaj, R. Robilotto, M.B. Gerstein // PLoS Comput Biol. 2010; 6(3): e1000703. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1000703.

Finishing the euchromatic sequence of the human genome / International Human Genome Sequencing Consortium // Nature. 2004; 431(7011): 931–945. DOI: 10.1038/nature03001.

Genomic data in the All of Us Research Program / All of Us Research Program Genomics Investigators // Nature. 2024; 627(8003): 340–346. DOI: 10.1038/s41586-023-06957-x.

Gupta, R.C. Biomarkers in Toxicology. 2nd Edition / R.C. Gupta. Academic Press, 2019. 1246 p. ISBN: 9780128146552.

He, K. Trace elements in nails as biomarkers in clinical research / K. He // Eur J Clin Invest. 2011; 41(1): 98–102. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2010.02373.x.

Munsif, R.J. Industrial Air Emission Pollution: Potential Sources and Sustainable Mitigation [Электронный ресурс] / R.J. Munsif, M. Zubair, A. Aziz, M.N. Zafar // Environmental Emissions, 2021. URL: https://ideas.repec.org/h/ito/pchaps/211489.html (дата обращения 22.11.2025). DOI: 10.5772/intechopen.93104.

James, P. Protein identification in the post-genome era: the rapid rise of proteomics / P. James // Q Rev Biophys. 1997; 30(4): 279–331. DOI: 10.1017/s0033583597003399.

Jurewicz, J. Chemical exposure early in life and the neurodevelopment of children – an overview of current epidemiological evidence / J. Jurewicz, K. Polańska, W. Hanke // Ann Agric Environ Med. 2013; 20(3): 465–486.

Lander, E.S. Initial sequencing and analysis of the human genome / E.S. Lander, L.M. Linton, B. Birren [et al.] // Nature. 2001; 409(6822): 860–921. DOI: 10.1038/35057062.

Legrain, P. The human proteome project: current state and future direction / P. Legrain, R. Aebersold, A. Archakov [et al.] // Mol Cell Proteomics. 2011; 10(7): M111.009993. DOI: 10.1074/mcp.M111.009993.

Liao, W.W. A draft human pangenome reference / W.W. Liao, M. Asri, J. Ebler [et al.] // Nature. 2023; 617(7960): 312–324. DOI: 10.1038/s41586-023-05896-x.

Manisalidis, I. Environmental and Health Impacts of Air Pollution: A Review [Электронный ресурс] / I. Manisalidis, E. Stavropoulou, A. Stavropoulos, E. Bezirtzoglou // Environmental Health and Exposome, 2020. URL: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2020.00014 (дата обращения 29.09.2025).

Mason, R.P. Mercury in the Atlantic ocean: Factors controlling airsea exchange of mercury and its distribution in the upper waters / R.P. Mason, N.M. Lawson, G.R. Sheu // Deep-Sea Research. Part II: Topical Studies in Oceanography. 2001; 48(13): 2829–2853. DOI: 10.1016/S0967-0645(01)00020-0.

Meyfour, A. 17th Chromosome-Centric Human Proteome Project Symposium in Tehran / A. Meyfour, S. Pahlavan, H. Sobhanian, G.H. Salekdeh // Proteomics. 2018; 18(7): e1800012. DOI: 10.1002/pmic.201800012.

Michalke, B. Saliva as a matrix for human biomonitoring in occupational and environmental medicine / B. Michalke, B. Rossbach, T. Goen, G. Scherer // Int Arch Occup Environ Health. 2015; 88(1): 1–44. DOI: 10.1007/s00420-014-0938-5.

Miri, M. Mortality and morbidity due to exposure to ambient particulate matter / M. Miri, A. Alahabadi, M.H. Ehrampush [et al.] // Ecotoxicol Environ Saf. 2018; 165: 307–313. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.09.012.

Neuberger, M. Suspended particulates and lung health / M. Neuberger, H. Moshammer // Wien Klin Wochenschr. 2004; 116(1): 8–12.

Nurk, S. The complete sequence of a human genome / S. Nurk, S. Koren, A. Rhie [et al.] // Science. 2022; 376(6588): 44–53. DOI: 10.1126/science.abj6987.

Petncom, E. Counterpoint: The vision for a new diagnostic paradigm / E. Petncom, L. Liotta // Din Chem. 2003; 49: 1276–1278. DOI: 10.1373/49.8.1276.

Pisi, G. The airway neurogenic inflammation: clinical and pharmacological implications.Inflamm / G. Pisi, D. Olivieri, A. Chetta // Allergy Drug Targets. 2009; 8(3): 176–181. DOI: 10.2174/187152809788681047.

Prüss-Ustün, A. Diseases due to unhealthy environmental: as updated estimate of the global burden of diseases attributable to environmental determinants of health / A. Prüss-Ustün, J. Wolf, C. Corvalán [et al.] // Journal of Public Health. 2017; 39(3): 464–475. DOI: 10.1093/pubmed/fdw085.

Sanders, T. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: a review / T. Sanders, Y. Liu, V. Buchner, P.B. Tchounwou // Rev Environ Health. 2009; 24(1): 15–45. DOI: 10.1515/reveh.2009.24.1.15.

Shepherd, T.J. Reconstructing the life-time lead exposure in children using dentine in deciduous teeth / T.J. Shepherd, W. Dirks, C. Manmee [et al.] // Sci Total Environ. 2012; 425: 214–222. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.03.022.

Smolders, R. Interpreting biomarker data from the COPHES/DEMOCOPHES twin projects: Using external exposure data to understand biomarker differences among countries / R. Smolders, H.E. Den, G. Koppen [et al.] // Environ Res. 2015; 141: 86–95. DOI: 10.1016/j.envres.2014.08.016.

The GenomeAsia 100K Project enables genetic discoveries across Asia / GenomeAsia100K Consortium // Nature. 2019; 576(7785): 106–111. DOI: 10.1038/s41586-019-1793-z.

Thul, P.J. The human protein atlas: A spatial map of the human proteome / P.J. Thul, C. Lindskog // Protein Sci. 2018; 27(1): 233–244. DOI: 10.1002/pro.3307.

Voynow, J.A. Mucins, mucus, and sputum / J.A. Voynow, B.K. Rubin // Chest. 2009; 135: 505–512. DOI: 10.1378/chest.08-0412.

Wasinger, V.C. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: Mycoplasma genitalium / V.C. Wasinger, S.J. Cordwel, A. Cerpa-Poljak [et al.] // Electrophoresis. 1995; 16(7): 1090–1094. DOI: 10.1002/elps.11501601185.

Weinstein, J.N. Searching for pharmacogenomic markers: the synergy between omic and hypothesis-driven research / J.N. Weinstein // Dis Markers. 2001; 17(2): 77–88. DOI: 10.1155/2001/435746.

WHO, 2011. Children's environmental health indicators: training for health care providers [Электронный ресурс]. Geneva: World Health Organization, 2011a. URL: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HSE-PHE-AMR-09.01.03 (дата обращения 29.09.2025).

WHO, 2013. Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013-2020 [Электронный ресурс]. World Health organization, 2013. URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789241506236 (дата обращения 29.09.2025).

WHO, 2018. First Global Conference on Air Pollution and Health, 30 October – 1 November 2018 [Электронный ресурс]. Geneva: World Health Organization, 2018. URL: https://www.who.int/news-room/events/detail/2018/10/30/default-calendar/air-pollution-conference (дата обращения 29.09.2025).

WHO, 2022. Ambient (outdoor) air pollution [Электронный ресурс]. World Health Organization, 2022. URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health (дата обращения 29.09.2025).

WHO, 2023. World health statistics 2023: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals [Электронный ресурс]. World Health Organization. URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789240074323 (дата обращения 29.09.2025).

Whole-genome sequencing of 490,640 UK Biobank participants / UK Biobank Whole-Genome Sequencing Consortium // Nature. 2025; 645(8081): 692–701. DOI: 10.1038/s41586-025-09272-9.

Wilkins, M.R. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it / M.R. Wilkins, J.C. Sanchez, A.A. Gooley [et al.] // Biotechnol Genet Eng Rev. 1996; 13: 19–50. DOI: 10.1080/02648725.1996.10647923.

ГЛАВА 2

СТРУКТУРНО-ЗАВИСИМЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МОДИФИКАЦИИ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ

2.1. Металлоэлементы: механизмы протеомной токсичности

Металлы – широкая группа химических элементов естественного происхождения, характеризующихся высокой атомной массой и плотностью [Tchounwou P.B. et al., 2012].

С биомедицинской точки зрения их можно разделить на две ключевые категории. Первая категория – эссенциальные (жизненно необходимые) металлы – элементы, которые в микромолярных концентрациях выполняют важные физиологические функции. К ним относятся, например, хром (Cr), марганец (Mn) и медь (Cu). Они участвуют в ферментативных реакциях, транспорте электронов, антиоксидантной защите и других процессах гомеостаза. Вторая категория – неэссенциальные металлы (ксенобиотики) – элементы, не имеющие установленной биологической роли в организме человека. Типичные представители – кадмий (Cd) и никель (Ni). При превышении физиологически допустимых концентраций оба типа металлов способны вызывать токсические эффекты: накапливаясь в тканях, они нарушают работу ключевых физиологических систем [Järup L., 2003].

По степени воздействия на организм большинство металлов относится к чрезвычайно, высоко- и умеренноопасным веществам (1-3 класс опасности) согласно ГОСТ 12.1.007-76.

Механизмы токсического действия металлов в большинстве случаев обусловлены их высокой реакционной способностью и склонностью к взаимодействию с критически важными клеточными структурами. Основные молекулярные механизмы токсичности реализуются через ряд взаимосвязанных процессов:

– образование стабильных металл-белковых комплексов, когда катионы металлов координируются с функциональными группами белков (аминными $-NH_2$, тиольными $-SH$, карбоксильными $-COO^-$), что приводит к изменению конформации, ингибированию и инактивации ферментов за счет необратимого изменения конфигурации их активного центра; нарушению клеточного транспорта и энергетического метаболизма, структуры и функции мембран;

– замещение физиологически важных ионов в активных центрах металлсодержащих ферментов и транспортных белков (например, Cd^{2+} конкурирует с Zn^{2+}, Pb^{2+} – с Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Na^+, Mn^{3+} – с Fe^{3+}), что приводит к потере биологической функции соответствующих белоксодержащих металлоферментов и сигнальных путей;

– нарушение гомеостаза ионов в результате дисрегуляции транспорта и баланса катионов (Ca^{2+}, K^{+}, Na^{+}), что влияет на возбудимость клеток, синаптическую передачу и энергопродукцию;

– индукция окислительного стресса, связанная со способностью многих металлов (особенно переходных) катализировать образование реактивных форм кислорода (АФК), что ведёт к перекисному окислению липидов, окислительной модификации белков, повреждению ДНК и митохондрий;

– генотоксичность и эпигенетические эффекты у некоторых металлов (например, Cr (VI), Ni, Cd), способных вызывать разрывы ДНК, ингибировать репарационные системы, модифицировать паттерны метилирования ДНК и ацетилирования гистонов.

Совокупность этих молекулярно-клеточных нарушений может инициировать каскад патологических реакций, приводящих к системным негативным эффектам на уровне органов и организма человека в целом [Kakkar P., Jaffery F.N., 2005].

Факторы, модулирующие токсический эффект, определяются рядом параметров: концентрацией металла (дозозависимый эффект), длительностью экспозиции (острое и хроническое воздействие), физико-химическими свойствами иона (заряд, радиус, способность к комплексообразованию), индивидуальной чувствительностью организма к воздействию (генетические, возрастные, нутриционные факторы).

В промышленно развитых городах, где размещены предприятия металлургического, машиностроительного профиля и объекты электроэнергетики, особую опасность для здоровья населения представляют металлы и их соединения, отнесённые к I и II классам опасности (чрезвычайно опасные и опасные химические вещества) [Вредные вещества в промышленности, 1977]. К ним относятся оксиды хрома (VI), никеля, меди, марганца, ванадия, кадмия, алюминия. Данные металлы обладают рядом значимых свойств, обусловливающих их высокую токсичность и опасность для здоровья человека. К ним относятся:

– широкая распространённость в объектах среды обитания вследствие промышленных выбросов, транспортных эмиссий и агрохимических практик;

– кумулятивная токсичность – способность вызывать повреждающий эффект при длительном поступлении в организм в концентрациях, не превышающих действующие гигиенические нормативы;

– биоаккумуляция, то есть присуща тенденция к накоплению в тканях и органах, что приводит к постепенному нарастанию внутренней дозы;

– метаболическая активность, проявляющаяся вмешательством в биохимические циклы, включая конкуренцию с эссенциальными элементами;

– трансформация химической формы при переходе между средами (атмосферный воздух → вода → почва → пищевые продукты), что может усиливать их токсичность;

– стойкость к разложению, обусловленная отсутствием эффективных природных механизмов их детоксикации и элиминации;

– дефицитогенез, развивающийся в результате способности ряда металлов замещать эссенциальные элементы (например, Cd вместо Zn, Pb вместо Ca) в металлсодержащих белках и ферментах, нарушая их функцию [Микроэлементозы, 1991];

– способность преодолевать плацентарный барьер, оказывая тератогенное и эмбриотоксическое действие;

– способность проникать через гематоэнцефалический барьер, влияя на развитие и функцию центральной нервной системы.

Это определяет повышенную уязвимость к воздействию металлов детей (в том числе внутриутробно), беременных женщин, лиц с хроническими заболеваниями, иммунодефицитными состояниями и нарушениями детоксицирующих систем. Данные о повышенной чувствительности этих категорий подтверждены исследованиями [Репродуктивный возраст, 1985; Бобровский И.Н. и др., 2015].

Поиск новых биомаркеров ответных реакций организма на воздействие металлов – актуальная задача, так как традиционные методы оценки экспозиции и токсического эффекта часто не позволяют своевременно выявлять ранние нарушения. Современные исследования фокусируются на молекулярных и клеточных изменениях, которые могут отражать как непосредственное воздействие металлов, так и адаптационные механизмы организма.

Хром (Cr) является одним из эссенциальных элементов, наличие которого в виде трехвалентной формы необходимо для нормального функционирования организма, так как он играет ключевую роль в поддержании толерантности к глюкозе, потенцируя действие инсулина [Anderson R.A., 1989, 1997]. Хром участвует в углеводном, липидном и белковом обмене, однако его роль строго зависит от валентности [Fontaine M. et al., 2019; Zaeemzadeh N. et al., 2021]. Наиболее опасны соединения хрома (VI), высокотоксичны соединения хрома (III), соединения хрома (II) и металлический хром – менее токсичны [Fontaine M., 2019]. Хром (VI) по своему воздействию с атмосферным воздухом на организм человека относится к чрезвычайно опасным веществам (1 класс опасности). При хроническом аэрогенном воздействии хром преимущественно накапливается в печени, почках и легких, где вызывает повреждение клеток и тканей и связанное с этим развитие негативных эффектов. Он может накапливаться внутри клеток, что создает высокий химический потенциал для внутриклеточных реакций, вызывает морфологические изменения мембраны, нарушает биологические процессы и целостность клетки [Fang Z. et al., 2014; Santonen T. et al., 2022]. Накопление происходит преимущественно в митохондриях, что приводит к нарушению клеточного дыхания и энергетического обмена.

После поступления в организм хром (VI) эффективно восстанавливается до хрома (III) при участии цитохрома b_5, аскорбиновой кислоты и глутатиона. При этом процессе образуются промежуточные реакционно-способные соединения, обладающие цито- и генотоксическим действием, а также канцерогенными свойствами. После окислительного стресса, вызванного воздействием

хрома, происходит каскад клеточных событий, включая повышенную выработку супероксид-аниона и гидроксильных радикалов, усиление перекисного окисления липидов и фрагментацию ДНК, модуляцию внутриклеточных окисленных состояний, активацию протеинкиназы С, апоптотическую гибель клеток и изменение экспрессии генов [Bagchi D. et al., 2001; Jannetto P.J. et al., 2001].

Молекулярные механизмы хронического действия хрома характеризуются различными цитотоксическими и генотоксическими реакциями (образование аддуктов ДНК), влияющими на иммунную систему организма. Однако механизм индуцированной хромом цитотоксичности до конца не ясен. Ряд исследований *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали, что хром вызывает окислительный стресс за счет увеличения производства АФК в цитоплазме и ядре, приводящего к повреждению геномной ДНК и окислительному разрушению липидов и белков [Faisal M. et al., 2005]. Выявлены нарушения в распределении клеток по фазам клеточного цикла (например, в фибробластах человека – формирование пика в фазе G1 или задержка в фазе G2/M клеточного цикла), что может свидетельствовать о повреждении ДНК [Shrivastava H.Y. et al., 2005]. Кроме того, воздействие Cr вызывает образование аддуктов Cr-ДНК, раздражение тканей, воспаление и цитотоксичность, что может приводить к мутациям и канцерогенезу [Rager J.E. et al., 2019; Tumolo M. et al., 2020].

Генотоксичность хрома частично опосредована реактивными промежуточными продуктами и окислительными реакциями во время внутриклеточного восстановления Cr^{6+} до Cr^{3+}. Он образует комплексы с пептидами, белками и ДНК. Это приводит к поперечным связям ДНК-белок, разрывам цепей ДНК и изменениям клеточных сигнальных путей, тем самым нарушая клеточную целостность и функции, что может способствовать его токсичности и канцерогенности [Salnikow K., Zhitkovich A., 2008].

Хорошо изучены генотоксические механизмы и гены (*TLR4, TGM2, TNFRSF11B, BDKRB1, KIT и ZEB1*), ассоциированные с канцерогенными и неканцерогенными респираторными эффектами, вызванными действием хрома. Экспрессия *TLR4* в альвеолярных и бронхиальных эпителиальных клетках играет решающую роль в ответе на эндотоксин [Shang J. et al., 2019]. Дефицит *TLR4* вызывает повреждение легких и эмфизему [Zhang X. et al., 2006]. *TGM2*, как правило, сверхэкспрессируется в клетках рака легких [Li M. et al., 2022]. *TNFRSF11B*, член суперсемейства рецепторов *TNF*, может ингибировать апоптоз опухоли, связываясь с лигандом, индуцирующим апоптоз. Сверхэкспрессия *TNFRSF11B* может способствовать росту опухоли и метастазированию [Xie G. et al., 2019]. Белок *KIT* экспрессируется при мелкоклеточном раке легких, и его киназная активность участвует в патофизиологии многих опухолей [Luan F. et al., 2020]. Повышенная экспрессия *ZEB1* связана со степенью злокачественности опухоли и метастазами при раке легких из-за его роли как фактора транскрипции при эпителиально-мезенхимальном переходе [Larsen J.E. et al., 2016]. Совокупность этих молекулярно-клеточных нарушений лежит в основе развития фиброза, воспаления и канцерогенеза. Несмотря на

значительный прогресс в изучении токсического действия хрома, его полный механизм токсичности требует дальнейших исследований.

Кадмий (Cd) по степени воздействия с атмосферным воздухом на организм человека относится к чрезвычайно опасным веществам (1 класс опасности). Он обладает выраженной кумуляцией и накапливается в организме даже при минимальном его содержании в объектах среды обитания. Поступая в кровь, кадмий быстро связывается эритроцитами и альбуминами плазмы. Связанный кадмий депонируется в основном в почках и печени, образуя долгоживущие комплексы с белком металлотионеином, что изначально играет защитную роль. Однако, в отличие от некоторых других металлов, он не выполняет никакой известной физиологической функции и не обладает заметной ролью в нормальной жизнедеятельности организма. При достижении критической концентрации, когда возможности металлотионеина по его связыванию исчерпываются, проявляются свободные ионы кадмия, которые индуцируют токсические процессы. Основные механизмы его токсичности проявляются в виде прямого ингибирования жизненно важных ферментов, вытеснения эссенциальных элементов из активных центров белков и индукции окислительного стресса за счёт генерации АФК и истощения запасов антиоксидантов [Singhal R.K. et al., 1987; Templeton D.M., Liu Y., 2010].

Кадмий связан с нефротоксическим действием, особенно при высоком уровне воздействия. Поражая проксимальные канальцы почек, он приводит к нарушению реабсорбции белков, глюкозы и аминокислот, что в дальнейшем может проявляться в виде протеинурии и почечной дисфункции. Кроме этого, его хроническое воздействие может приводить к повреждениям костной ткани, вызывая остеомаляцию и остеопороз вследствие нарушения метаболизма кальция и витамина D, а также прямого действия на остеобласты [Friberg L. et al., 1985; Alfvén T. et al., 2002]. Ключевым молекулярным механизмом токсичности кадмия является его способность взаимодействовать с тиоловыми группами (-SH) критически важных белков. Он взаимодействует со значимыми антиоксидантными ферментами, в норме связывающими свободные радикалы, и тем самым ингибирует их активность и способствует развитию окислительного стресса [Singhal R.K. et al., 1987]. Это приводит к накоплению АФК, повреждению липидов, мембран, белков и ДНК, что, в конечном счёте, запускает механизм апоптоза и некроза клеток.

Семейство белков металлотионеинов, содержащее большое количество SH-групп, прочно связывается с металлами. Однако при хронической экспозиции кадмием защитные возможности этой системы истощаются. В связи с этим для оценки токсического действия кадмия используется комплекс биомаркеров. Биомаркерами эффекта, указывающими на развитие почечной дисфункции, являются канальцевый белок β_2-микроглобулин, ретинол-связывающий белок и α1-микроглобулин, повышенное выделение которых с мочой указывает на повреждение проксимальных канальцев [Jin T. et al., 2002; Moriguchi J. et al., 2004]. Повышенный уровень альбумина в моче при отсутствии роста концентрации низкомолекулярных белков рассматривается как ранний индикатор

гломерулярного повреждения, свидетельствующий о нарушении клубочковой фильтрации при экспозиции кадмия [Wallin M. et al., 2014].

Современные исследования направлены на поиск более чувствительных и ранних маркеров воздействия кадмия. Перспективным подходом является оценка не только самих белков, но и экспрессии генов, связанных с окислительным стрессом и воспалением, а также маркеров изменений в активности антиоксидантных ферментов. Формируется многоуровневая система диагностики: от маркеров биологически активной дозы (металлотионеин мРНК) и раннего повреждения (8-гидроксидезоксигуанозин как показатель окислительного повреждения липидов и ДНК) до маркеров функциональных нарушений (например, синтеза белков), что позволяет отслеживать прогрессирование изменений, вызванных действием кадмия, от самых ранних стадий до клинически выраженных форм [Ganguly S. et al., 1996; Taioli E. et al., 1998].

Марганец (Mn) является одним из эссенциальных микроэлементов, принимающих участие в нормальном функционировании организма, выступая кофактором ряда важных ферментов. Однако при внешнесредовом поступлении, согласно гигиенической классификации, по своему воздействию с атмосферным воздухом на организм человека он относится к высокоопасным веществам (2 класс опасности). Наибольшую опасность для здоровья представляют соединения марганца в степенях окисления +4, +6, +7, поскольку они способствуют развитию окислительного стресса в результате окисления дофамина и других катехоламинов, что может приводить к нейротоксическим эффектам (гибели нейронов в базальных ганглиях и др.) [Sloot W.N. et al., 1996; Newland M.C., 1999].

Ключевым механизмом токсичности является способность марганца нарушать гомеостаз железа. Вследствие схожести ионных радиусов марганец конкурирует с железом на молекулярном уровне при взаимодействии с ферментами, включающими железо в активный центр, например, митохондриальным комплексом I [Chen J.Y. et al., 2001], аконитазой [Zheng W. et al., 1998], железорегулирующим белком I [Zheng W. et al., 1998, 2001; Li G.J. et al., 2005]. Это нарушает процессы клеточного дыхания, цикл трикарбоновых кислот и метаболизм железа в целом, приводя к митохондриальной дисфункции и дальнейшему усилению окислительного стресса. В связи с этим белки, участвующие в метаболизме железа, могут использоваться в качестве биомаркеров воздействия марганца. Так, уровень трансферрина и ферритина значительно возрастает при воздействии марганца, в то время как уровень рецептора трансферрина снижается [Lu L. et al., 2005; Cowan D.M. et al., 2009]. Эти изменения отражают попытку организма адаптироваться к нарушенному гомеостазу железа и могут служить ранним признаком токсического действия марганца.

Другой возможный механизм, по которому марганец способствует чрезмерному образованию АФК, состоит во взаимодействии с внутриклеточными молекулами [HaMai D. et al., 2001; Oubrahim H. et al., 2001; Anantharam V. et al., 2002]. Для оценки интенсивности этого процесса используется ряд биомаркеров. Некоторые ферменты и продукты реакций АФК, такие как супероксид-

дисмутаза, малоновый диальдегид, глутаминсинтетаза, металлотионеин или глутатион, могут служить маркерами системного окислительного стресса при воздействии марганца и его соединений.

Супероксиддисмутаза (СОД) – ключевой фермент антиоксидантной защиты, катализирующий реакцию разложения супероксид-радикалов до перекиси водорода и кислорода [Oda T. et al., 1989]. Активность СОД непосредственно связана с оксидативным статусом. При хроническом воздействии марганца её активность может сначала повышаться как компенсаторная реакция, а затем снижаться при длительном и активном стрессе. Малоновый диальдегид (МДА) является продуктом перекисного окисления липидов мембран. Его повышенные уровни в биологических средах прямо отражают повреждение клеточных структур в результате окислительного стресса. Показано увеличение концентрации МДА в сыворотке крови при внешнесредовой экспозиции марганца [Misiewicz A. et al., 1999].

Глутаминсинтетаза является марганец-зависимым ферментом, который играет основную роль в метаболизме азота, катализируя реакцию конденсации глутамата и аммиака с образованием глутамина. На модели субхронического воздействия марганца на крыс показано увеличение экспрессии глутаминсинтетазы, что может указывать на компенсаторную реакцию на начальной стадии экспозиции [Zheng W. et al., 1999]. Гиперэкспрессия мРНК глутаминсинтетазы может отражать изменение уровня Mn (II) и/или отношения Mn(II)/Mn(III), поскольку оба фактора могут принимать участие в регуляции её активности. Однако данные о влиянии марганца на глутаминсинтетазу неоднозначны и, по-видимому, зависят от дозы и продолжительности воздействия. Показано значительное увеличение уровня глутаминсинтетазы в гиппокампе, но уменьшение его в гипоталамусе крыс, вдыхавших сульфат марганца. Более поздние исследования предполагают, что длительное или интенсивное воздействие марганца существенно снижает уровень глутаминсинтетазы в мозжечке и сокращает её мРНК в полосатом теле [Erikson K.M. et al., 2004].

Среди других маркеров окислительного стресса металлотионеин, принадлежащий к семейству цистеин-обогащённых протеинов с низкой молекулярной массой, широко представлен в большинстве организмов [Kägi J.H.R., 1993; Vasak M. et al., 1994]. Помимо своей основной роли в гомеостазе эссенциальных элементов и детоксикации токсичных металлов, металлотионеин проявляет себя как мощный антиоксидант, выступая ловушкой для свободных радикалов благодаря высокому содержанию тиольных групп (-SH) [Bauman J.W. et al., 1991; Kägi J.H.R., 1993]. Вместе с тем данные о динамике металлотионеина при воздействии марганца носят противоречивый характер, что обусловлено нелинейностью адаптивного ответа клетки. Экспериментальные исследования *in vivo* демонстрируют выраженную даун-регуляцию (снижение уровня) мРНК металлотионеина в церебральных тканях после марганцевой экспозиции [Dorman D.C. et al., 2004; Erikson K.M. et al., 2004]. Подобная негативная модуляция указывает на транскрипционную репрессию защитных систем и истощение антиоксидантного потенциала клетки в условиях критической

или пролонгированной экспозиции. Вместе с тем в ряде исследований на ювенильных крысах отмечается индукция экспрессии мРНК металлотионеина либо отсутствие статистически значимых изменений относительно контроля [Dobson A.W. et al., 2003]. Подобная вариабельность ответа, вероятно, детерминирована различиями в дизайне экспериментов и стадией патогенетического процесса. Можно предположить наличие фазовой динамики: инициальная компенсаторная активация гена металлотионеина при умеренной экспозиции сменяется его супрессией по мере прогрессирования оксидативного повреждения и истощения клеточных ресурсов.

Глутатион выполняет критическую антиоксидантную функцию, выступая в роли прямого скавенджера свободных радикалов и незаменимого кофактора глутатионпероксидазы [Meister A., Anderson M.E., 1984]. Ряд экспериментальных работ фиксирует значительное снижение концентрации глутатиона и активности ассоциированных ферментов в стриатуме (полосатом теле) крыс при субхронической интоксикации марганцем, что указывает на селективное истощение антиоксидантного резерва данной структуры мозга [Donaldson J., 1987; Liccione J.J., Maines M.D., 1988; Spina M.B., Cohen G., 1989]. Патогенетическая значимость этих сдвигов подтверждается клинико-эпидемиологическими данными: выраженный дефицит глутатиона является общим признаком болезни Паркинсона, ювенильного паркинсонизма и других нейродегенеративных процессов [Sian J. et al., 1994]. Следовательно, мониторинг системы глутатиона обладает высоким предиктивным потенциалом и может быть использован в качестве информативного биомаркера для оценки выраженности окислительного стресса, индуцированного марганцем и его соединениями.

Никель (*Ni*) является условно эссенциальным элементом, участвующим в гемопоэзе, инсулиновой сигнализации и структурно-функциональной организации нуклеиновых кислот и белков [Гальченко А.В., Шерстнева А.А., 2021]. Обладая химическим сходством с железом и кобальтом, никель конкурирует за активные центры ферментов и сайты связывания транспортных протеинов, инициируя метаболическую дестабилизацию [Ottolenghi A.D. et al., 1975; Saknyn A.V., Blokhin V.A., 1978]. Согласно гигиенической классификации, никель при аэрогенном воздействии относится к веществам II класса опасности. При ингаляционном поступлении он демонстрирует выраженную тропность к ткани легких, где происходит его преимущественное депонирование [Онищенко Г.Г., 2004; Никанов А.Н. и др., 2017]. В системном кровотоке никель транспортируется преимущественно в связанном с α_2-макроглобулином и α_1-гликопротеином состоянии. Трансмембранный перенос и внутриклеточная кумуляция металла опосредованы белками группы металлотионеинов, что определяет реализацию его цитотоксических эффектов [Скальный А.В., 2004].

Вредное воздействие никеля на организм человека детерминировано его выраженной генотоксичностью, канцерогенным потенциалом и способностью индуцировать системный окислительный стресс [IARC, 2012; Chen Q.Y. et al., 2017]. Согласно классификации Международного агентства по изучению рака (МАИР), соединения никеля (как растворимые, так и нерастворимые) отнесе-

ны к Группе 1 (канцерогены для человека), в то время как металлический никель и его сплавы – к Группе 2B [Nickel and nickel compounds, 2012]. Различия в степени опасности обусловлены особенностями их биодоступности: растворимые соли никеля характеризуются высокой скоростью трансмембранного переноса, тогда как нерастворимые соединения обладают способностью к длительной тканевой персистенции. Это инициирует очаги хронического пролиферативного воспаления и кумулятивную генотоксичность, что в совокупности выступает триггером малигнизации тканей.

Патогенетические механизмы токсичности никеля опосредованы индукцией митохондриальной дисфункции, развивающейся вследствие дестабилизации мембранного потенциала, дефицита АТФ и фрагментации митохондриальной ДНК [Song X. et al., 2017]. Соединения никеля инициируют глубокую эпигенетическую модуляцию, включая гиперфосфорилирование гистонов, гиперметилирование ДНК и аберрантное убиквитинирование, что ведет к репрессии или аномальной экспрессии генов-мишеней [Ke Q. et al., 2008a, 2008b; Cantone L. et al., 2011]. Дополнительный вклад в патогенез вносит высокая аффинность никеля к сульфгидридным (-SH) группам белков, что приводит к инактивации ключевых энзимов клеточного дыхания и антиоксидантной защиты. Способность никеля интерферировать с процессами утилизации кислорода напрямую нарушает окислительное фосфорилирование, провоцируя энергетический дефицит клетки. Совокупность данных молекулярных нарушений детерминирует системную токсичность с преимущественным поражением органов-мишеней: легких, почек, печени и головного мозга [Das K.K. et al., 2018; Rizvi A. et al., 2020].

Аналитическое обобщение механизмов токсичности никеля подтверждает его способность к системной дезорганизации ключевых клеточных процессов. Данный эффект реализуется через аберрантную модификацию регуляторных белков: гистонов, факторов транскрипции, ферментов репарации ДНК, а также систем эпигенетической регуляции и убиквитинирования. Фундаментальным звеном патогенеза выступает молекулярная мимикрия, при которой ионы никеля изоморфно замещают эндогенные металлы (*Fe, Cu, Zn, Ca*) в металлсвязывающих доменах. Это инициирует дисфункцию ионных каналов и критических метаболических путей, дестабилизируя металлозависимый гомеостаз клетки [Forgacs Z. et al., 2012; Zambelli B. et al., 2016].

Кумуляция данных эффектов инициирует глубокую функциональную дестабилизацию клеточного метаболизма, характеризующуюся дисбалансом гомеостаза железа, деплецией (истощением) аскорбиновой кислоты и индукцией псевдогипоксического ответа в условиях нормоксии. Подобные метаболические сдвиги детерминируют устойчивую модуляцию генной экспрессии, опосредованную эпигенетическими аберрациями, в частности, локальным гиперметилированием ДНК. Критическое значение имеет феномен эпигенетической памяти: сформированные модификации хроматина сохраняют стабильность после элиминации никеля из биосред, что обуславливает его долгосрочный канцерогенный потенциал. При сочетанной экспозиции никеля с

другими генотоксикантами наблюдается выраженный синергизм, приводящий к мультипликативному усилению цитотоксических и мутагенных эффектов [Salnikow K., Zhitkovich A., 2008].

Анализ канцерогенного потенциала никеля, верифицированный в сериях исследований *in vitro* и *in vivo*, подтверждает, что индукция генотоксического стресса является фундаментальным звеном его патогенеза [Xu Z. et al., 2011; Henderson R.G. et al., 2012]. В ответ на повреждение ДНК клетки инициируют каскад защитных реакций, направленных на сохранение стабильности генома: активацию чекпоинтов клеточного цикла, запуск систем репарации или, при критическом уровне повреждений, индукцию апоптоза. Однако никель обладает способностью компрометировать данные регуляторные пути, блокируя механизмы контроля целостности генетического аппарата [Tubbs A., Nussenzweig A., 2017].

Эпигенетическая супрессия генной экспрессии, индуцированная соединениями никеля, была первоначально верифицирована на модели трансгенного гена *gpt E. coli*. Несмотря на отсутствие исчерпывающих данных о механизмах никель-индуцированного гиперметилирования, доминирующая гипотеза базируется на способности ионов никеля изоморфно замещать магний (Mg^{2+}). Подобная интерференция модулирует активность ДНК-метилтрансфераз и инициирует аберрантную конденсацию хроматина, что ограничивает доступность промоторных областей для транскрипционных факторов и ведет к стойкой репрессии генов-мишеней [Lee Y.W. et al., 1995].

Параллельно с метилированием ДНК критическую роль в патогенезе играет модуляция посттрансляционных модификаций гистонов. В клетках млекопитающих верифицировано выраженное ингибирование ацетилирования гистона H4, что инициирует структурную реорганизацию хроматина и ограничивает доступность локусов ДНК для транскрипционных факторов [Golebiowski F., Kasprzak K.S., 2005]. В пульмоноцитах человека при воздействии растворимых соединений никеля идентифицированы три доминирующих паттерна эпигенетических аберраций:

– глобальное деацетилирование гистонов *H2A, H2B, H3* и *H4*, маркирующее транскрипционную репрессию;

– индукция диметилирования *H3K9* (маркера гетерохроматина);

– значительное гиперубиквитинирование *H2A* и *H2B*.

Подобный комплекс модификаций формирует устойчивый эпигенетический ландшафт, способствующий инактивации генов-супрессоров опухолей [Chen H. et al., 2006; Karaczyn A.A. et al., 2006; Ke Q. et al., 2006].

Характерной особенностью токсикодинамики никеля является индукция специфического профиля генной экспрессии, имитирующего клеточный ответ на гипоксию. Механизм данной «ложной гипоксии» базируется на ингибировании *Fe(II)/2*-оксоглутарат-зависимых диоксигеназ – пролил- и аспарагинилгидроксилаз. Это блокирует гидроксилирование субъединицы *HIF-1α*, предотвращая её распознавание белком фон Хиппеля-Линдау (*pVHL*) и последующую протеасомную деградацию [Maxwell P., Salnikow K., 2004]. В условиях

нормоксии стабилизированный димер *HIF-1α/HIF-1β* транслоцируется в ядро, инициируя аберрантную транскрипцию HIF-1-зависимых генов-мишеней. Подобная активация гипоксического сигнального пути в отсутствие реального дефицита кислорода выступает критическим фактором метаболического перепрограммирования и никель-индуцированного канцерогенеза [Salceda S., Caro J., 1997; Costa M. et al., 2005].

Стабилизация *HIF-1* под действием никеля инициирует каскад системных метаболических перестроек. Данный транскрипционный фактор осуществляет координированную регуляцию экспрессии генов, ответственных за экспрессию транспортеров глюкозы (*GLUT*) и ферментов гликолиза [Semenza G.L., 1999]. Подобное репрограммирование метаболизма объясняет развитие выраженной гипергликемии, гиперглюкагонемии и гиперинсулинемии, наблюдаемых в экспериментальных моделях *in vivo* при введении соединений никеля [Ryan H.E. et al., 1998]. Пролонгированная экспозиция никеля выступает фактором селекции клеточных клонов с аномально высокой скоростью анаэробного гликолиза. В результате клетки приобретают специфический метаболический фенотип, характерный для малигнизированных тканей, что обеспечивает им селективное преимущество в условиях микроокружения опухоли [Warburg O., 1956; Graven K.K. et al., 1998; Salnikow K. et al., 2000].

Усиление гликолиза сопровождается активацией пентозофосфатного пути и накоплением 5-фосфорибозил-1-пирофосфата – ключевого субстрата для синтеза нуклеотидов, необходимого для репликации ДНК и ускоренной пролиферации клеток [Chesney J. et al., 1999]. Таким образом, никель-индуцированное метаболическое репрограммирование формирует селективное преимущество для клеточных клонов с высокой интенсивностью гликолитического потока. Данная перестройка тесно ассоциирована с активностью онкогенов: в частности, *c-Myc*-опосредованная трансформация ведет к гиперэкспрессии лактатдегидрогеназы-А (ЛДГ-А) – критического фермента анаэробного метаболизма. Доказано, что экспрессия ЛДГ-А является необходимым условием поддержания неопластического фенотипа, так как её ингибирование значимо снижает клоногенный потенциал трансформированных клеток [Shim H. et al., 1997]. В совокупности это подтверждает, что никель через стабилизацию *HIF-1* и перестройку метаболизма создает условия для селекции и выживания высокоагрессивных клеточных популяций.

Ванадий (V) является условно эссенциальным микроэлементом, который при ингаляционной экспозиции классифицируется как чрезвычайно опасное вещество (I класс опасности). Цитотоксический потенциал ванадия во многом детерминирован его способностью индуцировать системный окислительный стресс и ингибировать ключевые ферментативные системы.

В биологических средах соединения ванадия подвергаются одноэлектронному восстановлению до четырехвалентного состояния (V(IV)) при участии *NADPH* и аскорбиновой кислоты. Данный процесс сопровождается образованием высокореакционных интермедиатов – пероксованадил-радикала и ванадилгидропероксида, а также генерацией супероксид-анион-радикала

с его последующей дисмутацией в пероксид водорода. В присутствии ионов переходных металлов это инициирует накопление гидроксильного радикала (•*OH*), что запускает массированный каскад свободнорадикального окисления биомакромолекул [Valko M. et al., 2006]. Генерация активных форм кислорода (АФК) инициирует деструкцию клеточных структур посредством пероксидации липидов и окислительной модификации ДНК. Параллельно с прямым цитотоксическим действием соединения ванадия выступают в роли мощных редокс-чувствительных модуляторов, индуцирующих аберрантную внутриклеточную сигнализацию. Данный эффект реализуется через активацию транскрипционных факторов (*AP-1*, *NF-kB*, *p53*) и митоген-активируемых протеинкиназ (*MEK-1*, *ERK-1*, *JNK*). Механизм активации носит двойственный характер: он опосредован как прямым генотоксическим стрессом, так и ингибированием протеинтирозинфосфатаз [Huang C. et al., 2000]. Одним из детерминированных последствий данного мультитаргетного воздействия является индукция апоптоза. Соединения ванадия инициируют программируемую клеточную гибель через активацию нескольких независимых каскадов [Wang L. et al., 2003; Sankar Ray R. et al., 2004; Au A. et al., 2006]. Запуск митохондриального (интринзивного) пути манифестирует дестабилизацией мембранного потенциала, транслокацией цитохрома С в цитозоль и последующим рекрутированием каспаз-9 и -3. Параллельно верифицирована активация каспазы-8, что свидетельствует о вовлечении рецепторного (экстринзивного) пути. Исследования *in vivo* подтверждают, что ванадий-индуцированный апоптоз сопряжен с гиперэкспрессией проапоптотических факторов (p53, Bax) на фоне супрессии антиапоптотического белка Bcl-2 [Ray R.S. et al., 2006, 2007].

Кроме того, ванадий способен индуцировать атипичные пути клеточной гибели [Luo J. et al., 2003]. Эффективное ингибирование апоптоза при предварительной обработке антиоксидантами (N-ацетилцистеином, каталазой) подтверждает фундаментальную роль окислительного стресса как триггера данных деструктивных процессов [Chen F. et al., 2001].

Медь (*Cu*) является жизненно важным эссенциальным микроэлементом, выступающим кофактором критических ферментативных систем клеточного дыхания, антиоксидантной защиты и биосинтеза коллагена. В протеомном профиле медь практически не встречается в свободном ионном состоянии: она интегрирована в простетические группы энзимов либо сопряжена со специфическими транспортными белками и шаперонами.

Системная безопасность метаболизма меди обеспечивается шаперонами (*ATOX1*, *CCS*), которые минимизируют вероятность участия свободных ионов в неконтролируемых редокс-реакциях, осуществляя таргетную доставку металла к целевым белкам [Gaetke L.M. et al., 2014]. Внутриклеточный гомеостаз поддерживается Р-типа АТФазами – *ATP7A* и *ATP7B*, локализованными в транс-Гольджи-сети. Данные транспортеры обеспечивают компартментализацию меди и её экспорт: *ATP7A* детерминирует поступление металла в системный кровоток, тогда как *ATP7B* опосредует экскрецию избытка меди с желчью

в гепатоцитах [Bakkar N. et al., 2021; Chen L. et al., 2021]. В системной циркуляции медь транспортируется в составе стабильных лигандов. На молекулярном уровне она образует комплексы с гистидином и цистеином, а на белковом – связывается с альбумином и трансферрином. При этом до 95 % сывороточной меди ассоциировано с церулоплазмином – ключевым медьсодержащим ферментом плазмы, предотвращающим неспецифическую кумуляцию металла в периферических тканях [Rubino J.T. et al., 2011; Ramos D. et al., 2016]. Эти комплексы эффективно способствуют транспорту меди и предотвращают её неспецифическое высвобождение и чрезмерное накопление в тканях.

Согласно гигиенической классификации, медь при аэрогенной экспозиции относится к веществам II класса опасности. Пролонгированное техногенное воздействие меди ассоциировано с риском развития функциональной недостаточности центральной нервной, гепатобилиарной и мочевыделительной систем [Tchounwou P.B. et al., 2012; Karim N., 2018]. Патогенетический фундамент данных нарушений составляет селективная кумуляция меди в церебральных структурах и паренхиматозных органах, инициирующая прямой цитотоксический каскад [Pal A., Prasad R., 2016; Giampietro R. et al., 2018]. Патогенетическая основа цитотоксичности меди обусловлена её селективной кумуляцией в церебральных структурах и паренхиматозных органах. Рост внутриклеточной концентрации ионов Cu инициирует каскад деструктивных процессов, центральным звеном которых выступает системный окислительный стресс. Ключевым механизмом генерации активных форм кислорода (АФК) является реакция Фентона, в которой медь выступает высокоэффективным катализатором за счёт циклического изменения валентного состояния (Cu^{+}/Cu^{2+}) [Stern B.R.. 2010; Lomozová Z. et al., 2022; Toxicological Profile for Copper, 2022]. Это напрямую повреждает ключевые клеточные компоненты, включая липиды, белки и ДНК, что приводит к нарушению клеточных функций и целостности [Wei H. et al., 2014; Moussa H. et al., 2016; Nunes K.Z. et al., 2018].

Медь выступает мощным проинфламматорным агентом, индуцирующим избыточную генерацию АФК в эндотелиоцитах и активацию редокс-чувствительных транскрипционных факторов, в частности, NF-κB. Индукция NF-κB-зависимых путей детерминирует экспрессию ключевых молекул адгезии – *VCAM-1*, *ICAM-1* и *E*-селектина (*CD62E*). Аберрантная презентация данных белков на поверхности эндотелия интенсифицирует лейкоцитарно-эндотелиальное взаимодействие, инициируя адгезивный каскад и прогрессирование системного воспаления [Pan Q. et al., 2002; Hou M.M. et al., 2017]. Критическим следствием синергизма окислительного стресса и воспаления является дестабилизация регуляции апоптоза. Воспалительные цитокины способствуют росту внутриклеточного пула меди, что инициирует взаимодействие ионов Cu с X-связанным ингибитором апоптоза (XIAP) [Burstein E.A. et al., 2004]. Прямое связывание меди с XIAP индуцирует его убиквитинирование и протеасомную деградацию, что лишает клетку фундаментального механизма супрессии каспаз и необратимо смещает баланс в сторону программируемой гибели [Li N. et

al., 2022]. Идентифицирован уникальный механизм регулируемой клеточной гибели – купроптоз, индуцируемый избытком ионов меди [Tsvetkov P. et al., 2022]. Данный процесс этиологически и морфологически отличен от классического апоптоза и ферроптоза, поскольку базируется на прямой агрегации липоилированных белков митохондриального цикла трикарбоновых кислот (ЦТК). Формирование аномальных белковых агрегатов инициирует метаболическую блокаду ЦТК и ингибирование аэробного дыхания, что детерминирует критическое стрессовое состояние и гибель клетки [Zhong G. et al., 2023].

Наряду со специфической агрегацией белков, избыток меди провоцирует дестабилизацию митохондриального мембранного потенциала, транслокацию цитохрома С в цитозоль и рекрутирование каспазы-9 [Yang Q. et al., 2017; Zhong G. et al., 2023]. Системная цитотоксичность меди усиливается за счет ингибирования убиквитин-протеасомной системы и снижения протеолитической активности, что ведет к блокаде клеточного цикла и необратимой деструкции клеточных структур [Chen X. et al., 2017].

Алюминий (Al) – широко распространенный в биосфере металл, не являющийся биогенным элементом и не выполняющий физиологических функций в организме человека. В биологических средах ионы алюминия проявляют высокую аффинность к карбоксилатным и фосфатным группам макромолекул (белков, РНК, ДНК) и низкомолекулярных лигандов (цитратов, нуклеотидов, лактатов) [Fernandes R.M. et al., 2020].

Согласно гигиенической классификации, алюминий при аэрогенном воздействии относится к высокоопасным веществам (II класс опасности). Молекулярно-клеточные механизмы его токсичности включают индукцию системного окислительного стресса, генотоксичность, проинфламматорные эффекты и ферментативную дисфункцию. Деструктивное влияние алюминия на клеточном уровне проявляется в нарушении метаболического гомеостаза, дестабилизации цитоскелета (разрушении микротрубочек) и инициации программируемой или некротической гибели клеток [Exley C., 2013; Souza-Monteiro D. et al., 2022].

Токсические эффекты алюминия преимущественно детерминированы его прооксидантной активностью, инициирующей окислительную деструкцию белков и липидов [Mujika J.I., 2018]. Ионы Al^{3+}, подобно железу, выступают катализаторами реакций Фентона и Габера-Вайса, генерируя высокореакционные интермедиаты АФК. Прямое взаимодействие алюминия с кислородсодержащими боковыми цепями аминокислот и пептидным остовом провоцирует аберрантные конформационные переходы и денатурацию белков [Kawahara M. et al., 2007; Ohsaka Y., Nomura Y., 2016]. Данный процесс усугубляется ингибированием супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, что ведет к коллапсу системы антиоксидантной защиты.

Высокая аффинность алюминия к фосфатным группам АТФ обуславливает критические нарушения энергетического обмена [Han S. et al., 2013]. В гепатоцитах это проявляется подавлением гликолиза и дисфункцией цикла

трикарбоновых кислот, что сопровождается метаболическим сдвигом в сторону липогенеза [Contini Mdel C. et al., 2007]. Следовательно, алюминий одновременно блокирует пути генерации энергии и репрограммирует метаболизм на синтез липидов, что маркирует тяжелую митохондриальную дисфункцию. Индуцированная алюминием перегрузка железом усиливает пероксидацию липидов и генотоксический стресс, завершающийся инициацией АФК-зависимого апоптоза в условиях выраженного энергодефицита [Kell D.B. et al., 2009; Yang X. et al., 2018].

Цитотоксический потенциал алюминия проявляется в индукции программируемой гибели различных клеточных популяций, включая остеобласты, лимфоциты и эритроциты (эриптоз). Ключевым медиатором данного процесса выступает стресс-активируемая протеинкиназа JNK, чей проапоптотический каскад инициируется алюминий-индуцированным оксидативным повреждением [Khattab H.A.H. et al., 2010].

Развитие системного окислительного стресса подтверждается выраженным дисбалансом оксидативного статуса в гомогенатах тканей: значительным ростом уровней малонового диальдегида (МДА) и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты), на фоне критической деплеции ферментативного (*SOD*, *CAT*, *GPx*) и неферментативного (глутатион) звеньев антиоксидантной защиты [Khattab H.A.H. et al., 2010; Yu H. et al., 2019]. Подобная динамика биохимических маркеров верифицирует массированную пероксидацию липидов, выступающую триггером универсальных механизмов клеточной гибели.

Индукция воспалительных механизмов при воздействии алюминия верифицирована в различных тканевых структурах [Jangra A. et al., 2015]. Установлена дозозависимая гиперэкспрессия провоспалительных цитокинов (*IL-1β*, *TNF-α*) и хемокинов (*MIP-1α*), инициируемая редокс-чувствительными сигнальными путями [Johnson V.J. Sharma R.P., 2003; Lukiw W.J. et al., 2005]. Хемотаксис лейкоцитов в очаг повреждения потенцирует секрецию медиаторов воспаления, формируя порочный круг хронического низкоинтенсивного воспаления (low-grade inflammation), лежащего в основе системной деструкции тканей [Bolognin S. et al., 2011].

Фундаментальным аспектом нейротоксичности алюминия является его способность дестабилизировать клеточный протеостаз, что ведет к аберрантному синтезу и агрегации патологических белков: β-амилоида (A*β*) и гиперфосфорилированного тау-белка [Walton J.R., Wang M.X., 2009; Lin W.T. et al., 2015]. Синергизм оксидативного стресса и нейровоспаления инициирует прямой апоптоз нейронов и развитие амилоидной ангиопатии [Javed H. et al., 2011; Akinrinade I.D., 2015].

На функциональном уровне алюминий провоцирует холинергическую дисфункцию, ингибирование нейротрансмиттеров и накопление конечных продуктов гликирования [Rice D., Barone S.Jr., 2000; Zaky A. et al., 2013]. Деградация синаптической ультраструктуры и угнетение долговременной потенциации

(*L-LTP*) в гиппокампе определяют стойкие нарушения синаптической пластичности и когнитивный дефицит [Zhang L. et al., 2013].

Общими молекулярными механизмами токсического действия рассматриваемых металлов (Cr, Cd, Mn, Ni, V, Cu, Al) являются:

- индукция окислительного стресса и генерация активных форм кислорода (супероксид-анион, перекись водорода, гидроксильный радикал), которая реализуется через различные пути
  - восстановление/окисление ($Cr^{6+} \rightarrow Cr^{3+}$; $V^{5+} \rightarrow V^{4+}$; $Cu^{2+} \leftrightarrow Cu^{+}$ в реакциях Фентона/Габера-Вайса),
  - ингибирование антиоксидантных ферментов (СОД, глутатионпероксидаза, каталаза),
  - истощение низкомолекулярных антиоксидантов (глутатион, аскорбиновая кислота); негативные последствия проявляются в виде перекисного окисления липидов (повышение МДА), окисления белков, повреждения ДНК, митохондриальной дисфункции;
- повреждение ДНК и генотоксичность
  - образование аддуктов металл-ДНК (Cr-ДНК, Ni-ДНК),
  - двунитевые разрывы и модификации оснований (8-гидрокси-дезоксигуанозин как маркер окисления ДНК),
  - эпигенетические изменения: гиперметилирование ДНК, модификация гистонов (ацетилирование, метилирование), влияющие на экспрессию генов,
  - нарушение репарации ДНК и активация проапоптотических путей (p53, каспазы);
- нарушение клеточного метаболизма и энергетического обмена
  - дисфункция митохондрий: снижение мембранного потенциала, выброс цитохрома С, нарушение цикла трикарбоновых кислот,
  - подавление окислительного фосфорилирования и снижение уровня АТФ,
  - метаболическое перепрограммирование (например, активация гликолиза через HIF-1 при воздействии Ni),
  - нарушение гомеостаза железа (Mn, Cu, Ni) за счёт конкуренции с ионами Fe^{2+}/Fe^{3+} в ферментах (аконитаза, митохондриальный комплекс I);
- дисрегуляция сигнальных путей и транскрипционных факторов
  - активация провоспалительных путей: NF-κB, AP-1, TNF-α, IL-8, MIP-2,
  - гипоксический ответ: стабилизация HIF-1α (даже при нормоксии) под действием Ni,
  - модуляция киназных каскадов: MEK-1, ERK-1, JNK, протеинкиназы С,
  - влияние на факторы транскрипции, регулирующие апоптоз и пролиферацию (p53, Bcl-2, Bax);
- нарушение белкового гомеостаза и ферментативной активности
  - связывание с тиольными группами (-SH) белков и ферментов (металлотионеины, антиоксидантные ферменты),

– денатурация и агрегация белков (например, липоилированных ферментов при купроптозе),
– ингибирование протеинтирозинфосфатаз (V), убиквитин-протеасомной системы (Cu),
– изменение активности металлозависимых ферментов (глутаминсинтетаза при воздействии Mn; церулоплазмин при дисбалансе Cu);

• воспаление и иммунные реакции
– высвобождение провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1β, IL-8),
– активация макрофагов и нейтрофилов, хемокинов (MIP-1α, MIP-2),
– хроническое воспаление как фактор канцерогенеза (особенно для Ni, Cr);

• апоптоз и альтернативные пути клеточной гибели
– классический апоптоз через митохондриальный путь (цитохром C, каспазы 9/3) и рецепторный путь (каспаза 8),
– купроптоз (медь-зависимая гибель клеток через агрегацию липоилированных белков),
– некроз вследствие энергодефицита и массивного окислительного повреждения,
– эриптоз (апоптоз эритроцитов) под действием Al;

• накопление и депонирование в критических тканях
– почки и печень (Cd, Cr, Cu),
– лёгкие (Ni, Cr),
– мозг и нейрональные структуры (Mn, Al, Cu),
– костная ткань (Cd, Al),
– формирование долгоживущих комплексов с металлотионеинами (Cd, Ni) или белками плазмы (Cu с церулоплазмином);

• нарушение ионного гомеостаза и конкуренция с эссенциальными элементами
– конкуренция с Fe, Zn, Ca за связывание с белками и ферментами (Mn, Ni, Cu, Al),
– нарушение транспорта ионов через мембраны (влияние на ATP7A/ATP7B при дисбалансе Cu),
– дестабилизация металлопротеинов (например, аконитаза при воздействии Mn);

• канцерогенез и пролиферативные эффекты
– генотоксичность и мутагенез как основа опухолевой трансформации,
– эпигенетическая регуляция онкогенов и супрессоров (гиперметилирование ДНК, модификация гистонов),
– стимуляция ангиогенеза и метаболизма глюкозы через HIF-1 (Ni),
– ингибирование апоптоза опухолевых клеток (сверхэкспрессия TNFRSF11B при воздействии Cr).

Ключевые общие мишени воздействия данных металлов включают:

• митохондрии (энергетический обмен, апоптоз);
• ДНК и эпигеном (повреждение, репарация, экспрессия генов);

- антиоксидантная система (СОД, глутатион, металлотионеины);
- сигнальные каскады (NF-κB, HIF-1, MAPK);
- белки с SH-группами (ферменты, металлотионеины, цитоскелет).

Несмотря на множественность составных звеньев механизма токсического действия рассматриваемых металлоэлементов, в его основе лежит генерация АФК и каскад последующих нарушений, схематично сгруппированных вокруг центрального звена – окислительного стресса, что представлено на рисунке 2.1.

Таким образом, токсикодинамика исследуемых металлов характеризуется иерархической детерминированностью – от первичных молекулярных аберраций (повреждение ДНК, инактивация ферментов, дисфункция ионных каналов) до манифестации системных патологических процессов (хроническое воспаление, канцерогенез, специфическая органная недостаточность).

Фундаментальным узлом патогенетической конвергенции выступает системный окислительный стресс, потенцируемый глубокой дестабилизацией металло-лигандного гомеостаза и аберрантной сигнализацией. Синергизм данных механизмов обуславливает мультитаргетный характер повреждений, что требует интегративного подхода к идентификации специфических и неспецифических протеомных маркеров техногенной экспозиции.

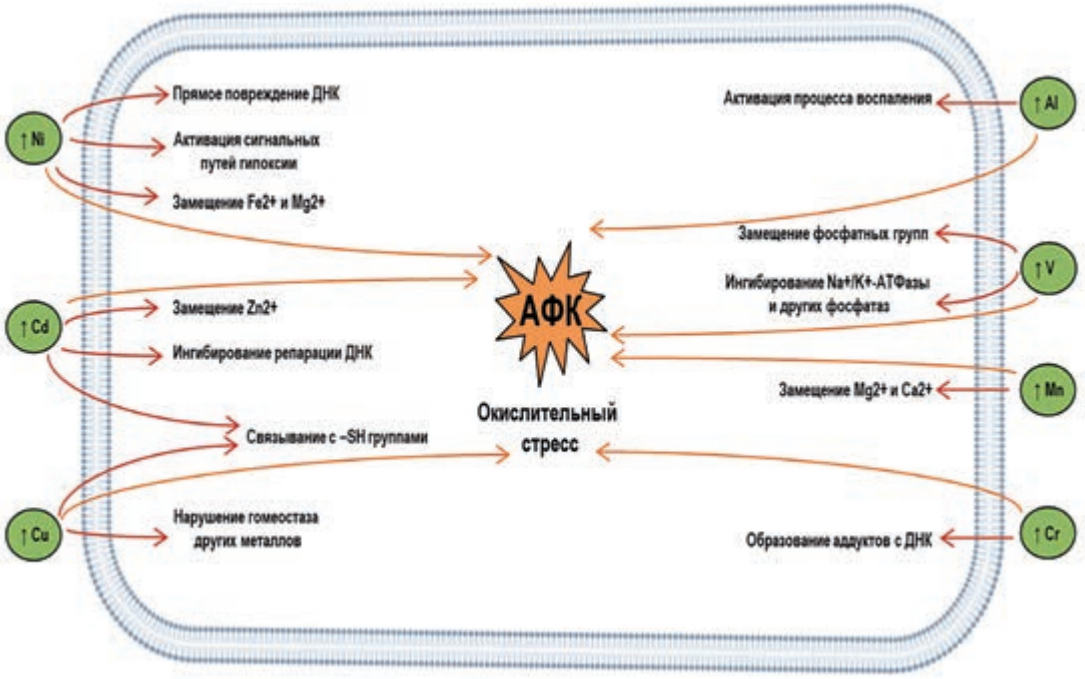


Рис. 2.1. Схематическое представление каскада патогенетических нарушений в результате окислительного стресса, инициированного воздействием конкретных металлов (обобщение данных литературы)

2.2. Ароматические углеводороды и их влияние на протеомный гомеостаз

Ароматические углеводороды (арены) представляют собой класс органических соединений, характеризующихся высокой термодинамической стабильностью за счет делокализации – электронной системы циклической структуры [Куценко С.А., 2004]. Приоритетные представители данного класса – бензол, толуол, ксилолы и бенз(а)пирен – являются доминирующими компонентами эмиссий предприятий нефтехимического и органического синтеза. Большинство аренов классифицируются как высокоопасные ксенобиотики, формирующие системные риски для здоровья населения.

В атмосферном воздухе селитебных территорий ароматические углеводороды присутствуют как в виде самостоятельной парогазовой фазы, так и в адсорбированном состоянии на поверхности мелкодисперсных частиц (PM2.5). На долю твердофазной фракции приходится от 83 до 90 % их общего содержания в воздушной среде [Hassanvand M.S. et al., 2015; Låg M. et al., 2020].

Доминирующим путем поступления аренов в организм является ингаляционный. Благодаря трансальвеолярной диффузии пары соединений быстро преодолевают аэрогематический барьер, поступая в системный кровоток и минуя первичный печеночный метаболизм. Высокая липофильность данных соединений также обуславливает значимость перкутанного пути проникновения, в то время как пероральное поступление лимитировано контаминацией объектов водопользования и продуктов питания [Куценко С.А., 2004].

В организме человека ароматические углеводороды подвергаются биотрансформации с участием ферментов системы цитохрома Р450. В результате образуются высокореактивные промежуточные метаболиты, которые запускают каскад патологических процессов. Они способны инициировать окислительный стресс, включая перекисное окисление липидов, ковалентную модификацию белков и образование мутаций в ДНК [Jie X. et al., 2018]. Это нарушает окислительно-восстановительный баланс в клетках, что проявляется в истощении запасов восстановленного глутатиона и подавлении активности ключевых антиоксидантных ферментов. Окислительное повреждение запускает воспалительный ответ, который может способствовать развитию сердечно-сосудистых, респираторных и других заболеваний [Fardel O., 2013; Mittal M. et al., 2014; Øvrevik J. et al., 2015; Holme J.A. et al., 2019].

Высокая биологическая опасность ароматических углеводородов обусловлена их выраженной цитотоксичностью и политропностью действия, проявляющимися при пролонгированной экспозиции даже на уровнях, не превышающих гигиенические нормативы [Онищенко Г.Г. и др., 2001]. Патогенетический каскад реализуется на молекулярно-клеточном и органном уровнях, инициируя развитие системных деструктивных процессов [Бандман А.Л. и др., 1994; Rogers J.M., Denison M.S., 2000].

Фундаментальную роль в механизме токсичности аренов играет арилуглеводородный рецептор (AhR). Его лиганд-зависимая активация и последующая

транслокация в ядро обеспечивают индукцию провоспалительных генов через взаимодействие с ксенобиотик-ответными элементами (XRE) промоторных областей. Дополнительная амплификация воспалительного ответа опосредована модуляцией сигнального пути NF-κB и мобилизацией цитозольного кальция [Vogel C.F., Matsumura F., 2009; Fardel O., 2013; Kim J.B., Pjanic M., 2017].

Канцерогенный потенциал аренов (в частности, диметилбензантрацена) сопряжен с супрессией защитных механизмов – апоптоза и аутофагии. Онкогенная трансформация в данном контексте детерминирована дисбалансом апоптотических регуляторов (гиперэкспрессией Bcl-2 при инактивации каспазы-3) и ингибированием процессов макроаутофагии, верифицированным по снижению уровня белка Beclin-1 [Karabulut A.B. et al., 2014; Hosny S. et al., 2021].

Бензол (C_6H_6) – один из важнейших продуктов химической промышленности, находящий широкое применение в качестве сырья и растворителя. Его масштабное производство и использование обуславливают повсеместное распространение в качестве одного из приоритетных загрязнителей объектов окружающей среды (атмосферного воздуха, воды поверхностных водоемов) [Paustenbach D.J. et al., 1993]. По степени опасности воздействия с атмосферным воздухом на организм человека бензол относится к высокоопасным веществам (2 класс опасности).

Высокая токсичность бензола при хроническом воздействии обусловлена двумя основными факторами: его политропным действием и метаболической активацией в организме с образованием высокореактивных соединений [Онищенко Г.Г. и др., 2001]. В процессе биотрансформации бензол подвергается окислению с участием ферментов цитохрома Р450, что приводит к образованию ряда электрофильных метаболитов, прежде всего фенола, гидрохинона и катехола. Последующие окислительные превращения катехола ведут к формированию семихиноновых радикалов и хинонов. Именно эти соединения играют ключевую роль в генерации АФК, запуская окислительный стресс и вызывая прямые повреждения клеточных макромолекул, включая липиды, белки и ДНК [Spatari G. et al., 2012].

Обладая высокой электрофильностью, метаболиты бензола способны ковалентно связываться с нуклеофильными центрами важнейших белков, таких как гемоглобин, сывороточный альбумин, образуя стабильные аддукты. Это приводит к нарушению структуры и функции белков, что вносит существенный вклад в механизм токсичности бензола. Потенциальные механизмы токсичности бензола были исследованы в следующих направлениях [Subrahmanyam V.V. et al., 1991; Zhang L. et al., 1994, 2002; Smith M.T., 1996; Snyder R., Hedli C.C., 1996; Ross D. et al., 1996; Yoon B.I., 2002; Cho J.Y., 2008]:

– метаболизм бензола в печени (CYP2E1 и т.д.) и транспорт в костный мозг для вторичного метаболизма (MPO, NQO1);

– окислительный стресс, вызванный активными формами кислорода, образующимися при метаболизме ароматических соединений;

– хромосомные изменения, включая транслокации, делеции и анеуплоидии;

– повреждения белков;

– дисфункция иммунной системы (TNF-α, INF-γ, AhR и др.).

Бензол проявляет свойства активного мутагена, вызывая хромосомные нарушения, аналогичные тем, что наблюдаются при терапия-связанных миелодиспластических синдромах и остром миелобластном лейкозе [Pedersen-Bjergaard J. et al., 2008]. Механизм лейкемогенеза, индуцированного бензолом, заключается в его способности инициировать комплексные генетические изменения. К ним относятся специфические хромосомные аберрации, транслокации, анеуплоидия, а также делеции определённых участков хромосом, наиболее характерной из которых является делеция длинного плеча хромосомы 5 [Smith M.T. et al., 1998].

Патогенез негативных эффектов, обусловленных действием бензола, во многом аналогичен эффектам, вызываемым некоторыми химиотерапевтическими агентами, в частности, ингибиторами топоизомеразы II и алкилирующими соединениями, которые известны своей способностью индуцировать сбалансированные транслокации и инверсии. В случае бензола и его метаболитов доказана связь с двумя специфическими типами повреждений: делецией длинного плеча хромосомы 5 [Zhang L. et al., 1998] и транслокациями с участием хромосомы 21 [Ji Z. et al., 2009]. Эти хромосомные аномалии считаются одними из ключевых молекулярных событий в развитии бензол-индуцированной хромосомной токсичности.

Достоверно установлено, что воздействие бензола приводит к развитию лейкемии, в основе которой лежит комплекс взаимосвязанных патологических механизмов. Бензол проявляет свойства гематоксиканта, приводя к дозозависимому снижению уровня лейкоцитов, лимфоцитов и гранулоцитов даже при сравнительно низком уровне экспозиции [Lan Q. et al., 2004]. Показано, что этот эффект может быть связан с подавлением экспрессии ключевых белков PBP и APOB100, что указывает на снижение иммунной реактивности и нарушение липидного обмена [Huang Z. et al., 2012].

Важным звеном токсичности является способность реактивных метаболитов бензола образовывать устойчивые аддукты с белками, в частности, путём ковалентного связывания с боковой цепью цистеина в молекулах гемоглобина и альбумина. Концентрация этих аддуктов коррелируется с уровнем воздействия бензола, что делает их перспективными биомаркерами экспозиции [Rappaport S.M., Yeowell-O'Connell K., 1999].

Модификация белков играет ключевую роль в развитии окислительного стресса, индуцированного бензолом. Поскольку белки являются центральными исполнителями большинства клеточных функций, изменение их структуры в результате окислительной модификации ведет к потере активности, нарушению регуляции и замедлению протеолитической деградации. Накопление таких дисфункциональных белков, в свою очередь, становится причиной клеточного повреждения, нарушения тканевого гомеостаза и формирования патологии [Barreto G. et al., 2009].

Исследование воздействия низких доз бензола на клеточные линии A549 (аденокарцинома лёгкого человека) и LL24 (нормальные фибробласты лёгкого

человека) *in vitro* показало, что клетки LL24 обладают меньшей устойчивостью к воздействию бензола по сравнению с клетками A549. Это выражается в стимуляции пролиферативной активности фибробластов в присутствии разбавленных растворов бензола. Кроме того, в клетках LL24 низкие концентрации бензола индуцировали повышение активности теломеразы, тогда как в клеточной линии A549 аналогичного эффекта не зафиксировано [Giuliano M. et al., 2009].

В мононуклеарных клетках периферической крови человека идентифицированы четыре гена (*CXCL16, ZNF331, JUN* и *PF4*), экспрессия которых изменяется в ответ на повышенное, но не превышающее нормативов, воздействие бензола [Forrest M.S. et al., 2005]. Более поздние исследования расширили данный перечень, показав, что воздействие бензола значительно влияет на экспрессию по меньшей мере двадцати генов, вовлечённых в ключевые биологические процессы: апоптоз, иммунный и воспалительный ответы, реакция на стресс, сборки хроматина [McHale C.M. et al., 2009].

Показано, что метаболиты бензола играют большую роль в повреждении ДНК, однако это не единственная мишень их воздействия. Они могут воздействовать на белки, участвующие в поддержании целостности и стабильности генома. Наиболее изученным примером такого воздействия служит ингибирование топоизомеразы II, приводящее к двунитевым разрывам ДНК. Показано, что в присутствии человеческой миелопероксидазы и воды гидрохинон (метаболит бензола) активируется и выступает в качестве мощного ингибитора этого фермента [Eastmond D.A. et al., 2005; Hartwig A., 2010]. Другими механизмами, потенциально способствующими канцерогенности бензола, являются гиперэкспрессия определённых факторов транскрипции, активация онкогенов и нарушение внутриклеточной сигнализации [Ross D., 2005; Atkinson T.J., 2009].

Толуол (метилбензол, $C_6H_5CH_3$) – ближайший гомолог бензола и один из наиболее распространённых растворителей, используемых во многих процессах и продуктах в промышленности и в быту. Он входит в состав красок и эмалей, клеев, лаков, покрытий, чистящих средств и других химических веществ; применяется в производстве пластмасс, резин, синтетических волокон [Aylward L.L. et al., 2008].

Толуол менее токсичен, чем бензол. По степени воздействия с атмосферным воздухом на организм человека толуол относится к умеренно опасным веществам (3 класс опасности). Не является канцерогеном для человека. В то же время для него достоверно установлены нейротоксические и репродуктивные эффекты, а его потенциальная генотоксичность является предметом дискуссии.

Исследования *in vitro* показывают, что толуол способен индуцировать образование микроядер в лимфобластоидных клетках человека. В клеточных линиях MCL-5, стабильно экспрессирующих ключевые ферменты метаболизма ксенобиотиков (*CYP1A2, CYP2A6, CYP3A4, CYP2E1* и эпоксидгидролазу), и в клетках h2E1, экспрессирующих *CYP2E1*, толуол вызывал образование микроядер. В другом эксперименте с лимфобластами человека AHH-1, экспрессиру-

ющими белок *CYP1A1*, воздействие толуола приводило к небольшому увеличению частоты встречаемости микроядер [IARC, 1999].

Воздействие толуола на клеточные линии промиелоцитарного лейкоза человека HL-60, миелолейкоза K562 и лейкемической моноцитарной лимфомы U937 индуцирует экспрессию генов *HMOX1* (кодирующий гемоксигеназу-1) и Noxa (кодирующий PMA-индуцируемый белок 1) [Sarma S.N. et al., 2011]. Индукция гена *HMOX1* является клеточным ответом на окислительный стресс и способствует ослаблению окислительных повреждений клетки, подавляя апоптоз [Otterbein L.E. et al., 2003]. Ген Noxa, напротив, принимает участие в гипоксия-индуцированном апоптозе. Белок данного гена относится к проапоптическим факторам и функционирует как медиатор апоптоза, взаимодействуя с другими белками семейства *Bcl-2* (такими как Bax или Bak). Это взаимодействие способствует изменению проницаемости митохондриальной мембраны и запуску программы клеточной гибели [Zong W.X. et al., 2001].

Наиболее чувствительными к воздействию толуола являются гены, относящиеся к интерферонам (*IFIT1, IFIT2* и *IFIT3*). Установлено, что *IFIT1* и *IFIT2* широко используются в качестве маркеров активации сигнального пути *JAK/STAT*, инициируя иммунный ответ [Terenzi F. et al., 2006].

Исследование воздействия толуола на линию почечных эпителиальных клеток LLC-PK1 выявило активацию митохондриального пути апоптоза. Это проявляется в увеличении активности каспазы-9, повышении уровня проапоптического белка Bax и снижении уровня антиапоптического белка *Bcl-2*. [Al-Ghamdi S.S. et al., 2004]. Установлено, что толуол-индуцированный апоптоз клеток LLC-PK1 сопровождается активацией изофермента *CYP2E1* и окислительным стрессом, что проявляется в повышении перекисного окисления липидов [Al-Ghamdi S.S. et al., 2003, 2004].

Ксилолы ($(CH_3)_2C_6H_4$) – общее название для трёх изомеров диметилбензола (орто-, мета- и пара-ксилола), в гомологическом ряду расположенных после толуола. Эти соединения являются продуктами переработки угля и нефти, широко используются в качестве растворителя и входят в состав автомобильного топлива. Они относятся к умеренно опасным веществам (3 класс опасности), обладают нейротоксической и репротоксической активностью и не классифицируются в качестве канцерогенов для человека [IARC Working, 1999].

Исследование воздействия орто-ксилола на клетки промиелоцитарного лейкоза человека HL-60 выявило значительные изменения в экспрессии широкого спектра генов, участвующих в следующих клеточных процессах [Sarma S.N. et al., 2010]:

– иммунный ответ (*IFIT1, IFIT2, IFIT3, IL8, IFNGR2, USP18, CXCR4, NCF2*);

– регуляция апоптоза (*BCL2A1, BIRC3, PMAIP1, FILIP1L, GADD45A, NFKBIA, TNFAIP3*);

– регуляция транскрипции (*RELB, EGR3, NFAT5, NFIB, XBP1*);

– контроль клеточного цикла (*BCL6, SESN2, BTG1, DNAJB9, MAD, MAP3K8, PRNP, NEDD9, PTGER2*);

– транспорт и метаболизм (*STX11, SLC38A2, CYP1B1*).

Краткосрочное воздействие пара-ксилола вызывает повреждение клеток почечных канальцев, что сопровождается усилением окислительного стресса и повышением активности изофермента цитохрома Р450. Наблюдаемый в этих условиях некроз, а не апоптоз, указывает на достижение летального уровня окислительного стресса, вызванного метаболизмом пара-ксилола [Al-Ghamdi S.S. et al., 2003].

Исследования показали, что воздействие м-ксилола на клетки аденокарциномы лёгких (А549) в концентрациях, характерных для закрытых помещений, приводит к увеличению выработки белка *MCP-1*. При более высоких концентрациях наблюдается усиление секреции *IL-8*. При этом мета-ксилол не проявлял цитотоксичности и не влиял на пролиферацию клеток, что свидетельствует об отсутствии прямого воздействия на их жизнеспособность. Однако при высоких уровнях воздействия функциональная активность клеток меняется. Вместе с ростом секреции *IL-8* происходит снижение секреции *MCP-1* и *IL-6*. Подавление продукции цитокинов отражает субтоксическое воздействие высоких концентраций м-ксилола. Несмотря на то, что наблюдаемая индукция *MCP-1* и *IL-8* умеренная (не превышала 1,4-кратного значения), выявленный эффект отличался стабильностью и воспроизводимостью. Это свидетельствует о специфическом иммуномодулирующем влиянии м-ксилола на клетки респираторного эпителия [Fischäder G. et al., 2008].

Гиперэкспрессия генов клеточного стресса представляет собой универсальный плейотропный ответ на различные повреждающие действия, что вызывает интерес в использовании стрессовых белков данных генов в качестве биомаркеров. Так, воздействие ксилола на клетки аденокарциномы лёгких человека (линия А549) тормозит рост клеток. Установлено, что ксилол ингибирует пролиферацию этих клеток. При этом наблюдается прямая корреляция между степенью подавления роста и уровнем белка теплового шока *GRP78*. Показано, что гиперэкспрессия данного белка отмечалась только при дозах ксилола, вызывающих замедление роста клеток более чем на 40 %. Аналогичные результаты получены на клеточной линии гепатоцитов HepG2 и культуре нормальных фибробластов [Croute F. et al., 2002].

Стирол (C_8H_8, винилбензол, этенилбензол) – высокоопасное вещество (II класс опасности), отличающееся от ближайших гомологов бензола (толуола и ксилолов) наличием непредельной боковой цепи, что обуславливает его высокую реакционную способность. Стирол является важным химическим продуктом, широко используемым в производстве полистирола, а также в синтезе синтетических каучуков, смол, различных видов пластмасс. В связи с масштабным промышленным применением существует реальная возможность поступления стирола в атмосферный воздух преимущественно в составе выбросов предприятий органического синтеза, нефтехимического производства, по переработке углеводородного сырья, изготовлению полимерных материалов (полистирол, композитные смолы) и др. По степени воздействия на организм с атмосферным воздухом стирол относится к высокоопасным веществам (3 класс опасности), что создает потенциальные риски для здоровья населения.

Основным путём поступления стирола является ингаляционный, однако его метаболические превращения происходят преимущественно в печени. Метаболизм стирола инициируется монооксигеназами системы цитохрома Р450, которые катализируют окисление его молекулы до стирол-7,8-оксида. Образующиеся в процессе электрофильные промежуточные продукты метаболизма способны образовывать ковалентные аддукты с белками, такими как альбумин и глобулин [Yeowell-O'Connell K. et al., 1996]. Считается, что эти интермедиаты ответственны за генотоксические эффекты стирола [Nakajima T. et al., 1994]. Дальнейший метаболизм протекает двумя путями [Sumner S.J., Fennell T.R., 1994]:

– основной путь – с участием микросомальной эпоксидгидролазы, алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы;

– второстепенный путь – при участии глутатион-S-трансферазы, γ-глутамилтранспептидазы, глицинилцистеиназы и N-ацетилтрансферазы.

Биомониторинговые исследования генотоксического риска воздействия стирола показывают, что индивидуальная восприимчивость к нему может модулироваться полиморфизмом генов, кодирующих ферменты метаболизма ксенобиотиков, или репарацией ДНК. К числу таких генов относятся [Rueff J. et al., 2009]:

– гены метаболизма: *CYP1A1, CYP2E1, CYP2C, CYP2D6* (цитохромы Р450), *EPHX1* (микросомальная эпоксидгидролаза), *GSTM1, GSTM3, GSTP1, GSTT1* (глутатион S-трансферазы), *NAT1, NAT2* (N-ацетилтрансферазы), *NQO1* (NAD(P)H хинон оксидоредуктазы);

– гены репарации ДНК: *ERCC1* (эксцезионной репарации 1), *ERCC2/XPD* (фермент эксцезионной репарации 2), *XRCC1* и *XRCC3* (репарация одно- и двухнитевых разрывов).

В серии экспериментов продемонстрировано, что рекомбинантные клеточные линии с гиперэкспрессией генов *GSTM1* (глутатион-S-трансфераза М1) или *mEH* (микросомальная эпоксидгидролаза) обладают повышенной устойчивостью к генотоксическому действию стирол-7,8-оксида. Значительная разница в частоте индуцированных мутаций между клетками с дефицитом и избытком этих ферментов указывает на то, что как *mEH*, так и *GSTM1* способны эффективно нейтрализовать стирол-7,8-оксид *in vitro* [Alison J., 2004]. При этом отмечается лишь незначительное различие в цитотоксичности стирол-7,8-оксида между *GSTM1*-дефицитными и *GSTM1*-экспрессирующими клеточными линиями [Shield A.J., Sanderson B.J., 2001]. Мониторинг экспрессии ключевых регуляторных белков *p53*, *p21*, *Bcl-2* и *Bax* после воздействия стирол-7,8-оксида показал, что его высокая концентрация индуцирует задержку клеточного цикла. Предполагается, что эта задержка позволяет активировать системы репарации ДНК для устранения повреждений [Laffon B. et al., 2001]. Результаты лабораторных исследований *in vitro* показали, что провоспалительные эффекты стирола связаны с изменением профиля иммуномодулирующих цитокинов [Fischäder G. et al., 2008].

Бенз(а)пирен (B[a]P, $C_{20}H_{12}$) – высокомолекулярный полициклический ароматический углеводород, обладающий выраженной цитотоксичностью,

мутагенностью и канцерогенностью [Вредные вещества, 1976]. По степени воздействия на организм с атмосферным воздухом бенз(а)пирен относится к чрезвычайно опасным веществам (I класс опасности). При ингаляционном поступлении он подвергается метаболической активации в печени, в ходе которой образуются высокореакционные производные, в частности, дигидроэпоксид [Badger G.M., 1962]. Метаболизм бенз(а)пирена протекает при участии ферментов цитохрома Р450, преимущественно *CYP1A1* и микросомальной эпоксидгидролазы. На первом этапе происходит его окисление с образованием промежуточных метаболитов, среди которых ключевым является B[a]P-7,8-эпоксид. Далее он гидролизируется до B[a]P-7,8-дигидродиола, который при последующем окислении превращается в конечный канцероген – бензо(а)пирен-диол-эпоксид (BPDE) [Chung J.Y., 2007; Barnes J.L. et al., 2018]. Именно он способен формировать стабильные аддукты с ДНК, что приводит к мутациям и может инициировать злокачественную трансформацию клетки – канцерогенез [Шабад Л.М., 1973; Bukowska B., 2015; Barnes J.L. et al., 2018].

Канцерогенный потенциал бенз(а)пирена реализуется через его метаболическую активацию, важную роль в которой играет арилуглеводородный рецептор (*AhR*). Бенз(а)пирен, выступая лигандом для цитозольного *AhR*, индуцирует его транслокацию в ядро [Fujisawa-Sehara A. et al., 1988]. В ядре *AhR* формирует гетеродимер с ядерным транслокатором арильных углеводородов (*ARNT*). Этот комплекс связывается со специфическими арилуглеводородными ответными элементами, что приводит к активации транскрипции генов цитохрома Р450. Полученные ферменты метаболизируют бенз(а)пирен до высокореактивных диолэпоксидов, способных образовывать аддукты с ДНК, что и обуславливает его канцерогенные свойства [Schmidt J.V., Bradfield C.A., 2012].

Помимо прямого повреждения ДНК, бенз(а)пирен индуцирует окислительный стресс, нарушает клеточную пролиферацию и вмешивается в ключевые сигнальные пути. Совокупное воздействие на геном и сигнальные каскады приводит к глубоким изменениям в профиле экспрессии генов, последствия которых могут быть проанализированы на уровне белков [Verma N. et al., 2012]. Многочисленные исследования показывают, что бенз(а)пирен вызывает значительные нарушения окислительно-восстановительного баланса, приводя к развитию окислительного стресса. Это проявляется в подавлении ключевых антиоксидантных ферментов – каталазы (*CAT*), глутатионпероксидазы (*GSH-Px*), супероксиддисмутазы (*SOD*), глутатион-S-трансферазы (*GST*) и глутатионредуктазы (*GR*), а также в снижении уровня неферментативных антиоксидантов (глутатиона, витамина С и витамина Е). Одновременно бенз(а)пирен индуцирует перекисное окисление липидов, карбонилирование белков, повышает экспрессию *CYP1A1* и провоспалительных цитокинов [Lin S. et al., 2018; González A. et al., 2020; Lin Y.C. et al., 2020; Aparna S., Patri M., 2021; Bukowska B., Duchnowicz P., 2022].

Воздействие бенз(а)пиреном вызывает комплексные изменения в клетке, включая ремоделирование цитоскелета, активацию протеолитических систем и нарушения в сигнальном каскаде *Ran/Raf*. Исследование показывает, что

воздействие бенз(а)пиреном вызывает окислительный стресс и дисрегуляцию клеточного цикла, что приводит к запуску апоптоза [Verma N. et al., 2012].

Наряду с индукцией первичных повреждений ДНК, бенз(а)пирен нарушает процессы её эксцизионной и мисматч-репарации. Показано, что бенз(а)пирен и его метаболиты вызывают транскрипционную репрессию генов систем репарации (*MSH2, MSH6* и *EXO1*). Это связано с необратимой остановкой клеточного цикла, вызванной *p53/p21*, что означает начало старения клетки. Устойчивое снижение уровня репарации ДНК может способствовать поддержанию фенотипа старения, связанного с накоплением невосстановимых окислительных повреждений ДНК [Allmann S. et al., 2020]. Кроме этого, несколько исследований подтверждают дозозависимые дифференциальные ответы на применяемые концентрации бенз(а)пирена. Это опосредовано сложными изменениями в сигнальных путях, включая посттранскрипционные, посттрансляционные и эпигенетические механизмы [Wang H. et al., 2020].

Перспективным направлением современной токсикологии является поиск соединений, способных нивелировать цитотоксические эффекты бенз(а)пирена. Экспериментальные данные подтверждают эффективность ряда природных нутрицевтиков, включая флавоноиды (ресвератрол, кверцетин, изорамнетин, пиноцембрин), растительные экстракты (расторопша пятнистая, силимарин) и органические кислоты (феруловая кислота), что обосновывает потенциал их применения в качестве средств патогенетической профилактики [Alzahrani A.M., Rajendran P., 2021].

Токсичность рассматриваемых ароматических соединений детерминирована их метаболической активацией – процессом биотрансформации инертных исходных молекул в высокореактивные интермедиаты. Данные реакции катализируются полиферментной системой цитохрома Р450 (CYP), где ключевая роль принадлежит изоформам *CYP2E1*, *CYP1A1* и *CYP1A2*. На первом этапе под действием CYP-зависимых монооксигеназ происходит гидроксилирование ароматического ядра с образованием лабильных ареноксидов (эпоксидов), а также промежуточных метаболитов – гидрохинона и катехола. В ходе последующего окисления они трансформируются в семихиноны и хиноны – соединения с экстремально высокой электрофильной активностью. Формирующиеся реактивные метаболиты выступают инициаторами токсического каскада, реализуя повреждающее действие через специфические молекулярные пути.

Реализация токсического потенциала рассматриваемых соединений осуществляется через следующие патогенетические механизмы (рис. 2.2):

– инициация оксидативного стресса – прямая генерация активных форм кислорода (АФК) или запуск каскадных реакций их продукции, приводящие к истощению антиоксидантных ресурсов клетки;

– окислительная деструкция биомолекул – повреждение липидного бислоя (интенсификация ПОЛ), белков (карбонилирование и инактивация функциональных групп) и генетического аппарата (окислительная модификация азотистых оснований, детерминирующая мутагенез и нарушение репликации ДНК);

– формирование белковых аддуктов – ковалентное связывание метаболитов с клеточными белками, приводящее к конформационным изменениям, утрате структурной целостности и специфической функциональной активности макромолекул.

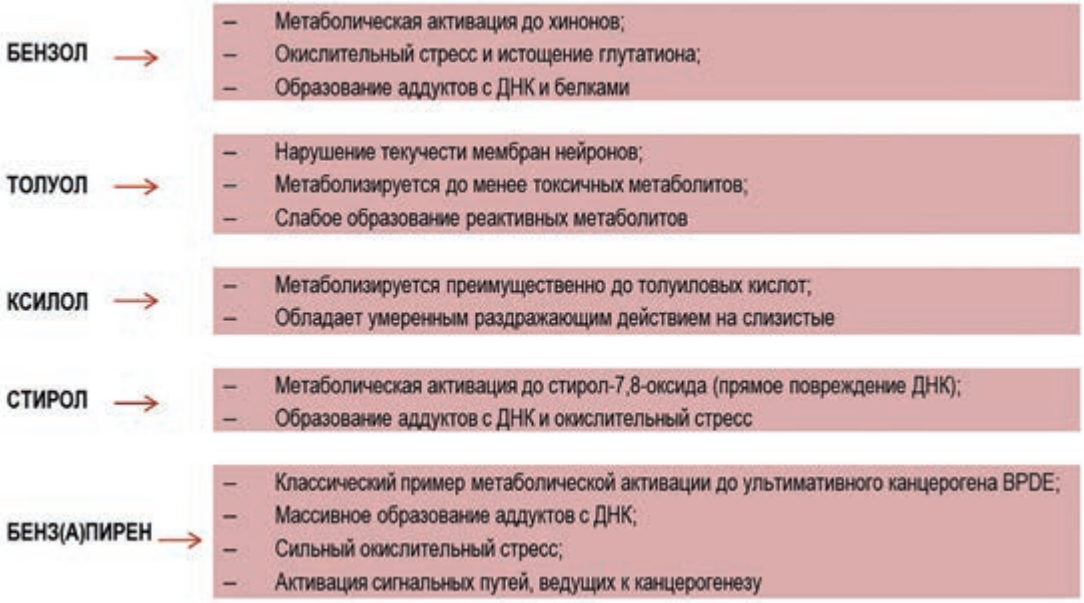


Рис. 2.2. Основные молекулярные механизмы токсичности ароматических углеводородов (обобщение данных литературы)

Ароматические углеводороды (АУ) – широко распространенные ксенобиотики с высоким токсическим потенциалом, представляющие серьезную угрозу для здоровья человека. Несмотря на структурное родство, представители данного класса соединений демонстрируют специфичность токсических эффектов. Тем не менее можно выделить универсальные механизмы их цитотоксичности:

– ферментативная биоактивация: процесс катализируется изоферментами системы цитохрома Р450 (преимущественно *CYP2E1, CYP1A1, CYP1A2*);

– образование реакционноспособных интермедиатов: в ходе метаболизма формируются электрофильные соединения, способные к образованию ковалентных аддуктов с макромолекулами (ДНК и белками), что обуславливает мутагенный и канцерогенный эффекты;

– индукция окислительного стресса: генерация активных форм кислорода (АФК) и истощение пула эндогенных антиоксидантов, приводящие к окислительной модификации липидов (ПОЛ), белков и нуклеиновых кислот;

– дерегуляция ключевых клеточных процессов: нарушение сигнальных путей, повреждение митохондриального аппарата и запуск механизмов программируемой клеточной гибели (апоптоза).

В настоящее время сохраняется выраженный дефицит аналитических инструментов для количественного прогнозирования каскадных негативных эффектов на различных иерархических уровнях организации биосистем. Особую неопределенность вызывают протеомные трансформации, инициируемые сочетанным воздействием многокомпонентных химических смесей. Отсутствие универсальных биомаркерных панелей и четко верифицированных пороговых концентраций химических контаминантов в биосредах существенно ограничивает возможности ранней (донозологической) диагностики и объективизации риск-ассоциированной патологии.

2.3. Неорганические фторсодержащие соединения: специфика нарушения белкового обмена

Неорганические фторсодержащие соединения (фториды) – это химические соединения фтора с другими элементами. Фтор в таких соединениях обычно имеет степень окисления −1 и образует либо полярные ковалентные, либо ионные связи. К фторидам относят как бинарные соединения (ионные и ковалентные фториды), так и сложные неорганические соединения – фторангидриды кислот, комплексные фториды, гидрофториды металлов, фторированный графит.

Фтор (F) – один из самых распространенных в природе элементов, присутствующих в окружающей среде в виде неорганических и органических соединений – фторидов. Они широко распространены в природе и являются загрязнителями промышленного происхождения. По составу выделяют фториды металлов (например, NaF, MgF_2, AlF_3), фториды неметаллов (например, OF_2, SF_6), комплексные фториды (например, $KF_2 \cdot 3HF$), гидрофториды (например, NH_4HF_2). По степени воздействия на организм большая часть неорганических соединений фтора относится к высокоопасным веществам (2 класс опасности).

Известно, что в низких концентрациях фтор является эссенциальным микроэлементом, необходимым для нормального роста и развития организма. Он оказывает регулирующее действие не только на клетки костной ткани (остеобласты и остеокласты), но и на клетки эндотелия, печени, почек, миокарда и нервной системы [Kirk K.L., 1991; Dhar V., Bhatnagar M., 2009; Barbier O. et al., 2010].

При внешнесредовом избыточном поступлении в организм человека соединения фтора проявляют токсичные свойства. Токсичность фтора напрямую связана с его высокой химической и биологической активностью. Исследования с применением радиоактивного фтора показали, что его распределение в организме зависит от градиента pH и на 10-50 % ниже, чем в плазме крови. Равновесные концентрации фтора достигаются быстрее между плазмой и хорошо снабжаемыми кровью органами, такими как сердце, легкие и печень. Поскольку фтор не подвергается метаболическим превращениям, он может либо

накапливаться, либо выводиться из организма. При этом фтор максимально аккумулируется в почках, что делает их основной мишенью при хроническом воздействии [Buzalaf M.A.R., Whitford G.M., 2011].

Показано, что влияние фтора на физиологические функции организма и клеточный метаболизм зависит от типа клеток, концентрации и продолжительности действия [Barbier O. et al., 2010]. Например, его двойственность проявляется в костной и зубной тканях, где фтор в микромолярных концентрациях вызывает пролиферацию и рост клеток. Однако его миллимолярные концентрации ингибируют пролиферацию и индуцируют клеточный апоптоз [Everett E.T., 2011; Zhang Y.L. et al., 2015; Oka S. et al., 2020]. Ионы фтора способны увеличивать выработку супероксидных анион-радикалов в митохондриях остеобластов, одновременно подавляя использование ими кислорода. Увеличение продукции активных форм кислорода происходит в условиях снижения активности антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы, резко снижающих их активность при фторидной интоксикации. Это приводит к накоплению свободных радикалов и последующему повреждению клеток [Gutiérrez-Salinas J. et al., 2013].

Длительное воздействие соединений фтора является одним из факторов риска развития кардиометаболических нарушений, включая артериальную гипертензию, нарушение липидного обмена и повышение содержания холестерина и ЛПВП в сыворотке крови [Umarani V. et al., 2015]. Кроме этого, при длительной экспозиции соединения фтора приводят к изменению концентрации в крови гормонов, регулирующих функцию щитовидной железы (ТТГ, Т3 и Т4 свободного). При этом динамика уровня этих гормонов носит сложный характер и зависит от продолжительности действия. Так как гормоны щитовидной железы регулируют окислительно-восстановительные процессы и основной обмен, их дисбаланс приводит к нарушению энергетического метаболизма. Следовательно, при длительной экспозиции фторсодержащими неорганическими соединениями происходят разнонаправленные изменения содержания в крови важных адаптивных гормонов, что вносит существенный вклад в развитие системных патологических сдвигов [Wang H. et al., 2009].

Экспериментальные данные свидетельствуют о значительном повышении уровня инсулина в сыворотке и общем снижении уровня глюкагона при воздействии фтора. Гистологические исследования показали повышенную инсулин-позитивную область и увеличение размера островков Лангерганса в поджелудочной железе у крыс, получавших фторид в течение 1 года. Фтор *in vitro* способствовал усилению экспрессии мРНК рецепторов инсулина [Hu C.Y. et al., 2012].

Поддержание окислительно-восстановительного гомеостаза важно для нормальной жизнедеятельности клеток. Его нарушение сопровождается повышением уровня активных форм кислорода, что вызывает повреждение липидов, ДНК и белков. Фтор проявляет прооксидантные свойства, поэтому под его действием увеличивается выработка АФК. Окислительный стресс является одним из ключевых механизмов цитотоксичности фтора, который был

подтверждён на различных экспериментальных моделях. Его соединения подавляют активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы. Нарушение баланса про- и антиоксидантов приводит к активации свободнорадикальных процессов, что в итоге вызывает повреждение мембранных структур клеток [Shivarajashankara Y.M. et al., 2003; Гаврилюк Л.А. и др., 2007; Hassan H.A. et al., 2009; Bharti V.K. et al., 2014].

Среди важнейших механизмов действия неорганических соединений фтора на клетку выделяют влияние на процессы транскрипции и трансляции. Считалось, что фтор тормозит эти процессы. Однако современные исследования показали активацию транскрипции и трансляции в различных тканях при его воздействии. Это позволяет рассматривать соединения фтора в качестве модуляторов транскрипционной активности [Salgado-Bustamante M. et al., 2010]. Идентифицировано 183 гена, экспрессия которых изменяется при действии фтора. Также значительно повышается экспрессия белков цитохрома С и каспазы-3, связанных с апоптозом. Активируются гены передачи сигнала, окислительного стресса, апоптоза и факторы транскрипции *p53* и *NF-kB*, тогда как экспрессия генов гликолиза, окислительного фосфорилирования, клеточного цикла и других снижается [Sun Z. et al., 2011].

Неорганические соединения фтора также участвуют в регуляции процессов трансляции. Обнаружен синтез 21 белка в сердце, 28 – в остеобластах и 13 – в почках. Значительная часть этих белков задействована в регуляции окислительного метаболизма и механизмов апоптоза. Показано повышение уровня теломеразы, обратной транскриптазы, дисульфидизомеразы (участвующей в фолдинге белков) и митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) [Lu J. et al., 2009]. Кроме того, сообщалось об увеличении уровня белковых факторов, регулирующих процессы выживания и гибели клеток [Zhan X.A. et al., 2006].

При субхроническом воздействии фтора на организм показано повышение уровня *HIF-1α* и белков семейства *HSP* в тканях сердца, печени и лёгких. Повышение их уровня на ранних стадиях воздействия фтора сопровождается адаптивной перестройкой обмена веществ в тканях. В сердце и легких повышается активность ферментов, обеспечивающих работу цикла Кребса (АСАТ), липидного (ЛДГ-1-2) и белкового (γ-ГТ) обменов. В печени активируется фермент глюкозо-аланинового цикла (АЛАТ) [Жукова А.Г. и др., 2011; Михайлова Н.Н. и др., 2012].

Показано, что ионы фтора изменяют гомеостаз кальция в клетках, выступая в роли его регулятора. Воздействие фтора снижает транспорт кальция по эндоплазматическому ретикулуму и через плазматическую мембрану в клетках почек и в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов [Ono K., Arita M., 1999]. В клетках нервной системы фтор ингибирует фермент фосфолипазу С, подавляя образование вторичного мессенджера диацилглицерина и блокирует поступление кальция в клетку. Однако в эритроцитах, остеобластах, проксимальных канальцах, фибробластах и эндотелиальных клетках показано, что

фторидная интоксикация, напротив, увеличивает концентрацию кальция [Agalakova N.I., Gusev G.P., 2011].

Соединения фтора нарушают функции митохондрий, вызывая падение трансмембранного потенциала и образование гигантской поры в их наружной мембране [Waugh D.T., 2019; Aulestia F.J. et al., 2020]. Следствием этого является набухание митохондриального матрикса, разрыв наружной мембраны и выход цитохрома С из межмембранного пространства. Его потеря приводит к угнетению дыхательной цепи, что подавляет синтез АТФ и усиливает генерацию активных форм кислорода. Кроме того, нарушение барьерных свойств митохондриальной мембраны под влиянием ионов фтора приводит к индукции апоптоза [Suzuki M., 2015].

Неорганические соединения фтора оказывают влияние на систему вторичных мессенджеров – циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и гуанозинмонофосфата (цГМФ). Изменение их уровня регулирует степень фосфорилирования соответствующих белков, что определяет активность и направленность метаболических процессов. Увеличение этих нуклеотидов было показано в тканях сердца, печени, почек и надпочечников. При этом внутриклеточное содержание цАМФ в исследованных органах было повышено в результате повышения активности фермента аденилатциклазы, катализирующего его синтез. Кроме того, при интоксикации фтором изменяется соотношение цАМФ/цГМФ за счет значительного избытка цАМФ. Это приводит к нарушениям регуляции биологических функций, включая сбои в клеточной сигнализации и транспорте [Gutiérrez-Salinas J. et al., 2010].

Современные исследования подтверждают роль соединений фтора в индукции запрограммированной гибели клеток. Высокие концентрации фтора вызывают некроз гепатоцитов, тимоцитов, эритроцитов, лейкоцитов и др. Одновременно фтор является индуктором апоптоза в лейкоцитах, фибробластах, альвеолоцитах и эпителиальных клетках легких [Karube H. et al., 2009; Gutiérrez-Salinas J. et al., 2010]. Механизмы фторид-индуцированного апоптоза включают [Refsnes M. et al., 2003; Matsui H. et al., 2007; Lee J.H. et al., 2008; Karube H. et al., 2009; Wang H. et al., 2009; Gutiérrez-Salinas J. et al., 2010; Zuo H. et al., 2018]:

– повышение уровня АФК и активацию свободнорадикального окисления;

– повреждение митохондрий и активацию митохондриального пути запуска апоптоза;

– увеличение внутриклеточного уровня кальция и количества клеток, экспрессирующих маркер апоптоза – аннексин V;

– активацию каскада каспаз (3, 8 и 9), изменение активности внутриклеточных сигнальных путей.

Соединения фтора влияют на липидный состав, изменяя уровень фосфолипидов в мембранах различных органов и сыворотке крови. Интоксикация фтором сопровождается нарушением количественного соотношения насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот. В липидах эритроцитов и ге-

патоцитов преобладает повышенное содержание миристиновой, олеиновой и линолевой кислот при значительном снижении уровня арахидоновой кислоты [Wang H. et al., 2009]. Изменение уровня мембранных фосфолипидов, насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот свидетельствует о нарушении структуры клеточных мембран. Эти сдвиги увеличивают жесткость мембраны, изменяют липидно-белковые взаимодействия, что приводит к нарушению функционирования транспортных и клеточных ферментных систем. В настоящее время известно около 80 белков, активность которых изменяется при воздействии ионов фтора. Почти все эти белки участвуют в основных метаболических процессах в организме, что подтверждает системный характер нарушений, вызванных интоксикацией фтором [Ridley W., Matsuoka M., 2009; Johnston N.R., Strobel S.A., 2020].

Обобщение механизма токсического действия фтора, независимо от пути поступления и/или условий воздействия, в схематическом представлении изображено на рисунке 2.3.

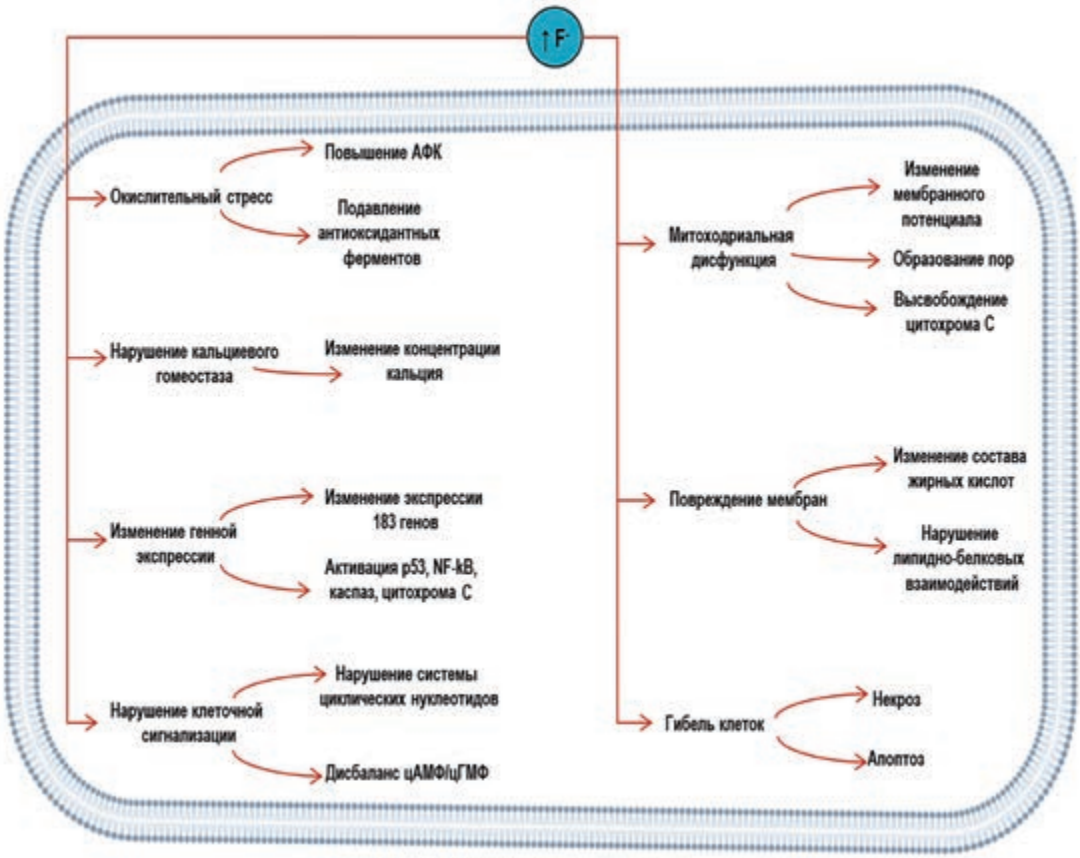


Рис. 2.3. Основные клеточно-молекулярные механизмы токсичности ионов фтора (обобщение данных литературы)

Токсическое действие фтора на клеточном уровне реализуется через цепочку взаимосвязанных нарушений, затрагивающих ключевые биологические процессы. Механизм можно разделить на несколько ключевых этапов:

• инициация окислительного стресса

– фтор вызывает повышение уровня активных форм кислорода (АФК),

– подавляет активность антиоксидантных ферментов, снижая защиту клеток от окислительного повреждения;

• нарушение кальциевого гомеостаза

– изменяется концентрация кальция в клетке,

– дисбаланс кальция запускает каскад патологических реакций, влияющих на ферментативную активность и стабильность клеточных структур;

• изменение генной экспрессии

– фтор влияет на экспрессию более 183 генов, регулирующих жизненно важные процессы,

– активируются ключевые факторы транскрипции (p53, NF-kB), связанные с клеточным стрессом и апоптозом,

– активируются каспазы и высвобождается цитохром С – маркеры программируемой клеточной гибели;

• нарушение клеточной сигнализации

– повреждается система циклических нуклеотидов (цАМФ/цГМФ), регулирующая множество клеточных процессов,

– нарушается передача сигналов внутри клетки, что приводит к сбоям в метаболизме и ответе на стресс;

• повреждение клеточных мембран и митохондрий:

– повреждаются мембраны клеток и органелл (в том числе митохондрий) за счёт изменения состава жирных кислот, нарушения липидно-белковых взаимодействий,

– развивается митохондриальная дисфункция, включающая нарушение мембранного потенциала митохондрий, образуются поры в мембране митохондрий, происходит высвобождение цитохрома С, запускающего апоптоз.

Совокупность нарушений приводит к двум основным путям клеточной смерти: апоптозу, запускаемому через активацию каспаз и высвобождение цитохрома С, и некрозу, возникающему при критическом повреждении мембран и нарушении внутриклеточного гомеостаза.

Таким образом, токсичность ионов фтора детерминирована их способностью инициировать мультитаргетный цитотоксический каскад: от нарушения кальциевого гомеостаза и угнетения антиоксидантной защиты до модуляции генной экспрессии и дестабилизации клеточных мембран. Совокупность данных нарушений провоцирует развитие митохондриальной дисфункции и выраженного окислительного стресса, реализующихся в гибели клеток по путям апоптоза или некроза. Подобный комплексный механизм объясняет высокую повреждающую способность неорганических соединений фтора при превышении гигиенических нормативов.

2.4. Комбинированное воздействие химических веществ на протеомный профиль

Оценка комбинированного действия многокомпонентных химических смесей остается одной из фундаментальных проблем современной гигиены и токсикологии. В условиях реальной антропогенной нагрузки организм человека подвергается сочетанному воздействию широкого спектра ксенобиотиков, поступающих из атмосферного воздуха, питьевой воды и пищевых продуктов. Такое мультифакторное воздействие зачастую инициирует синергические эффекты, качественно и количественно превосходящие изолированное действие отдельных компонентов. В связи с этим изучение закономерностей совместного действия веществ и характеристика их комбинированной токсичности составляют основу методологии оценки рисков для здоровья населения [Meek M.E. et al., 2011; WHO, 2017, 2021].

Интеграция современных геномных (транскриптомных) и протеомных технологий в сочетании с биоинформационными методами анализа стала ключевым инструментом расшифровки молекулярных механизмов токсичности. Преимущество данных подходов заключается в возможности детекции ранних изменений экспрессии генов и модификаций протеомного профиля, что позволяет верифицировать негативные эффекты на донозологическом этапе формирования патологии [Anderson N.L., Anderson N.G., 2002; Corzett T.H. et al., 2010; Зайцева Н.В. и др., 2020].

Для анализа «омиксных» данных используются:

– транскриптомные методы (микрочипы, RNA-seq), позволяющие оценить изменение экспрессии тысяч генов одновременно;

– протеомические методы (масс-спектрометрия, 2D-электрофорез), которые выявляют изменения в синтезе и модификации белков;

– метаболомные подходы, дополняющие картину, анализируя изменения в низкомолекулярных метаболитах;

– цифровые аналитические платформы для интеграции и анализа многомерных данных (биоинформатические алгоритмы, машинное обучение и нейросети для выявления токсикологических паттернов, визуализация данных – тепловые карты, сетевые модели взаимодействий).

Несмотря на потенциал «омиксных» технологий, их применение для оценки действия смесей химических веществ сталкивается с рядом сложностей. Вариабельность протеомного профиля в результате существующих нелинейных взаимодействий между компонентами смеси, синергетических или антагонистических эффектов на уровне белковых сетей, индивидуальных различий в ответе организма при комбинированном воздействии изучена недостаточно. Отсутствие унифицированных подходов к интеграции данных разных «омик» (геномных, протеомных, метаболомных), статистической обработке многомерных наборов данных затрудняет объективную интерпретацию полученных изменений с точки зрения токсичности. Существуют определенные методологические сложности моделирования аддитивных и неаддитивных эффектов при комбинированном воздействии.

Внедрение «омиксных» подходов в систему регуляторной оценки и прогноза риска для здоровья ограничено рядом причин [Sturla S.J. et al., 2014; Cote I. et al., 2016]. К их числу относятся недостаточная проработка критериев для трактовки изменений в экспрессии генов/белков как признаков токсического действия, отсутствие стандартизированных протоколов анализа и валидации биомаркеров токсичности, проблемы воспроизводимости результатов между лабораториями и платформами, сложность экстраполяции данных *in vitro* и на животных моделях, на человека.

Для преодоления существующих ограничений необходимы:

• разработка стандартизированных протоколов проведения «омиксных» исследований и анализа данных;

• создание баз данных по токсикогеномным/токсикопротеомическим профилям химических смесей;

• развитие интегративных биоинформатических платформ для прогнозирования комбинированного действия веществ;

• валидация биомаркеров раннего ответа на токсическое воздействие для использования в гигиеническом нормировании;

• междисциплинарные исследования для интерпретации результатов.

Вместе с тем накоплены достаточные данные о характерных сочетаниях химических веществ и особенностях их комбинированного токсического действия на организм. Исследования в области токсикологии позволили выявить ряд устойчивых комбинаций (более 50), при действии которых установлен эффект суммации по сравнению с действием отдельных компонентов, учитываемый при регламентации химических веществ. В условиях реальных аэрогенных экспозиций, характерных для территорий с размещением функционирующих металлургических производств (59 субъектов), значительное количество населения (более 60 % от общей численности населения РФ) подвергается воздействию опасных для здоровья комбинаций соединений алюминия, фтора, меди, никеля, хрома (VI), бенз(а)пирена в различных сочетаниях [Землянова М.А. и др., 2025]. Оценка и прогнозирование негативных эффектов на ранних стадиях их развития в условиях комбинированного воздействия этих соединений представляет актуальную гигиеническую проблему.

Согласно современным представлениям, при сочетанном воздействии веществ с недостаточно изученным токсикологическим профилем прогнозируется развитие более выраженного патологического ответа [Ecotoxicological combined effects from chemical mixtures, 2013; Игнатьева Л.П. и др., 2015]. В частности, комбинированное влияние оксидов меди, никеля и хрома способно инициировать синергетический токсический эффект, ведущую роль в реализации которого играют универсальные механизмы цитотоксичности. К ним относятся индукция окислительного стресса и запуск каскада воспалительных реакций, совместное действие которых приводит к кумулятивному повреждению органов-мишеней: легких, печени, почек и ЦНС [Valko M. et al., 2006].

Установлено, что формирование негативных эффектов, индуцированных ионами металлов, опосредовано избыточной генерацией активных форм кис-

лорода (АФК). АФК атакуют критические внутриклеточные мишени – белки и генетический аппарат, что детерминирует нарушение регуляции их экспрессии и биосинтеза. Повреждение белковых структур снижает активность ферментативных систем, обеспечивающих репликацию, транскрипцию и репарацию ДНК. Следствием данных нарушений является накопление клеточных повреждений, рост пула эндогенных перекисей и модификация сигнально-транспортных путей [El Safty A.M.K. et al., 2018]. Активация провоспалительных генов в сочетании с митохондриальной дисфункцией вызывает глубокие сдвиги клеточного гомеостаза, способные инициировать нерегулируемый апоптоз. Особое значение имеет тот факт, что описанные молекулярно-клеточные нарушения могут манифестировать при концентрациях контаминантов в биосредах на уровне субтоксических, референтных и даже фоновых значений [Yang C.A. et al., 2011].

Исследования по изучению эффектов действия различных сочетаний веществ свидетельствуют, что комбинированная экспозиция бенз(а)пирена и алюминия при различных путях поступления представляет особую опасность для ряда критических органов и систем человека. Описываемые в литературе мишени воздействия и токсические эффекты бенз(а)пирена и алюминия в организме часто совпадают. Оба элемента оказывают негативное влияние на иммунную систему, костную ткань и нервную систему [Сынзыныс Б.И. и др., 2004; Pereira M. et al., 2011; Schecter A. et al., 2012; Bondy S.C., 2014; Jinzhu Y. et al., 2015; Минтель М.В. и др., 2018]. Особенно уязвима к данному воздействию нервная система. Нейротоксичность обоих элементов является установленным фактом. Бенз(а)пирен способен повреждать нервные клетки [He C., 2012], в то время как алюминий считается мощным нейротоксикантом, способным вызывать когнитивные нарушения и слабоумие при попадании в мозг [Kawahara M., Kato-Negishi M., 2011; Shaw C.A. et al., 2014]. Ключевым механизмом их токсического действия является способность индуцировать апоптоз нейронов, который является основной характеристикой нейродегенерации. При совместном действии алюминий и бенз(а)пирен могут проявлять синергетический эффект [Zhao J. et al., 2011; Oshima E. et al., 2013; Jinzhu Y. et al., 2015].

Многочисленные исследования показывают, что алюминий запускает апоптоз нервных клеток посредством митохондриального пути и каспазной каскадной реакции [Zhang Q.L. et al., 2005; Kaneko N. et al., 2007; Niu Q. et al., 2007; Jiang Y. et al., 2013]. Экспериментальные данные показывают, что при комбинированном воздействии алюминия и бенз(а)пирена наблюдаются классические признаки апоптоза – пикнотическая ядерная мембрана с конденсированным хроматином, расположенным по периферии, образование клеточных щелей и апоптических телец, идентифицируемые при электронной микроскопии. Эти изменения значительно более выражены по сравнению с изолированным действием каждого из этих токсикантов, что указывает на усиление негативного эффекта при их совместном действии [Oshima E. et al., 2013].

Один из механизмов совместного действия алюминия и фтора на организм человека и животных предложен Strunecká A. с соавторами и подтвержден

рядом других исследователей [Strunecká A. et al., 2002; Refsnes M. et al., 2003; Agalakova N.I., Gusev G.P., 2011]. По их мнению, при одновременном поступлении алюминия и фтора в организм эти элементы образуют комплексы AlF_3 и ALF_4^-. Данные соединения, вследствие схожести молекулярной структуры, могут действовать в организме аналогично фосфатным группам. Поэтому они не только свободно проникают в органы и ткани, но и активно вмешиваются в ключевые биологические процессы. Авторы проанализировали и рассчитали эффективность образования этих комплексов, показав, что их стабильность зависит от величины pH и концентрации исходных элементов.

Наиболее выраженно этот механизм проявляется при воздействии на костную ткань, что подтверждено рядом экспериментов *in vitro*. При культивировании клеток остеобластов в среде, содержащей NaF и $AlCl_3$, выявлен синергетический эффект данных соединений. Их действие усиливало экспрессию ключевых транскрипционных факторов инициации и регуляции раннего остеогенеза и последующей минерализации костей, Runx2 и Osterix [Guo X. et al., 2011]. В других исследованиях показано, что фтор совместно с алюминием может оказывать влияние на пролиферацию остеобластов путем модуляции специфических ростовых факторов, что потенциально может привести к патологическому формированию костной ткани [Park B. et al., 2013]. Другой стороной нарушения костного метаболизма является разрушение костной ткани. На первичной культуре макрофагов костного мозга показано, что ALF_4^- выступает активатором G-белка. Это запускает сигнальный каскад, способный усиливать RANKL-опосредованный остеокластогенез – процесс дифференцировки и активации остеокластов [Lau K.H. et al., 2002]. Поскольку RANKL представляет собой цитокин, стимулирующий этот процесс, его гиперэкспрессия под действием ALF_4^- приводит к резорбции костной ткани и потере костной массы.

Сведения о характере сочетанного действия фтора и бенз(а)пирена в доступной литературе крайне ограничены. Результаты квантово-химического моделирования свидетельствуют о том, что фторзамещение дестабилизирует ключевые интермедиаты (карбокатионы), образующиеся в процессе метаболической активации бенз(а)пирена. Данный молекулярный механизм позволяет обосновать наблюдаемое снижение его канцерогенного потенциала при воздействии соединений фтора [Borosky G.L. et al., 2007].

Сведения о сочетанном воздействии алюминия, фтора и бенз(а)пирена на специфические молекулярные мишени в доступной литературе практически отсутствуют. Тем не менее теоретический анализ позволяет предположить наличие аддитивного или синергического эффекта, реализуемого через инициацию системного оксидативного стресса. Подобное взаимодействие веществ может приводить к глубокой модификации внутриклеточных структур, нарушению целостности биомембран и деструкции ключевых макромолекул, что определяет высокий риск формирования мультиорганной патологии.

В ряде экспериментальных исследований показано, что взаимодействие никеля и хрома носит антагонистический характер [Gupta A.D., Karthikeyan S., 2016]. Так, экспериментально на мышах показано, что эффект комбинирован-

ного воздействия летальных доз хрома и никеля приводит к субаддитивному эффекту (неявный антагонизм) [Davydova V.I. et al., 1981]. В другом экспериментальном исследовании продемонстрирован антагонизм повреждающего действия данных веществ на альвеолярные макрофаги кроликов [Johansson A. et al., 1988]. При изучении эффектов 24-часового воздействия никеля и хрома на первичные фибробласты кожи человека обнаружено, что высокие концентрации никеля и хрома действуют совместно, индуцируя быстрое повреждение клеток и некроз. Однако более низкие (нетоксичные) концентрации того же сочетания металлов, напротив, проявляют защитный эффект, предотвращая повреждение и апоптоз. Предполагаемым механизмом этой защиты является сверхэкспрессия белков теплового шока (HSP) [Rudolf E., Cervinka M., 2010]. Субаддитивность или даже явный антагонизм являются обычными эффектами комбинированной токсичности металлов. Эффект зависит от конкретных доз и соотношения металлов, длительности воздействия и выбранного для оценки биологического ответа [Interaction Profile, 2004; Varaksin A.N. et al., 2014; Minigalieva I.A. et al., 2017].

Никель и медь являются высокоопасными веществами, обладающими канцерогенной опасностью для организма. Одним из ключевых механизмов их токсичности является способность генерации свободных радикалов, что приводит к окислительному стрессу, который вызывает необратимую деградацию белков, повреждение липидов и ингибирование систем репарации ДНК и РНК [Tchounwou P.B. et al., 2008; Rudolf E., Cervinka M., 2010; Engwa G.A. et al., 2019]. В эксперименте установлено, что никель и медь проявляют антагонистическое действие по отношению друг к другу [Spears J.W., Hatfield E.E., 1985]. Однако при изучении генерации АФК и воспалительного потенциала оксидами меди и никеля наблюдался аддитивный эффект, что указывает на то, что каждое вещество при взаимодействии не влияет на физико-химические свойства другого [Wang X. et al., 2020].

Медь и хром классифицируются как эссенциальные микроэлементы, однако при превышении физиологического порога кумуляции они проявляют выраженные токсические свойства. Сочетанное воздействие данных металлов на биологические системы характеризуется более высоким риском развития патологических эффектов в сравнении с изолированной экспозицией. Экспериментальные данные подтверждают, что комбинированная нагрузка детерминирует существенное угнетение репродуктивной функции и пролонгацию периодов онтогенетического развития [Živanov-Čurlis J. et al., 2006].

В основе токсикодинамики лежит резкая интенсификация генерации активных форм кислорода (АФК), провоцирующая глубокий дисбаланс антиоксидантной защиты. Это манифестирует в виде существенной модификации активности ключевых ферментативных звеньев: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионпероксидазы. Характер взаимодействия меди и хрома верифицируется как аддитивный или синергетический, что исключает конкурентный антагонизм и подтверждает взаимное потенцирование их цитотоксического действия [Li L. et al., 2018].

В доступных библиографических источниках сведения о характере сочетанного воздействия меди, никеля и хрома на специфические молекулярные мишени практически отсутствуют. Тем не менее экстраполяция известных данных о механизмах патогенеза при изолированной экспозиции данных металлов позволяет определить вектор их совместного негативного влияния. Предполагается, что интегральный цитотоксический эффект сосредоточен на деструкции критических внутриклеточных структур (ДНК, митохондрий, белков) и инициации системного оксидативного стресса, опосредованного гиперпродукцией активных форм кислорода (АФК).

Схематически патогенез развития негативных эффектов при комбинированном действии описываемых химических веществ представлен на рисунках 2.4, 2.5.

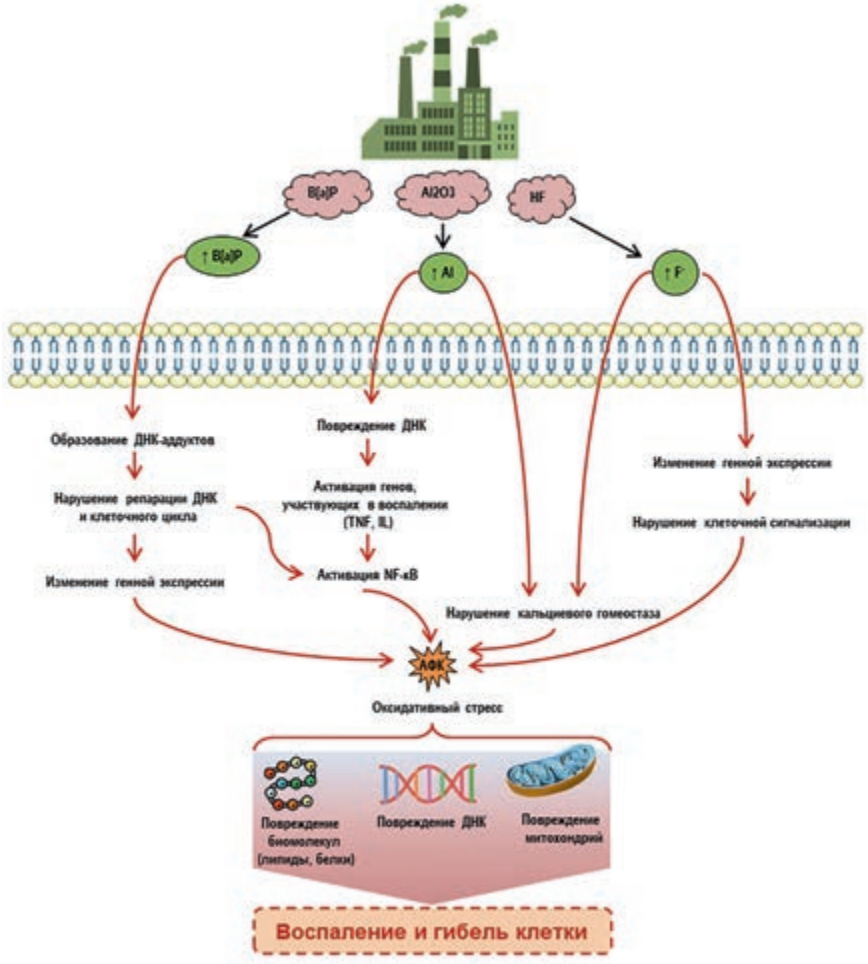


Рис. 2.4. Схема патогенетического механизма развития клеточно-молекулярных негативных эффектов при комбинированном действии химических веществ: оксида алюминия, фтороводорода и бенз(а)пирена

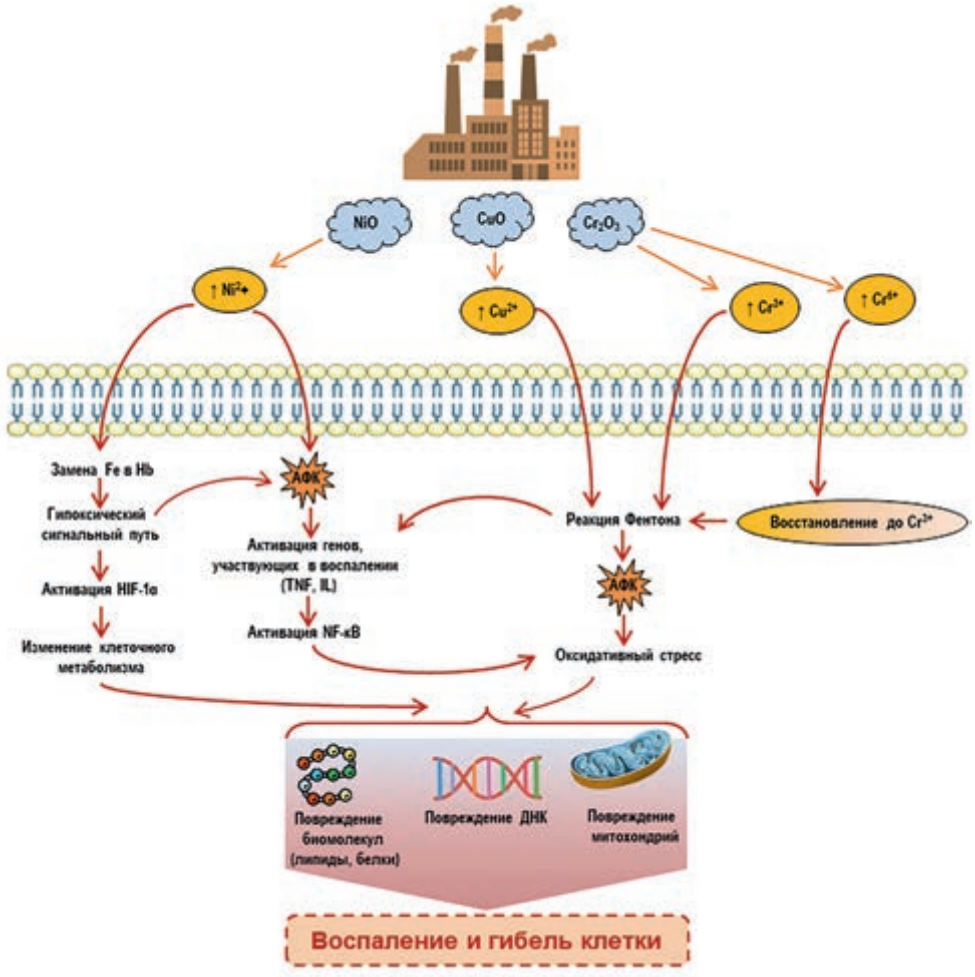


Рис. 2.5. Схема патогенетического механизма развития клеточно-молекулярных негативных эффектов при комбинированном действии химических веществ: оксидов меди, никеля и хрома

Генерация активных форм кислорода (АФК) инициирует интенсивную мобилизацию и последующее истощение пула эндогенных антиоксидантов, в частности, глутатиона. На начальных этапах данная система функционирует как компенсаторный механизм нейтрализации окислительного повреждения. Однако при превышении скорости потребления антиоксидантов над их регенераторной способностью развивается состояние системного оксидативного стресса [Chen K. et al., 2023]. АФК индуцируют свободнорадикальное повреждение полиненасыщенных жирных кислот клеточных мембран, запуская каскад перекисного окисления липидов (ПОЛ) с образованием вторичных токсичных метаболитов, включая малоновый диальдегид (МДА). Деструкция липидного бислоя ведет к утрате структурной целостности мембран, изменению

их текучести и трансмембранной проницаемости, что детерминирует цитолиз и гибель клетки [Kowalczyk-Pecka D. et al., 2018; Zhong G. et al., 2024].

Параллельно АФК вызывают окислительную модификацию белков, непосредственно атакуя боковые цепи аминокислотных остатков. Это приводит к фрагментации пептидных связей, аномальному сшиванию и нарушению конформационной (третичной) структуры макромолекул. Подобные изменения необратимо инактивируют ферментативные системы и блокируют ключевые биологические функции белков [Chen C.H. et al., 2021].

Расшифровка механизмов токсического действия химических соединений представляет собой фундаментальную проблему, обусловленную сложной структурно-функциональной иерархией биологических систем. Анализ токсикодинамики требует учета нелинейности зависимостей «доза–эффект», а также существенного вклада индивидуальной вариабельности, включая генетический полиморфизм, эпигенетическую регуляцию и преморбидный фон организма. В условиях реальной экспозиции критическое значение приобретает комбинированное воздействие, при котором интерференция компонентов смеси может приводить как к антагонизму, так и к выраженному синергизму.

Таким образом, существующие методологические ограничения – сложность межвидовой экстраполяции данных и недостаточная чувствительность традиционных методов – диктуют необходимость перехода к парадигме системного подхода. Интеграция методов компьютерного моделирования (*in silico*) и высокопроизводительных омиксных технологий позволяет преодолеть данные барьеры, обеспечивая точную идентификацию молекулярных мишеней и верификацию отдаленных эффектов воздействия компонентов химических смесей.

Список литературы к главе 2

Авцын, А.П. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология) / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова. М.: Медицина, 1991. 485 с. ISBN: 50225-02128-X.

Бандман, А.Л. Вредные химические вещества: Галоген- и кислородсодержащие органические соединения: Справочник / А.Л. Бандман, Г.А. Войтенко, Н.В. Волкова [и др.]; Под общ. ред. В.А. Филова, Л.А. Тиунова. СПб: Химия. Санкт-Петербург. отделение, 1994. 686 с. ISBN: 5-7245-0396-4.

Бобровский, И.Н. Зависимость здоровья детского населения в связи с нарушениями обмена микроэлементов в условиях экологии Ставропольского края / И.Н. Бобровский, С.А. Калашникова, С.В. Мирошниченко, О.В. Любанская // Материалы пленума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды. М., 2015: 58–61.

Вредные вещества в окружающей среде. Элементы I-IV групп в периодической системе и их неорганические соединения: Справ.-энц. изд. / Под ред. В.А. Филова и др. СПб.: НПО «Профессионал», 2012. 464 с. ISBN: 5-98371-031-1.

Вредные вещества в промышленности: справочник для химиков, инженеров и врачей. Изд. 7-е, пер. и доп.: В 3-х т. Том 3. Неорганические и элементорганические соединения / Под ред. засл. деят. науки проф. Н.В. Лазарева и д-ра мед. наук Э.Н. Левиной. Л.: Химия, 1977. 514 с.

Вредные вещества в промышленности: справочник для химиков, инженеров и врачей. Изд 7-е, пер. и доп.: В 3-х т. Том 1. Органические вещества / Под общ. ред. засл. деят. науки проф. Н.В. Лазарева и д-ра мед. наук Э.Н. Левиной. Л.: Химия, 1976. 592 с.

Гаврилюк, Л.А. Влияние антиоксидантной терапии на активность глутатионзависимых энзимов слюны пациентов с флюорозом / Л.А. Гаврилюк, Е.А. Степко, Ю.Г. Спиней [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. 2007; 1: 22–37.

Гальченко, А.В. Условно-эссенциальные ультрамикроэлементы в питании вегетарианцев и веганов: никель, литий, ванадий, германий / А.В. Гальченко, А.А. Шерстнева // Микроэлементы в медицине. 2021; 22(2): 3–16. DOI: 10.19112/2413-6174-2021-22-2-3-16.

Жукова, А.Г. Специфичность клеточного ответа на действие различных производственных токсикантов / А.Г. Жукова, Е.В. Уланова, Д.В. Фоменко [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2011; 7: 23–26.

Зайцева, Н.В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современный инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, О.В. Долгих // Гигиена и санитария. 2020; 99(1): 6–12. DOI: 10.47470/0016-9900-2020-99-1-6-12.

Землянова, М.А. Пространственный кластерно-приоритизационный анализ распределения комбинаций опасных для здоровья химических веществ в атмосферном воздухе регионов Российской Федерации / М.А. Землянова, Ю.В. Кольдибекова, Д.А. Кирьянов [и др.] //. Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО. 2025; 33(11): 63-71. DOI: 10.35627/2219-5238/2025-33-11-63-71.

Игнатьева, Л.П. Гигиена атмосферного воздуха: Учебное пособие / Л.П. Игнатьева, М.В. Чирцова, М.О. Потапова. Иркутск: ИГМУ, 2015. 79 с.

Куценко, С.А. Основы токсикологии: Научно-методическое издание / С.А. Куценко. СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2004. 720 с. ISBN: 5-93929-092-2.

Минтель, М.В. Некоторые аспекты совместного действия алюминия и фтора на организм человека (обзор литературы) / М.В. Минтель, М.А. Землянова, И.Г. Жданова-Заплесвичко // Экология человека. 2018; 9: 12–17. DOI: 10.33396/1728-0869-2018-9-12-17.

Михайлова, Н.Н. Экспериментальный поиск иммунологических критериев определения стадий развития хронической фтористой интоксикации / Н.Н. Михайлова, А.С. Казицкая, Л.Г. Горохова, А.Г. Жукова // Медицина труда и промышленная экология. 2012; 11: 32–37.

Никанов, А.Н. Влияние лечебно-профилактических напитков на минеральный обмен промышленных рабочих Арктической зоны Российской Федерации / А.Н. Никанов, Л.В. Талыкова, В.Р. Быков, О.И. Табарча // Вестник Кольского научного центра РАН. 2017; 4: 113–117.

Онищенко, Г.Г. Гигиеническая индикация последствий для здоровья при внешнесредовой экспозиции химических факторов / Г.Г. Онищенко, Н.В. Зайцева, М.А. Землянова; под ред. Г.Г. Онищенко. Пермь: Книжный формат, 2011. 532 с. ISBN: 978-5-91754-094-8.

Онищенко, Г.Г. Гигиенические проблемы индустриализированных районов Крайнего Севера и приоритеты в научных исследованиях по их решению / Г.Г. Онищенко // Медицина труда и промышленная экология. 2004; 2: С. 1–2.

Репродуктивный возраст [Электронный ресурс] // Демографический энциклопедический словарь; под ред. Д.И. Валентей. М.: Советская энциклопедия, 1985. URL: http://geography.su/demogr/item/f00/s01/e0001051/index.shtml (дата обращения 08.12.2025).

Скальный, А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / А.В. Скальный. М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. 215 с. ISBN: 5-329-00942-1.

Сынзыныс, Б.И. Иммунотоксичность хлористого алюминия / Б.И. Сынзыныс, А.Н. Шарецкий, О.В. Харламова // Гигиена и санитария. 2004; 4: 70–72.

Шабад, Л.М. О циркуляции канцерогенов в окружающей среде / Л.М. Шабад. М.: Медицина, 1973. 366 с.

Agalakova, N.I. Fluoride-induced death of rat erythrocytes in vitro / N.I. Agalakova, G.P. Gusev // Toxicol in Vitro. 2011; 25(8): 1609–1618. DOI: 10.1016/j.tiv.2011.06.006.

Akinrinade, I.D. Fluoride and aluminium disturb neuronal morphology, transport functions, cholinesterase, lysosomal and cell cycle activities / I.D. Akinrinade, A.E. Memudu, O.M. Ogundele // Pathophysiology. 2015; 22(2): 105–115. DOI: 10.1016/j.pathophys.2015.03.001.

Alfvén, T. Cadmium and lead in blood in relation to low bone mineral density and tubular proteinuria / T. Alfvén, L. Järup, C.G. Elinder // Environ Health Perspect. 2002; 110(9): 699–702. DOI: 10.1289/ehp.110-1240916.

Al-Ghamdi, S.S. Acute solvent exposure induced activation of cytochrome P4502E1 causes proximal tubular cell necrosis by oxidative stress / S.S. Al-Ghamdi, M.J. Raftery, M.M. Yaqoob // Toxicology in Vitro. 2003; 17(3): 335–341. DOI: 10.1016/s0887-2333(03)00021-3.

Al-Ghamdi, S.S. Organic solvent-induced proximal tubular cell toxicity via caspase-3 activation / S.S. Al-Ghamdi, M.J. Raftery, M.M. Yaqoob // J Toxicol Clin Toxicol. 2003; 41(7): 941–945. DOI: 10.1081/CLT-120026515.

Al-Ghamdi, S.S. Solvent induced activation of CYP2E1 causes proximal tubular apoptosis by oxidative stress / S.S. Al-Ghamdi // Toxicology. 2007; 240(3): 165–165. DOI: 10.1016/j.tox.2007.06.043.

Allmann, S. Benzo[a]Pyrene Represses DNA Repair through Altered E2F1/E2F4 Function Marking an Early Event in DNA Damage-Induced Cellular Senescence / S. Allmann, L. Mayer, J. Olma [et al.] // Nucleic Acids Res. 2020; 48(21): 12085–12101. DOI: 10.1093/nar/gkaa965.

Alzahrani, A.M. Pinocembrin attenuates benzo(a)pyrene-induced CYP1A1 expression through multiple pathways: an in vitro and in vivo study / A.M. Alzahrani, P. Rajendran // J Biochem Mol Toxicol. 2021; 35(4): e22695. DOI: 10.1002/jbt.22695.

Anantharam, V. Caspase-3-dependent proteolytic cleavage of proteinkinase C delta is essential for oxidative stress-mediated dopaminergic cell death after exposure to methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl / V. Anantharam, M. Kitazawa, J. Wagner [et al.] // J Neurosci. 2002; 22(5): 1738–1751. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-05-01738.2002.

Anderson, N.L. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects / N.L. Anderson, N.G. Anderson // Mol Cell Proteomics. 2002; 1(11): 845–867. DOI: 10.1074/mcp.r200007-mcp200.

Anderson, R.A. Chromium as an essential nutrient for humans / R.A. Anderson // Regulatory Toxicol Pharmacol. 1997; 26 (1 Pt 2): S35–41. DOI: 10.1006/rtph.1997.1136.

Anderson, R.A. Essentiality of Cr in humans / R.A. Anderson // Sci Total Environ. 1989; 86(1-2): 75–81. DOI: 10.1016/0048-9697(89)90196-4.

Aparna, S. Benzo[a]Pyrene Exposure and Overcrowding Stress Impacts Anxiety-like Behavior and Impairs Learning and Memory in Adult Zebrafish, Danio rerio / S. Aparna, M. Patri // Environ Toxicol. 2021; 36(3): 352–361. DOI: 10.1002/tox.23041.

Atkinson, T.J. A review of the role of benzene metabolites and mechanisms in malignant transformation: summative evidence for a lack of research in nonmyelogenous cancer types / T.J. Atkinson // Int J Hyg Environ Health. 2009; 212(1): 1–10. DOI: 10.1016/j.ijheh.2007.09.013.

Au, A. Nickel and vanadium metal ions induce apoptosis of T-lymphocyte Jurkat cells / A. Au, J. Ha, M. Hernandez [et al.] // J Biomed Mater Res. 2006; 79(3): 512–521. DOI: 10.1002/jbm.a.30811.

Aulestia, F.J. Fluoride exposure alters Ca 2+signaling and mitochondrial function in enamel cells / F.J. Aulestia, J. Groeling, G.H.S. Bomfim [et al.] // Sci Signal. 2020; 13(619): eaay0086. DOI: 10.1126/scisignal.aay0086.

Aylward, L.L. Biomonitoring equivalents (BE) dossier for toluene (CAS No. 108-88-3) / L.L. Aylward, H.A. Barton, S.M. Hays // Regul Toxicol Pharmacol. 2008; 51(3): 27–36. DOI: 10.1016/j.yrtph.2008.05.009.

Badger, G.M. Mode of formation of carcinogens in human environment / G.M. Badger // Natl Cancer Inst Monogr. 1962; 9: 1–16.

Bagchi, D. Chromium (VI)-induced oxidative stress, apoptotic cell death and modulation of p53 tumor suppressor gene / D. Bagchi, M. Bagchi, S.J. Stohs // Mol Cell Biochem. 2001; 222(1-2): 149–158.

Bakkar, N. The M1311V variant of ATP7A is associated with impaired trafficking and copper homeostasis in models of motor neuron disease / N. Bakkar, A. Starr, B.E. Rabichow [et al.] // Neurobiol Dis. 2021; 149: 105228. DOI: 10.1016/j.nbd.2020.105228.

Barbier, O. Molecular mechanisms of fluoride toxicity / O. Barbier, L. Arreola-Mendoza, L.M. Del Razo // Chem Biol Interact. 2010; 188(2): 319–333. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.07.011.

Barnes, J.L. Carcinogens and DNA Damage / J.L. Barnes, M. Zubair, K. John [et al.] // Biochem. Soc. Trans. 2018; 46(5): 1213–1224. DOI: 10.1042/BST20180519.

Barreto, G. The role of catechols and free radicals in benzene toxicity: an oxidative DNA damage pathway / G. Barreto, D. Madureira, F. Capani [et al.] // Environ Mol Mutagen. 2009; 50(9): 771–780. DOI: 10.1002/em.20500.

Bauman, J.W. Increase in metallothionein produced by chemicals that induce oxidative stress / J.W. Bauman, J. Liu, Y.P. Liu, C.D. Klaassen // Toxicol Appl Pharmacol. 1991; 110(2): 347–354. DOI: 10.1016/s0041-008x(05)80017-1.

Bharti, V.K. Effects of melatonin and epiphyseal proteins on fluoride-induced adverse changes in antioxidant status of heart, liver, and kidney of rats / V.K. Bharti, R.S. Srivastava, H. Kumar [et al.] // Adv Pharmacol Sci. 2014; 2014: 532969. DOI: 10.1155/2014/532969.

Bolognin, S. Aluminum, copper, iron and zinc differentially alter amyloid-Aβ(1-42) aggregation and toxicity / S. Bolognin, L. Messori, D. Drago [et al.] // Int J Biochem Cell Biol. 2011; 43(6): 877–885. DOI: 10.1016/j.biocel.2011.02.009.

Bondy, S.C. Prolonged exposure to low levels of aluminum leads to changes associated with brain aging and neurodegeneration / S.C. Bondy // Toxicology. 2014; 315: 1–7. DOI: 10.1016/j.tox.2013.10.008.

Borosky, G.L. Oxidized metabolites from benzo[a]pyrene, benzo[e]pyrene, and aza-benzo[a]pyrenes. A computational study of their carbocations formed by epoxide ring opening reactions / G.L. Borosky, K.K. Laali // Organic & biomolecular chemistry. 2007; 5(14): 2234–2242. DOI: 10.1039/b704090c.

Bukowska, B. Hemoglobin Adducts as Biomarkers of Human Exposure to Selected Xenobiotics / B. Bukowska // Postepy Hig Med Dosw. 2015; 69: 668–680. DOI: 10.5604/17322693.1156936.

Bukowska, B. Molecular Mechanisms of Action of Selected Substances Involved in the Reduction of Benzo[a]Pyrene-Induced Oxidative Stress / B. Bukowska, P. Duchnowicz // Molecules. 2022, 27(4): 1379. DOI: 10.3390/molecules27041379.

Burstein, E. A novel role for XIAP in copper homeostasis through regulation of MURR1 / E. Burstein, L. Ganesh, R.D. Dick [et al.] // EMBO J. 2004; 23(1): 244–254. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600031.

Buzalaf, M.A.R. Fluoride metabolism / M.A.R. Buzalaf, G.M. Whitford // Monogr Oral Sci. 2011; 22: 20–36. DOI: 10.1159/000325107.

Cantone, L. Inhalable metal-rich air particles and histone H3K4 dimethylation and H3K9 acetylation in a cross-sectional study of steel workers / L. Cantone, F. Nordio, L. Hou [et al.] // Environ Health Perspect. 2011; 119: 964–969. DOI: 10.1289/ehp.1002955.

Chen, C.H. High-dose copper activates p53-independent apoptosis through the induction of nucleolar stress in human cell lines / C.H. Chen, Y.T. Chou, Y.W. Yang, K.Y. Lo // Apoptosis. 2021; 26(11-12): 612–627. DOI: 10.1007/s10495-021-01692-y.

Chen, F. Cell apoptosis induced by carcinogenic metals / F. Chen, V. Vallyathan, V. Castranova, X. Shi // Mol Cell Biochem. 2001; 222(1-2): 183–188.

Chen, H. Nickel ions increase histone H3 lysine 9 dimethylation and induce transgene silencing / H. Chen, Q. Ke, T. Kluz [et al.] // Mol Cell Biol. 2006; 26(10): 3728–3737. DOI: 10.1128/MCB.26.10.3728-3737.2006.

Chen, J.Y. Differential cytotoxicity of Mn (II) and Mn (III): special reference to mitochondrial [Fe S] containing enzymes / J.Y. Chen, G. Tsao, Q. Zhao, W. Zheng // Toxicol Appl Pharmacol. 2001; 175(2): 160–168. DOI: 10.1006/taap.2001.9245.

Chen, K. Glutathione improves testicular spermatogenesis through inhibiting oxidative stress, mitochondrial damage, and apoptosis induced by copper deposition in mice with Wilson disease / K. Chen, L. Wu, Q. Liu [et al.] // Biomed Pharmacother. 2023; 158: 114107. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.114107.

Chen, L. APEX2-based Proximity Labeling of Atox1 Identifies CRIP2 as a Nuclear Copper-binding Protein that Regulates Autophagy Activation / L. Chen, N. Li, M. Zhang [et al.] // Angew Chem Int Ed Engl. 2021; 60(48): 25346–25355. DOI: 10.1002/anie.202108961.

Chen, Q.Y. Mechanisms of Nickel Carcinogenesis / Q.Y. Chen, J. Brocato, F. Laulicht, M. Costa // Essential and Non-essential Metals. Molecular and Integrative Toxicology; A. Mudipalli, J. Zelikoff (eds). Humana Press, Cham., 2017: 181–197. DOI: 10.1007/978-3-319-55448-8_8.

Chen, X. Hinokitiol copper complex inhibits proteasomal deubiquitination and induces paraptosis-like cell death in human cancer cells / X. Chen, X. Zhang, J. Chen [et al.] // Eur J Pharmacol. 2017; 815: 147–155. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.09.003.

Chesney, J. An inducible gene product for 6-phosphofructo-2-kinase with an AU-rich instability element: role in tumor cell glycolysis and the Warburg effect / J. Chesney, R. Mitchell, F. Benigni [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. 1999; 96(6): 3047–3052. DOI: 10.1073/pnas.96.6.3047.

Cho, J.Y. Suppressive effect of hydroquinone, a benzene metabolite, on in vitro inflammatory responses mediated by macrophages, monocytes and lymphocytes / J.Y. Cho // Mediat Inflamm. 2008; 2008: 298010. DOI: 10.1155/2008/298010.

Chong, I.W. Expression and regulation of macrophage inflammatory protein-2 gene by vanadium in mouse macrophages / I.W. Chong, S.R. Lin, J.J. Hwang [et al.] // Inflammation. 2000, 24(2): 127–139. DOI: 10.1023/a:1007098508014.

Chong, I.W. Regulation of chemokine mRNA expression in a rat model of vanadium induced pulmonary inflammation / I.W. Chong, M.M. Shi, J.A. Love [et al.] // Inflammation. 2000; 24(6): 505–517. DOI: 10.1023/a:1007021322323.

Chung, J.Y. Cellular Defense Mechanisms against Benzo[a]Pyrene in Testicular Leydig Cells: Implications of P53, Aryl-Hydrocarbon Receptor and Cytochrome P450 1A1 Status / J.Y. Chung, J.Y. Kim, Y.J. Kim [et al.] // Endocrinology. 2007; 148(12): 6134–6144. DOI: 10.1210/en.2007-0006.

Contini Mdel, C. Study of iron homeostasis following partial hepatectomy in rats with chronic aluminum intoxication / C. Contini Mdel, A. Ferri, C.A. Bernal, C.E. Carnovale // Biol Trace Elem Res. 2007; 115(1): 31–45. DOI: 10.1385/bter:115:1:31.

Corzett, T.H. Statistical analysis of variation in the human plasma proteome / T.H. Corzett, I.K. Fodor, M.W. Choi [et al.] // J Biomed Biotechnol. 2010; 2010: 258494. DOI: 10.1155/2010/258494.

Costa, M. Nickel carcinogenesis: epigenetics and hypoxia signaling / M. Costa, T.L. Davidson, H. Chen [et al.] // Mutat Res. 2005; 592(1-2): 79–88. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2005.06.008.

Cote, I. The Next Generation of Risk Assessment Multi-Year Study-Highlights of Findings, Applications to Risk Assessment, and Future Directions / I. Cote, M.E. Andersen, G.T. Ankley [et al.] // Environ Health Perspect. 2016; 124(11): 1671–1682. DOI: 10.1289/EHP233 2016.

Cowan, D.M. Manganese exposure among smelting workers: relationship between blood manganese-iron ratio and early onset neurobehavioral alterations / D.M. Cowan, W. Zheng, Y. Zou [et al.] // Neurotoxicology. 2009; 30(6): 1214–1222. DOI: 10.1016/j.neuro.2009.02.005.

Croute, F. Volatile organic compounds cytotoxicity and expression of HSP72, HSP90 and GRP78 stress proteins in cultured human cells / F. Croute, Y. Gaubin, B. Beau [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta. 2002; 1591(1-3): 147–155. DOI: 10.1016/s0167-4889(02)00271-9.

Das, K.K. Primary concept of nickel toxicity - an overview / K.K. Das, R.C. Reddy, I.B. Bagoji [et al.] // J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2018; 30(2): 141–152. DOI: 10.1515/jbcpp-2017-017.

Davydova, V.I. Toxicological assessment of the manganese, chromium and nickel combined action / V.I. Davydova, E.M. Neisvestnova, V.A. Blokhin, N.V. Sigova // Gig Sanit. 1981; 7: 20–22.

Dhar, V. Physiology and toxicity of fluoride / V. Dhar, M. Bhatnagar // Indian J Dent Res. 2009; 20(3): 350–355. DOI: 10.4103/0970-9290.57379.

Ding, M. Vanadate-induced activation of activate or protein-1 role of reactive oxygen species / M. Ding, J.J. Li, S.S. Leonard [et al.] // Carcinogenesis. 1999; 20: 663–668. DOI: 10.1093/carcin/20.4.663.

Dobson, A.W. Oxidative stress is induced in the rat brain following repeated inhalation exposure to manganese sulfate / A.W. Dobson, S. Weber, D.C. Dorman [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. 2003; 93: 113–126. DOI: 10.1385/BTER:93:1-3:113.

Donaldson, J. The physiopathologic significance of manganese in the brain: its relation to schizophrenia and neurodegenerative disorders / J. Donaldson // Neurotoxicology. 1987; 8(3): 451–462.

Dorman, D.C. Old age and gender influence the pharmacokinetics of inhaled manganese sulphate and manganese phosphate in rats / D.C. Dorman, B.E. McManus, M.W. Marshall [et al.] // Toxicol Appl Pharmacol. 2004; 197(2): 113–124. DOI: 10.1016/j.taap.2004.02.010.

Eastmond, D.A. Topoisomerase II inhibition by myeloperoxidase-activated hydroquinone: A potential mechanism underlying the genotoxic and carcinogenic effects of benzene / D.A. Eastmond, S.T. Mondrala, L. Hasegawa // Chem-Biol Interact. 2005; 153-154: 207–216. DOI: 10.1016/j.cbi.2005.03.024.

Ecotoxicological combined effects from chemical mixtures. Part 1: Relevance and adequate consideration in environmental risk assessment of plant protection products and biocides [Электронный ресурс]. Federal Environment Agency, 2013. URL: http://www.umweltbundesamt.de/publikationen/ecotoxicological-combined-effects-from-chemical (дата обращения 24.11.2025).

El Safty, A.M.K. Genotoxic Effects Due to Exposure to Chromium and Nickel Among Electroplating Workers / A.M.K. El Safty, A.M. Samir, M.K. Mekkawy, M.M. Fouad // Int J Toxicol. 2018; 37(3): 234–240. DOI: 10.1177/1091581818764084.

Engwa, G.A. Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans / G.A. Engwa, P.U. Ferdinand, F.N. Nwalo, M.N. Unachukwu // Poisoning in the Modern World. New Tricks for an Old Dog?; O. Karcioglu, B. Arslan (eds). London: IntechOpen, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.82511.

Erikson, K.M. Alterations of oxidative stress biomarkers due to in utero and neonatal exposures of airborne manganese / K.M. Erikson, D.C. Dorman, V. Fitsanakis [et al.] // Biol Trace Elem Res. 2006; 111(1-3): 199–215. DOI: 10.1385/BTER:111:1:199.

Erikson, K.M. Manganese exposure and induced oxidative stress in the rat brain / K.M. Erikson, A.W. Dobson, D.C. Dorman, M. Aschner // Sci Total Environ. 2004; 334-335: 409–416. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2004.04.044.

Everet, E.T. Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics / E.T. Everet // J Dent Res. 2011; 90(5): 552–560. DOI: 10.1177/0022034510384626.

Exley, C. Human exposure to aluminium / C. Exley // Environ Sci Process Impacts. 2013; 15(10): 1807–1816. DOI: 10.1039/c3em00374d.

Faisal, M. Chromium-resistant bacteria and cyanobacteria: impact on Cr(VI) reduction potential and plant growth / M. Faisal, A. Hameed, S. Hasnain // J Ind Microbiol Biotechnol. 2005; 32 (11-12): 615–621. DOI: 10.1007/s10295-005-0241-2.

Fang, Z. Genotoxicity of tri- and hexavalent chromium compounds in vivo and their modes of action on DNA damage in vitro / Z. Fang, M. Zhao, H. Zhen [et al.] // PLoS One. 2014; 9(8): e103194. DOI: 10.1371/journal.pone.

Fardel, O. Cytokines as molecular targets for aryl hydrocarbon receptor ligands: implications for toxicity and xenobiotic detoxification / O. Fardel // Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2013; 9: 141–152. DOI: 10.1517/17425255.2013.738194.

Fernandes, R.M. Preclinical evidences of aluminum-induced neurotoxicity in hippocampus and pre-frontal cortex of rats exposed to low doses / R.M. Fernandes, M.G. Corrêa, W.A.B. Aragão [et al.] // Ecotoxicol Environ Saf. 2020; 206: 111139. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111139.

Fischader, G. Release of MCP-1 and IL-8 from lung epithelial cells exposed to volatile organic compounds / G. Fischader, C. Roder-Stolinski, G. Wichmann [et al.] // Toxicology In Vitro. 2008; 22(2): 359–366. DOI: 10.1016/j.tiv.2007.09.015.

Fontaine, M. Hexavalent chromium release from leather over time natural ageing vs accelerated ageing according to a multivariate approach / M. Fontaine, Y. Clement, N. Blanc, C. Demesmay // J Hazard Mater. 2019; 368: 811–818. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.12.112.

Forgacs, Z. Reproductive toxicology of nickel – review / Z. Forgacs, P. Massányi, N. Lukac, Z. Somosy // J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2012; 47(9): 1249–1260. DOI: 10.1080/10934529.2012.672114.

Forrest, M.S. Discovery of Novel Biomarkers by Microarray Analysis of Peripheral Blood Mononuclear Cell Gene Expression in Benzene-Exposed Workers / M.S. Forrest, Q. Lan, A.E. Hubbard [et al.] // Environ Health Perspect. 2005; 113(6): 801–807. DOI: 10.1289/ehp.7635.

Friberg, L. Cadmium and health. A toxicological and epidemiological appraisal. Vol. 2: Effects and Response / L. Friberg, C.G. Elinder, T. Kjellstrom, G.F. Norberg // CRC Press Inc., BocaRaton, FL., 1985. 320 p. DOI: 10.1201/9780429260599.

Fujisawa-Sehara, A.A DNA-binding factor specific for xenobiotic responsive elements of P-450c gene exists as a cryptic form in cytoplasm: its possible translocation to nucleus / A. Fujisawa-Sehara, M. Yamane, Y. Fujii-Kuriyama // Proc Natl Acad Sci USA. 1988; 85(16): 5859–5863. DOI: 10.1073/pnas.85.16.5859.

Gaetke, L.M. Copper: toxicological relevance and mechanisms / L.M. Gaetke, H.S. Chow-Johnson, C.K. Chow // Arch Toxicol. 2014; 88(11): 1929–1938. DOI: 10.1007/s00204-014-1355-y.

Ganguly, S. Human metallothione gene expression determined by quantitative reverse transcription-polymers chain reaction as a biomarker of cadmium exposure / S. Ganguly, E. Taioli, B. Baranski [et al.] // Cancer Epidemiol Biomark Prev. 1996; 5: 297–301.

Gao, L. Copper-instigated modulatory cell mortality mechanisms and progress in oncological treatment investigations / L. Gao, A. Zhang // Front Immunol. 2023; 14: 1236063. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1236063.

Giampietro, R. The Pivotal Role of Copper in Neurodegeneration: A New Strategy for the Therapy of Neurodegenerative Disorders / R. Giampietro, F. Spinelli, M. Contino, N.A. Colabufo // Mol Pharm. 2018; 15(3): 808–820. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00841.

Giuliano, M. Effects of low concentrations of benzene on human lung cells in vitro / M. Giuliano, A. Stellavato, M. Cammarota // Toxicology Letters. 2009; 188(2): 130–136. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.03.018.

Golebiowski, F. Inhibition of core histones acetylation by carcinogenic nickel (II) / F. Golebiowski, K.S. Kasprzak // Mol Cell Biochem. 2005; 279(1-2): 133–139. DOI: 10.1007/s11010-005-8285-1.

González, A. Benzopyrene Induces Oxidative Stress and Increases Expression and Activities of Antioxidant Enzymes, and CYP450 and GST Metabolizing Enzymes in Ulva lactuca (Chlorophyta) / A. González, D. Espinoza, C. Vidal, A. Moenne // Planta. 2020; 252(6): 107. DOI: 10.1007/s00425-020-03508-w.

Graven, K.K. Hypoxia regulation of endothelial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase / K.K. Graven, R.J. McDonald, H. W. Farber // Am J Physiol. 1998; 274(2): C347–355. DOI: 10.1152/ajpcell.1998.274.2.C347.

Guo, X. Combined effect of fluoride and aluminum on the expression of Runx2 and Osterix mRNA in MC3T3-E1 cells / X. Guo, R. Cai, S. Wu [et al.] // Wei Sheng Yan Jiu. 2011; 40(2): 164–166.

Gupta, A.D. Individual and combined toxic effect of nickel and chromium on biochemical constituents in E. coli using FTIR spectroscopy and Principle component analysis / A.D. Gupta, S. Karthikeyan // Ecotoxicol Environ Saf. 2016; 130: 289–294. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.04.025.

Gutiérrez-Salinas, J. Exposure to sodium fluoride produces signs of apoptosis in rat leukocytes / J. Gutiérrez-Salinas, J.A. Morales-González, E. Madrigal-Santillán [et al.] // Int J Mol Sci. 2010; 11(9): 3610–3622. DOI: 10.3390/ijms11093610.

Gutiérrez-Salinas, J. In vitro effect of sodium fluoride on malondialdehyde concentration and on superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in human erythrocytes / J. Gutiérrez-Salinas, L. García-Ortíz, J.A. Morales González [et al.] // Scientific World Journal. 2013; 2013: 864718. DOI: 10.1155/2013/864718.

HaMai, D. Modulation of oxidative events by multivalent manganese complexes in brain tissue / D. HaMai, A. Campbell, S.C. Bondy // Free Radic Biol Med. 2001; 31(6): 763–768. DOI: 10.1016/s0891-5849(01)00639-6.

Han, S. How aluminum, an intracellular ROS generator promotes hepatic and neurological diseases: the metabolic tale / S. Han, J. Lemire, V.P. Appanna [et al.] // Cell Biol Toxicol. 2013; 29(2): 75–84. DOI: 10.1007/s10565-013-9239-0.

Hartwig A. The role of DNA repair in benzene-induced carcinogenesis / A. Hartwig // Chemico-Biological Interactions. 2010; 184(1-2): 269–272. DOI: 10.1016/j.cbi.2009.12.029.

Hassan, H.A. Mitigating effects of antioxidant properties of black berry juice on sodium fluoride induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats / H.A. Hassan, M.I. Yousef // Food Chem Toxicol. 2009; 47(9): 2332–2337. DOI: 10.1016/j.fct.2009.06.023.

Hassanvand, M.S. Characterization of PAHs and metals in indoor/outdoor PM10/PM2.5/PM1 in a retirement home and a school dormitory / M.S. Hassanvand, K. Naddafi, S. Faridi [et al.] // Sci Total Environ. 2015; 527-528: 100–110. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.05.001.

He, C. Embryonic exposure to benzo(a)pyrene influences neural development and function in rockfish (Sebastiscus marmoratus) / C. He, C. Wang, Y. Zhou [et al.] // Neurotoxicology. 2012; 33(4): 758–762. DOI: 10.1016/j.neuro.2012.01.002.

Henderson, R.G. Acute oral toxicity of nickel compounds / R.G. Henderson, J. Durando, A.R. Oller [et al.] // Regul Toxicol Pharmacol. 2012; 62(3): 425–432. DOI: 10.1016/j.yrtph.2012.02.002.

Holme, J.A. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons as mediators of cardiovascular effects from combustion particles / J.A. Holme, B.C. Brinchmann, M. Refsnes [et al.] // Environ Health. 2019; 18(1): 74. DOI: 10.1186/s12940-019-0514-2.

Hosny, S. Oleanolic acid suppressed DMBA-induced liver carcinogenesis through induction of mitochondrial-mediated apoptosis and autophagy / S. Hosny, H. Sahyon, M. Youssef [et al.] // Nutr Cancer. 2021; 73: 968–982. DOI: 10.1080/01635581.2020.1776887.

Hou, M.M. Solution structure and interaction with copper in vitro and in living cells of the first BIR domain of XIAP / M.M. Hou, P. Polykretis, E. Luchinat [et al.] // Sci Rep. 2017; 7: 16630. DOI: 10.1038/s41598-017-16723-5.

Hu, C.Y. Effect of fluoride on insulin level of rats and insulin receptor expression in the MC3T3-E1 cells / C.Y. Hu, L.Q. Ren, X.N. Li [et al.] // Biol Trace Elem Res. 2012; 150(1-3): 297–305. DOI: 10.1007/s12011-012-9482-x.

Huang, C. Vanadate induces p53 transactivation through hydrogen peroxide and causes apoptosis / C. Huang, Z. Zhang, M. Ding [et al.] // J Biol Chem. 2000; 275(42): 32516–32522. DOI: 10.1074/jbc.M005366200.

Huang, C. Vanadium-induced nuclear factor of activated T cells activation through hydrogen peroxide / C. Huang, M. Ding, J. Li [et al.] // J Biol Chem. 2001; 276(25): 22397–22403. DOI: 10.1074/jbc.M010828200.

Huang, Z. iTRAQ-based proteomic profiling of human serum reveals down-regulation of platelet basic protein and apolipoprotein B100 in patients with hematotoxicity induced by chronic occupational benzene exposure / Z. Huang, H. Wang, H. Huang [et al.] // Toxicology. 2012; 291(1-3): 56–64. DOI: 10.1016/j.tox.2011.10.023.

IARC, 1999. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide / Agency for Research on Cancer. World Health Organization, Lyon. 1999; 71: 1189–1208.

Interaction Profile for: Arsenic, Cadmium, Chromium, and Lead / Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, 2004. 181 p.

Jangra, A. Hesperidin and Silibinin Ameliorate Aluminum-Induced Neurotoxicity: Modulation of Antioxidants and Inflammatory Cytokines Level in Mice Hippocampus / A. Jangra, P. Kasbe, S.N. Pandey [et al.] // Biol Trace Elem Res. 2015; 168(2): 462–471. DOI: 10.1007/s12011-015-0375-7.

Jannetto, P.J. Cytochrome b(5) plays a key role in human microsomal chromium (VI) reduction / P.J. Jannetto, W.E. Antholine, C.R. Myers // Toxicol. 2001; 159(3): 119–133. DOI: 10.1016/s0300-483x(00)00378-4.

Järup, L. Hazards of heavy metal contamination / L. Järup // Br Med Bull. 2003; 68: 167–182. DOI: 10.1093/bmb/ldg032.

Jaspers, I. Arsenite exposure of cultured airway epithelial cells activates kappa B-dependent interleukin-8 gene expression in the absence of nuclear factor-kappa B nuclear traslocation / I. Jaspers, J.M. Samet, W. Reed // J Biol Chem. 1999; 274(43): 31025–31033. DOI: 10.1074/jbc.274.43.31025.

Javed, H. S-allyl cysteine attenuates oxidative stress associated cognitive impairment and neurodegeneration in mouse model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type / H. Javed, M.M. Khan, A. Khan [et al.] // Brain Res. 2011; 1389: 133–142. DOI: 10.1016/j.brainres.2011.02.072.

Ji, Z. The benzene metabolite, hydroquinone and etoposide both induce endoreduplication in human lymphoblastoid TK6 cells / Z. Ji, L. Zhang, W. Guo [et al.] // Mutagenesis. 2009; 24(4): 367–372. DOI: 10.1093/mutage/gep018.

Jiang, Y. The modification of apoptosis correlated gene, protein and protein activity in rat hippocampus induced by benzo[a] pyrene sub-chronic exposure / Y. Jiang, S.S. Chang, J.Y. Li [et al.] // Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi. 2013; 31(3): 195–200.

Jie, X. Metabolic pathways of polycyclic aromatic hydrocarbons and functional regulation of proteins / X. Jie, W. Xiaoxiong, W. Hongqi [et al.] // Mini Rev Org Chem. 2018; 15(1): 76–83. DOI: 10.2174/1570193X14666170721150147.

Jin, T. Cadmium biomonitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (Chi-naCad) / T. Jin, M. Nordberg, W. Frech [et al.] // Biometals. 2002; 15(4): 397–410. DOI: 10.1023/a:1020229923095.

Jinzhu, Y. Aluminum and benzo[a]pyrene co-operate to induce neuronal apoptosis in vitro / Y. Jinzhu, Z. Qinli, Y. Jin [et al.] // J Toxicol Sci. 2015; 40(3): 365–373. DOI: 10.2131/jts.40.365.

Johansson, A. Alveolar macrophages in rabbits after combined exposure to nickel and trivalent chromium / A. Johansson, A. Wiernik, N. Lunborg, P. Camner // Environ Res. 1988; 46(2): 120–132. DOI: 10.1016/s0013-9351(88)80026-4.

Johnson, V.J. Aluminum disrupts the pro-inflammatory cytokine/neurotrophin balance in primary brain rotation-mediated aggregate cultures: possible role in neurodegeneration / V.J. Johnson, R.P. Sharma // Neurotoxicology. 2003; 24(2): 261–268. DOI: 10.1016/S0161-813X(02)00194-8.

Johnston, N.R. Principles of fluoride toxicity and the cellular response: a review / N.R. Johnston, S.A. Strobel // Arch Toxicol. 2020; 94(4): 1051–1069. DOI: 10.1007/s00204-020-02687-5.

Jomova, K. The role of redox active copper (II) on antioxidant properties of the flavonoid baicalein: DNA protection under Cu(II)-Fenton reaction and Cu(II)-ascorbate system conditions / K. Jomova, M. Cvik, P. Lauro [et al.] // J Inorg Biochem. 2023; 245: 112244. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2023.112244.

Kägi, J.H.R. Evolution, structure and chemical activity of class I metallothioneins: an overview // Metallothionein III, Biological Roles and Medical Implications / K.T. Suzuki, N. Imura, M. Kimura (eds). Basel, Switzerland: BirkhauserVerlag, 1993: 29–55.

Kakkar, P. Biological markers for metal toxicity / P. Kakkar, F.N. Jaffery // Environ Toxicol Pharmacol. 2005; 19(2): 335–349. DOI: 10.1016/j.etap.2004.09.003.

Kaneko, N. Aluminum compounds enhance lipid peroxidation in liposomes: insight into cellular damage caused by oxidative stress / N. Kaneko, T. Sugioka, H. Sakurai // J Inorg Biochem. 2007; 101(6): 967–975. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2007.03.005.

Karabulut, A.B. Apricot attenuates oxidative stress and modulates of Bax, Bcl-2, caspases, NFκ-B, AP-1, CREB expression of rats bearing DMBA-induced liver damage and treated with a combination of radiotherapy / A.B. Karabulut, N. Karadag, S. Gurocak [et al.] // Food Chem Toxicol. 2014; 70: 128–133. DOI: 10.1016/j.fct.2014.04.036.

Karaczyn, A.A. Ni(II) affects ubiquitination of core histones H2B and H2A / A.A. Karaczyn, F. Golebiowski, K.S. Kasprzak // Exp Cell Res. 2006; 312(17): 3252–3259. DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.06.025.

Karim, N. Copper and Human Health – A Review / N. Karim // Journal of Bahria University Medical and Dental College. 2018; 8(2): 117–122. DOI: 10.51985/JBUMDC2018046.

Karube, H. NaF activates MAPKs and induces apoptosis in odontoblast-like cells / H. Karube, G. Nishitai, K. Inageda [et al.] // J Dent Res. 2009; 88(5): 461–465. DOI: 10.1177/0022034509334771.

Kawahara, M. Aluminum and human health: its intake, bioavailability and neurotoxicity / M. Kawahara, K. Konoha, T. Nagata, Y. Sadakane // Biomed Res Trace Elem. 2007; 18(3): 211–220. DOI: 10.11299/brte.18.211.

Kawahara, M. Link between aluminum and the pathogenesis of Alzheimer's disease: the integration of the aluminum and amyloid cascade hypotheses / M. Kawahara, M. Kato-Negishi // Int J Alzheimers Dis. 2011; 2011: 276393. DOI: 10.4061/2011/276393.

Ke, Q. Alterations of histone modifications and transgene silencing by nickel chloride / Q. Ke, T. Davidson, H. Chen [et al.] // Carcinogenesis. 2006; 27(7): 1481–1488. DOI: 10.1093/carcin/bgl004.

Ke, Q. Nickel compounds induce histone ubiquitination by inhibiting histone deubiquitinating enzyme activity / Q. Ke, T.P. Ellen, M. Costa // Toxicol Appl Pharm. 2008; 228: 190–199. DOI: 10.1016/j.taap.2007.12.015.

Ke, Q. Nickel compounds induce phosphorylation of histone H3 at serine 10 by activating JNK–MAPK pathway / Q. Ke, Q. Li, T.P. Ellen [et al.] // Carcinogenesis. 2008; 29: 1276–1281. DOI: 10.1093/carcin/bgn084.

Kell, D.B. Iron behaving badly: inappropriate iron chelation as a major contributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases / D.B. Kell // BMC Med Genomics. 2009; 2: 2. DOI: 10.1186/1755-8794-2-2.

Khattab, H.A.H. Grape seed extract alleviate reproductive toxicity caused by aluminium chloride in male rats / H.A.H. Khattab, I.Z.A. Abdallah, G.M.Kamel // J American Sci. 2010; 6(12): 1200–1209.

Kim, J.B. TCF21 and the environmental sensor aryl-hydrocarbon receptor cooperate to activate a pro-in fl ammatory gene expression program in coronary artery smooth muscle cells / J.B. Kim, M. Pjanic // PLoS Genet. 2017; 13: e1006750. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006750.

Kirk, K.L. Biochemistry of halogenated organic compounds (volume 9B) / K.L. Kirk. New York: Plenum Press, 1991: 127–150.

Kowalczyk-Pecka, D. Peroxidation and unsaturation indices as potential biomarkers of multifarious zinc and copper micro-supplementation in Helix pomatia L / D. Kowalczyk-Pecka, E. Kowalczuk-Vasilev, A. Puchalski, R. Klebaniuk // Ecotoxicol Environ Saf. 2018; 148: 713–720. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.11.051.

Kumar, S. A review on role of nickel in the biological system / S. Kumar, A.V. Trivedi // Int J Curr Microbiol Appl. Sci. 2016; 5: 719–727. DOI: 10.20546/ijcmas.2016.503.084.

Laffon, B. Effects of styrene-7,8-oxide over p53, p21, bcl-2 and bax expression in human lymphocyte cultures / B. Laffon, E. Pasaro, J. Mendez // Mutagenesis. 2001; 16(2): 127–132. DOI: 10.1093/mutage/16.2.127.

Låg, M. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons in air pollution-induced non-malignant respiratory diseases / M. Låg, J. Øvrevik, M. Refsnes [et al.] // Respir Res. 2020; 21: 299. DOI: 10.1186/s12931-020-01563-1.

Lan, Q. Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene / Q. Lan, L. Zhang, G. Li [et al.] // Science. 2004; 306(5702): 1774–1776. DOI: 10.1126/science.1102443.

Larsen, J.E. ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in lung cancer / J.E. Larsen, V. Nathan, J.K. Osborne [et al.] // J Clin Invest. 2016; 126(9): 3219–3235. DOI: 10.1172/JCI76725.

Lau, K.H. Bone cell mitogenic action of fluoroaluminate and aluminum fluoride but not that of sodium fluoride involves upregulation of the insulin-like growth factor system / K.H. Lau, C. Goodwin, M. Arias [et al.] // Bone. 2002; 30(5): 705–711. DOI: 10.1016/s8756-3282(02)00671-3.

Lee, J.H. Cooperative roles of c-Abl and Cdk5 in regulation of p53 inresponse to oxidative stress / J.H. Lee, M.W. Jeong, W. Kim [et al.] // J Biol Chem. 2008; 283(28): 19826–19835. DOI: 10.1074/jbc.M706201200.

Lee, Y.W. Carcinogenic nickel silences gene expression by chromatin condensation and DNA methylation: a new model for epigenetic carcinogens / Y.W. Lee, S.V. Klein, B. Kargacin [et al.] // Mol Cell Biol. 1995; 15(5): 2547–2557. DOI: 10.1128/MCB.15.5.2547.

Li, G.J. Alteration at translational but not transcriptional level of transferring receptor expression following manganese exposure at the blood-CSF barrier in vitro / G.J. Li, Q.Q. Zhao, W. Zheng // Toxicol Appl Pharmacol. 2005; 205(2): 188–200. DOI: 10.1016/j.taap.2004.10.003.

Li, L. Ecotoxicological and Interactive Effects of Copper and Chromium on Physiochemical, Ultrastructural, and Molecular Profiling in Brassica napus L / L. Li, K. Zhang, R.A. Gill [et al.] // Biomed Res Int. 2018; 2018: 9248123. DOI: 10.1155/2018/9248123.

Li, M. RSL3 triggers glioma stem cell differentiation via the Tgm2/AKT/ID1 signaling axis / M. Li, D. Song, X Chen [et al.] // Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2022; 1868(12): 166529. DOI: 10.1016/j.bbadis.2022.166529.

Li, N. Reciprocal regulation of NRF2 by autophagy and ubiquitin-proteasome modulates vascular endothelial injury induced by copper oxide nanoparticles / N. Li, H. Du, L. Mao [et al.] // J Nanobiotechnology. 2022; 20(1): 270. DOI: 10.1186/s12951-022-01486-7.

Liccione, J.J. Selective vulnerability of glutathione metabolism and cellular defence mechanisms in rats triatum to manganese / J.J. Liccione, M.D. Maines // J Pharmacol Exp Ther. 1988; 247(1): 156–161.

Lin, S. Oxidative Stress and Apoptosis in Benzo[a]Pyrene-Induced Neural Tube Defects. Free Radic / S. Lin, A. Ren, L. Wang [et al.] // Biol Med. 2018; 116: 149–158. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.004.

Lin, W.T. Protective effects of low-intensity pulsed ultrasound on aluminum-induced cerebral damage in Alzheimer's disease rat model / W.T. Lin, R.C. Chen, W.W. Lu [et al.] // Sci Rep. 2015; 5: 9671. DOI: 10.1038/srep09671.

Lin, Y.C. Integrated Hypoxia Signaling and Oxidative Stress in Developmental Neurotoxicity of Benzo[a]Pyrene in Zebrafish Embryos / Y.C. Lin, C.Y. Wu, C.H. Hu [et al.] // Antioxidants. 2020; 9(8): 731. DOI: 10.3390/antiox9080731.

Lomozová, Z. The effect of flavonoids on the reduction of cupric ions, the copper-driven Fenton reaction and copper-triggered haemolysis / Z. Lomozová, M. Hrubša, P.F. Conte [et al.] // Food Chem. 2022; 394: 133461. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.133461.

Lu, J. Comparative proteomics analysis of cardiac muscle samples from pufferfish Takifugu rubripes exposed to excessive fluoride: initial molecular response

to fluorosis / J. Lu, Q. Xu, J. Zheng [et al.] // Toxicol Mech Methods. 2009; 19(6-7): 468–475. DOI: 10.1080/15376510903170969.

Lu, L. Alteration of serum concentrations of manganese, iron, ferritin, and transferitin receptor following exposure to welding fumes among career welders / L. Lu, L.L. Zhang, G.J. Li [et al.] // Neurotoxicology. 2005; 26(2): 257–265. DOI: 10.1016/j.neuro.2004.09.001.

Luan, F. TNFRSF11B activates Wnt/β-catenin signaling and promotes gastric cancer progression / F. Luan, X. Li, X. Cheng [et al.] // Int J Biol Sci. 2020; 16(11): 1956–1971. DOI: 10.7150/ijbs.43630.

Lukiw, W.J. Nanomolar aluminum induces pro-inflammatory and pro-apoptotic gene expression in human brain cells in primary culture / W.J. Lukiw, M.E. Percy, T.P. Kruck // J Inorg Biochem. 2005; 99(9): 1895–1898. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2005.04.021.

Luo, J. Activation of JNK by vanadate induces a Fas-associated death domain (FADD)-dependent death of cerebellar granule progenitors in vitro / J. Luo, Y. Sun, H. Lin [et al.] // J Biol Chem. 2003; 278(7): 4542–4551. DOI: 10.1074/jbc.M208295200.

Matsui, H. Some characteristics of fluoride-induced cell death in ratthymocytes: cytotoxicity of sodium fluoride / H. Matsui, M. Morimoto, K. Horimoto [et al.] // Toxicol in Vitro. 2007; 21(6): 1113–1120. DOI: 10.1016/j.tiv.2007.04.006.

Maxwell, P. HIF-1: an oxygen and metal responsive transcription factor / P. Maxwell, K. Salnikow // Cancer Biol Ther. 2004; 3(1): 29–35. DOI: 10.4161/cbt.3.1.547.

McHale, C.M. Changes in the peripheral blood transcriptome associated with occupational benzene exposure identified by cross-comparison on two microarray platforms / C.M. McHale, L. Zhang, Q. Lan // Genomics. 2009; 93(4): 343–349. DOI: 10.1016/j.ygeno.2008.12.006.

Meek, M.E. Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: A WHO/IPCS framework / M.E. Meek, A.R. Boobis, K.M. Crofton [et al.] // Regul Toxicol Pharmacol. 2011; 60(2): S1–S14. DOI: 10.1016/j.yrtph.2011.03.010.

Meister, A. Glutathione / A. Meister, M.E. Anderson // Ann Rev Biochem. 1984; 52: 711–760. DOI: 10.1146/annurev.bi.52.070183.003431.

Milnerowicz, H. Pro-inflammatory effects of metals in persons and animals exposed to tobacco smoke / H. Milnerowicz, M. Ściskalska, M. Dul // J Trace Elem Med Biol. 2015; 29: 1–10. DOI: 10.1016/j.jtemb.2014.04.008.

Minigalieva, I.A. Experimental study and mathematical modeling of toxic metals combined action as a scientific foundation for occupational and environmental health risk assessment. A summary of results obtained by the Ekaterinburg research team (Russia) / I.A. Minigalieva, B.A. Katsnelson, V.G. Panov [et al.] // Toxicol Rep. 2017; 4: 194–201. DOI: 10.1016/j.toxrep.2017.04.002.

Misiewicz, A. Malonyl dialdehyde concentration in red blood cells of workers engaged in the production of iron manganese alloys / A. Misiewicz, K. Radwan, A. Misiewicz, T. Dziewit // Med Pr. 1999; 50(4): 277–281.

Mittal, M. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury / M. Mittal, M.R. Siddiqui, K. Tran [et al.] // Antioxid Redox Signal. 2014; 20: 1126–1167. DOI: 10.1089/ars.2012.5149.

Moriguchi, J. Alpha1-microglobulin as a promising marker of cadmium-induced tubular dysfunction, possibly better than beta2-microglobulin / J. Moriguchi, T. Ezaki, T. Tsukahara [et al.] // Toxicol Lett. 2004; 148(1-2): 11–20. DOI: 10.1016/j.toxlet.2003.11.009.

Moussa, H. Trace amounts of Cu^{2+} ions influence ROS production and cytotoxicity of ZnO quantum dots / H. Moussa, C. Merlin, C. Dezanet [et al.] // J Hazard Mater. 2016; 304: 532–542. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.11.013.

Mujika, J.I. Aluminum's preferential binding site in proteins: sidechain of amino acids versus backbone interactions / J.I. Mujika, G. Dalla Torre, E. Formoso [et al.] // J Inorg Biochem. 2018; 181: 111–116. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2017.10.014.

Nakajima, T. CYP2C11 and CYP2B1 are major cytochrome P450 forms involved in styrene oxidation in liver and lung microsomes from untreated rats, respectively / T. Nakajima, R.S. Wang, E. Elovaara [et al.] // Biochem Pharmacol. 1994; 48(4): 637–642. DOI: 10.1016/0006-2952(94)90039-6.

Newland, M.C. Animal models of manganeses neurotoxicity / M.C. Newland // Neurotoxicology. 1999; 20(2-3): 415–432.

Nickel and nickel compounds [Электронный ресурс] / IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans // Arsenic, Metals, Fibres and Dusts. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer, 2012. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304378/ (дата обращения 10.12.2025).

Niu, Q. Study of neurocytes apoptosis in vitro culture rat induced by aluminum / Q. Niu, Q. Zhang, P. Niu, Y. Shi // Wei Sheng Yan Jiu. 2007; 36(4): 407–413.

Nunes, K.Z. Acute copper overload induces vascular dysfunction in aortic rings due to endothelial oxidative stress and increased nitric oxide production / K.Z. Nunes, M. Fioresi, V.B. Marques, D.V. Vassallo // J Toxicol Environ Health A. 2018; 81(8): 218–228. DOI: 10.1080/15287394.2018.1437490.

Oda, T. Oxygen radicals in influenza-induced pathogenesis and treatment with pyran polymer-conjugated SOD / T. Oda, T. Akaike, T. Hamamoto [et al.] // Science. 1989; 244(4907): 974–976. DOI: 10.1126/science.2543070.

Ohsaka, Y. Rat white adipocytes activate p85/p110 PI3K and induce PM GLUT4 in response to adrenoceptor agonists or aluminum fluoride / Y. Ohsaka, Y. Nomura // Physiol Int. 2016; 103(1): 35-48. DOI: 10.1556/036.103.2016.1.4.

Oka, S. Oral toxicity to high level sodium fluoride causes impairment of autophagy / S. Oka, X. Li, F. Zhang [et al.] // J Physiol Pharmacol. 2020; 71(5): DOI: 10.26402/jpp.2020.5.14.

Ono, K. Mechanism of fluoride action on the L-type calcium channel in cardiac ventricular myocytes / K. Ono, M. Arita // Cell Calcium. 1999; 26(1-2): 37–47. DOI: 10.1054/ceca.1999.0050.

Oshima, E. Accelerated tau aggregation, apoptosis and neurological dysfunction caused by chronic oral administration of aluminum in a mouse model of tauopathies / E. Oshima, T. Ishihara, O. Yokota [et al.] // Brain Pathol. 2013; 23(6): 633–644. DOI: 10.1111/bpa.12059.

Otterbein, L.E. Heme oxygenase-1: unleashing the protective properties of heme / L.E. Otterbein, M.P. Soares, K. Yamashita, F.H. Bach // Trends Immunol. 2003; 24(8): 449–455. DOI: 10.1016/s1471-4906(03)00181-9.

Ottolenghi, A.D. Inhalation studies of nickel sulfide in pulmonary carcinogenesis of rats / A.D. Ottolenghi, J.K. Haseman, W.W. Payne [et al.] // J Natl Cancer Inst. 1975; 54(5): 1165–1172. DOI: 10.1093/jnci/54.5.1165.

Oubrahim, H. Mitochondria play no roles in Mn(II)-induced apoptosis in Hela cells / H. Oubrahim, E.R. Stadtman, P.B. Chock // Proc Natl Acad Sci USA. 2001; 98(17): 9505–9510. DOI: 10.1073/pnas.181319898.

Øvrevik, J. Activation of Proinflammatory Responses in Cells of the Airway Mucosa by Particulate Matter: Oxidant- and Non-Oxidant-Mediated Triggering Mechanisms / J. Øvrevik, M. Refsnes, M. Låg [et al.] // Biomolecules. 2015; 5(3): 1399–1440. DOI: 10.3390/biom5031399.

Pal, A. Regional Distribution of Copper, Zinc and Iron in Brain of Wistar Rat Model for Non-Wilsonian Brain Copper Toxicosis / A. Pal, R. Prasad // Indian J Clin Biochem. 2016; 31(1): 93–98. DOI: 10.1007/s12291-015-0503-3.

Pan, Q. Copper deficiency induced by tetrathiomolybdate suppresses tumor growth and angiogenesis / Q. Pan, C.G. Kleer, K.L. van Golen [et al.] // Cancer Res. 2002; 62(17): 4854–4859.

Park, B. Activation of G Proteins by Aluminum Fluoride Enhances RANKL- Mediated Osteoclastogenesis / B. Park, Y.M. Yang, B.J. Choi [et al.] // Korean J Physiol Pharmacol. 2013; 17(5): 427–433. DOI: 10.4196/kjpp.2013.17.5.427.

Paustenbach, D.J. Benzene toxicity and risk assessment, 1972–1992: implications for future regulation / D.J. Paustenbach, R.D. Bass, P. Price // Environ Health Perspect Suppl. 1993; 101(6): 177–200. DOI: 10.1289/ehp.93101s6177.

Pedersen-Bjergaard, J. Genetics of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia / J. Pedersen-Bjergaard, M.K. Andersen, M.T. Andersen, D.H. Christiansen // Leukemia. 2008; 22(2): 240–248. DOI: 10.1038/sj.leu.2405078.

Pereira, M. Memory impairment induced by sodium fluoride is associated with changes in brain monoamine levels / M. Pereira, P.A. Dombrowski, E.M. Losso [et al.] // Neirotox Res. 2011; 19(1): 55–62. DOI: 10.1007/s12640-009-9139-5.

Rager, J.E. Review of transcriptomic responses to hexavalent chromium exposure in lung cells supports a role of epigenetic mediators in carcinogenesis / J.E. Rager, M. Suh, G.A. Chappell [et al.] // Toxicol Lett. 2019; 305: 40–50. DOI: 10.1016/j.toxlet.2019.01.011.

Ramos, D. Mechanism of Copper Uptake from Blood Plasma Ceruloplasmin by Mammalian Cells / D. Ramos, D. Mar, M. Ishida [et al.] // PLoS One. 2016; 11(3): e0149516. DOI: 10.1371/journal.pone.0149516.

Rappaport, S.M. Protein adducts as dosimeters of human exposure to styrene, styrene-7,8-oxide, and benzene / S.M. Rappaport, K. Yeowell-O'Connell // Toxicology Letters. 1999; 108: 117–126.

Ray, R.S. Suppression of cell proliferation, induction of apoptosis and cell cycle arrest: chemopreventive activity of vanadium in vivo and in vitro / R.S. Ray, B. Ghosh, A. Rana, M. Chatterjee // Int J Cancer. 2007; 120(1): 13–23. DOI: 10.1002/ijc.22277.

Ray, R.S. Vanadium mediated apoptosis and cell cycle arrest in MCF7 cell line / R.S. Ray, B. Rana, B. Swami [et al.] // Chem Biol Interact. 2006; 163(3): 239–247. DOI: 10.1016/j.cbi.2006.08.006.

Refsnes, M. Fluoride-induced apoptosis in human epithelial lung cells (A549 cells): role of different G protein-linked signal systems / M. Refsnes, P.E. Schwarze, J.A. Holme [et al.] // Hum Exp Toxicol. 2003; 22(3): 111–123. DOI: 10.1191/0960327103ht322oa.

Rice, D. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models / D. Rice, S.Jr. Barone // Environ Health Perspect. 2000; 108(3): 511–533. DOI: 10.1289/ehp.00108s3511.

Ridley, W. Fluoride-induced cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in A549 human pulmonary epithelial cells / W. Ridley, M. Matsuoka // Toxicol Lett. 2009; 188(3): 180–185. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.04.007.

Rizvi, A. Nickel toxicology with reference to male molecular reproductive physiology / A. Rizvi, S. Parveen, S. Khan, I. Naseem // Reprod Biol. 2020; 20(1): 3–8. DOI: 10.1016/j.repbio.2019.11.005.

Rogers, J.M. Recombinant cell bioassays for endocrine disruptors: development of a stably transfected human ovarian cell line for the detection of estrogenic and antiestrogenic chemicals / J.M. Rogers, M.S. Denison // In Vitro Mol Toxicol. 2000; 13(1): 67–82.

Ross, D. Cell-specific activation and detoxification of benzene metabolites in mouse and human bone marrow: identification of target cells and a potential role for modulation of apoptosis in benzene toxicity / D. Ross, D. Siegel, D.G. Schattenberg [et al.] // Environ Health Perspect. 1996; 104(6): 1177–1182. DOI: 10.1289/ehp.961041177.

Ross, D. Functions and distribution of NQO1 in human bone marrow: Potential clues to benzene toxicity / D. Ross // Chemico-Biological Interactions. 2005; 153-154: 137–146. DOI: 10.1016/j.cbi.2005.03.018.

Rubino, J.T. A comparison of methionine, histidine and cysteine in copper(I)-binding peptides reveals differences relevant to copper uptake by organisms in diverse environments / J.T. Rubino, M.P. Chenkin, M. Keller [et al.] // Metallomics. 2011; 3(1): 61–73.

Rudolf, E. Nickel modifies the cytotoxicity of hexavalent chromium in human dermal fibroblasts / E. Rudolf, M. Cervinka // Toxicol Lett. 2010; 197(2): 143–150. DOI: 10.1016/j.toxlet.2010.05.011.

Rueff, J. Genetic effects and biotoxicity monitoring of occupational styrene exposure / J. Rueff, J.P. Teixeira, L.S. Santos, J.F. Gaspar // Clinica Chimica Acta. 2009; 399(1-2): 8–23. DOI: 10.1016/j.cca.2008.09.012.

Ryan, H.E. HIF-1 alpha is required for solid tumor formation and embryonic vascularization / H.E. Ryan, J. Lo, R.S. Johnson // EMBO J. 1998; 17(11): 3005–3015. DOI: 10.1093/emboj/17.11.3005.

Saknyn, A.V. Development of malignant tumors in rats under the influence of nickel-containing aerosols / A.V. Saknyn, V.A. Blokhin // Vopr Onkol. 1978; 24(4): 44–48.

Salceda, S. Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes / S. Salceda, J. Caro // J Biol Chem. 1997; 272(36): 22642–22647. DOI: 10.1074/jbc.272.36.22642.

Salgado-Bustamante, M. Pattern of expression of apoptosis and inflammatory genes in humans exposed to arsenic and/or fluoride / M. Salgado-Bustamante, M.D. Ortiz-Pérez, E. Calderón-Aranda [et al.] // Sci Total Environ. 2010; 408(4): 760–767. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.11.016.

Salnikow, K. Carcinogenic nickel induces genes involved with hypoxic stress / K. Salnikow, M. Blagosklonny, H. Ryan [et al.] // Cancer Res. 2000; 60(1): 38–41.

Salnikow, K. Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium / K. Salnikow, A. Zhitkovich // Chem Res Toxicol. 2008; 21(1): 28–44. DOI: 10.1021/tx700198a.

Sankar Ray, R. Suppression of cell proliferation, DNA protein cross-links, and induction of apoptosis by vanadium in chemical rat mammary carcinogenesis / R. Sankar Ray, S. Roy, S. Ghosh [et al.] // Biochim Biophys Acta. 2004; 1675(1-3): 165–173. DOI: 10.1016/j.bbagen.2004.09.004.

Santonen, T. HBM4EU chromates study – Overall results and recommendations for the biomonitoring of occupational exposure to hexavalent chromium / T. Santonen, S.P. Porras, B. Bocca [et al.] // Environ Res. 2022; 204: 111984. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111984.

Sarma, S.N. Gene expression profiles of human promyelocytic leukemia cell lines exposed to volatile organic compounds / S.N. Sarma, Y.J. Kim, J.C. Ryu // Toxicology. 2010; 271(3): 122–130. DOI: 10.1016/j.tox.2010.03.014.

Sarma, S.N. Induction of apoptosis in human leukemia cells through the production of reactive oxygen species and activation of HMOX1 and Noxa by benzene, toluene, and o-xylene / S.N. Sarma, Y.J. Kim, M. Song, J.C. Ryu // Toxicology. 2011; 280(3): 109–117. DOI: 10.1016/j.tox.2010.11.017.

Schecter, A. Polyfluoroalkyl compounds in Texas children from birth through 12 years of age / A. Schecter, N. Malik-Bass, A.M. Calafat [et al.] // Environ Health Perspect. 2012; 120(4): 590–594. DOI: 10.1289/ehp.1104325.

Schmidt, J.V. Ah receptor signaling pathways / J.V. Schmidt, C.A. Bradfield // Annu Rev Cell Dev Biol. 1996; 12: 55–89. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.12.1.55.

Semenza, G.L. Regulation of mammalian O_2 homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 / G.L. Semenza // Annu Rev Cell Dev Biol. 1999; 15: 551–578. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.15.1.551.

Shang, J. Cucurbitacin E ameliorates lipopolysaccharide-evoked injury, inflammation and MUC5AC expression in bronchial epithelial cells by restraining the HMGB1-TLR4-NF-κB signaling / J. Shang, W. Liu, C. Yin [et al.] // Mol Immunol. 2019; 114: 571–577. DOI: 10.1016/j.molimm.2019.09.008.

Shaw, C.A. Aluminum-induced entropy in biological systems: implications for neurological disease / C.A. Shaw, S. Seneff, S.D. Kette [et al.] // J Toxicol. 2014; 2014: 491316. DOI: 10.1155/2014/491316.

Shield, A.J. A recombinant model for assessing the role of GSTM1 in styrene-7,8-oxide toxicity and mutagenicity / A.J. Shield, B.J. Sanderson // Toxicology. 2004; 195(1): 61–68. DOI: 10.1016/j.tox.2003.08.010.

Shield, A.J. Role of glutathione-S-transferase mu (GSTM1) in styrene-7,8-oxide toxicity and mutagenicity / A.J. Shield, B.J. Sanderson // Environ Mol Mutagen. 2001; 37(4): 285–289. DOI: 10.1002/em.1034.

Shim, H. c-Myc transactivation of LDH-A: implications for tumor metabolism and growth / H. Shim, C. Dolde, B.C. Lewis [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. 1997; 94(13): 6658–6663. DOI: 10.1073/pnas.94.13.6658.

Shivarajashankara, Y.M. Lipid peroxidation and antioxidant systems in the blood of young rats subjected to chronic fluoride toxicity / Y.M. Shivarajashankara, A.R. Shivashankara, P.G. Bhat [et al.] // Indian J Exp Biol. 2003; 41(8): 857–860.

Shrivastava, H.Y. Cytotoxicity studies of chromium(III) complexes on human dermal fibroblasts / H.Y. Shrivastava, T. Ravikumar, N. Shanmugasundaram [et al.] // Free Radic Biol Med. 2005; 38(1): 58–69. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.09.029.

Sian, J. Alterations in glutathione levels in Parkinsons disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia / J. Sian, D.T. Dexter, A.J. Lees [et.al.] // Ann Neurol. 1994; 36(3): 348–355. DOI: 10.1002/ana.410360305.

Singhal, R.K. Glutathione, a first line of defense against cadmium toxicity / R.K. Singhal, M.E. Anderson, A. Meister // FASEB J. 1987; 1(3): 220–223. DOI: 10.1096/fasebj.1.3.2887478.

Sloot, W.N. Manganese-induced hydroxyl radical formation in rat striatum is not attenuated by dopamine depletion or iron chelation in vivo. / W.N. Sloot, J. Korf, J.F. Koster [et al.] // Exp Nurol. 1996; 138(2): 236–245. DOI: 10.1006/exnr.1996.0062.

Smith, M.T. Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene / M.T. Smith, L. Zhang, Y. Wang [et al.] // Cancer Res. 1998; 58(10): 2176–2181.

Smith, M.T. The mechanism of benzene-induced leukemia: a hypothesis and speculations on the causes of leukemia / M.T. Smith // Environ Health Perspect. 1996; 104(6): 1219–1225. DOI: 10.1289/ehp.961041219.

Snyder, R. An overview of benzene metabolism / R. Snyder, C.C. Hedli // Environ Health Perspect. 1996; 104(6): 1165–1171. DOI: 10.1289/ehp.961041165.

Song, X. Molecular mechanisms of nickel induced neurotoxicity and chemoprevention / X. Song, S.S.F. Kenston, L. Kong, J. Zhao // Toxicology. 2017; 392: 47–54. DOI: 10.1016/j.tox.2017.10.006.

Souza-Monteiro, D. Salivary Glands after Prolonged Aluminum Exposure: Proteomic Approach Underlying Biochemical and Morphological Impairments in Rats / D. Souza-Monteiro, M.C.D.S. Guerra, L.O. Bittencourt [et al.] // Int J Mol Sci. 2022; 23(4): 2251. DOI: 10.3390/ijms23042251.

Spatari, G. Increased serum levels of advanced oxidation protein products and glycation end products in subjects exposed to low-dose benzene / G. Spatari, S. Saitta, F. Cimino [et al.] // Int J Hyg Environ Health. 2012; 215(3): 389–392. DOI: 10.1016/j.ijheh.2011.11.001.

Spears, J.W. Interaction between nickel and copper in the rat / J.W. Spears, E.E. Hatfield // Biol trace elem res. 1985; 7(3): 181–193. DOI: 10.1007/BF02916540.

Spina, M.B. Dopamine turnover and glutathione oxidation: implication for Parkinsons disease / M.B. Spina, G. Cohen // Proc Natl Acad Sci USA. 1989; 86(4): 1398–1400. DOI: 10.1073/pnas.86.4.1398.

Stern, B.R. Essentiality and toxicity in copper health risk assessment: overview, update and regulatory considerations / B.R. Stern // Toxicol Environ Health A. 2010; 73(2): 114–127. DOI: 10.1080/15287390903337100.

Strunecká, A. Fluoride plus aluminum: useful tools in laboratory investigations, but messengers of false information / A. Strunecká, O. Strunecký, J. Patočka // Physiol Res. 2002; 51(6): 557–564.

Sturla, S.J. Systems toxicology: from basic research to risk assessment / S.J. Sturla, A.R. Boobis, R.E. FitzGerald [et al.] // Chem Res Toxicol. 2014; 27(3): 314–329. DOI: 10.1021/tx400410s.

Subrahmanyam, V.V. Potential role of free radicals in benzene-induced myelotoxicity and leukemia / V.V. Subrahmanyam, D. Ross, D.A. Eastmond, M.T. Smith // Free Radic Biol Med. 1991; 11(5): 495–515. DOI: 10.1016/0891-5849(91)90063-9.

Sumner, J.S. Review of the metabolic fate of styrene / J.S. Sumner, T.R. Fennell // Crit Rev Toxicol. 1994; 24: 11–33. DOI: 10.3109/10408449409020138.

Sun, Z. Fluoride-induced apoptosis and gene expression profiling in mice sperm in vivo / Z. Sun, R. Niu, B. Wang [et al.] // Arch Toxicol. 2011; 85(11): 1441–1452. DOI: 10.1007/s00204-011-0672-7.

Suzuki, M. Fluoride induces oxidative damage and SIRT1/autophagy through ROS-mediated JNK signaling / M. Suzuki, C. Bandoski, J.D. Bartlett // Free Radic Biol Med. 2015; 89: 369–378. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.08.015.

Taioli, E. Molecular markers of exposure to cadmium and nickel among alkaline battery workers / E. Taioli, K. Frenkel, C. Tagesson [et al.] // Biomarkers. 1998; 3(2): 129–140. DOI: 10.1080/135475098231282.

Tchounwou, P.B. Copper-induced cytotoxicity and transcriptional activation of stress genes in human liver carcinoma (HepG(2)) cells / P.B. Tchounwou, C. Newsome, J. Williams, K. Glass // Met Ions Biol Med. 2008; 10: 285–290.

Tchounwou, P.B. Heavy metal toxicity and the environment / P.B Tchounwou, C.G. Yedjou, A.K. Patlolla, D.J. Sutton // Exp Suppl. 2012; 101: 133–164. DOI: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6.

Templeton, D.M. Multiple roles of cadmium in cell death and survival / D.M. Templeton, Y. Liu // Chemico-Biological Interactions. 2010; 188(2): 267–275. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.03.040.

Terenzi, F. Distinct induction patterns and functions of two closely related interferon-inducible human genes, ISG54 and ISG56 / F. Terenzi, D.J. Hui, W.C. Merrick, G.C. Sen // J Biol Chem. 2006; 281(45): 34064–34071. DOI: 10.1074/jbc.M605771200.

Tkachenko, H. Elemental status and lipid peroxidation in the blood of children with endemic fluorosis / H. Tkachenko, N. Kurhaluk, N. Skaletska [et al.] // Biol Trace Elem Res. 2021; 199(4): 1237–1245. DOI: 10.1007/s12011-020-02243-3.

Tomkiewicz, C. The aryl hydrocarbon receptor regulates focal adhesion sites through a non-genomic FAK/Src pathway / C. Tomkiewicz, L. Herry, L.C. Bui [et al.] // Oncogene. 2013; 32: 1811–1820. DOI: 10.1038/onc.2012.197.

Toxicological Profile for Copper / U.S. Department Health and Human Services. Public Health Services Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, 2022. 362 p.

Tsvetkov, P. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins / P. Tsvetkov, S. Coy, B. Petrova [et al.] // Science. 2022; 375(6586): 1254–1261. DOI: 10.1126/science.abf0529.

Tubbs, A. Endogenous DNA Damage as a Source of Genomic Instability in Cancer / A. Tubbs, A. Nussenzweig // Cell. 2017; 168(4): 644–656. DOI: 10.1016/j.cell.2017.01.002.

Tumolo, M. Chromium Pollution in European Water, Sources, Health Risk, and Remediation Strategies: An Overview / M. Tumolo, V. Ancona, D. De Paola [et al.] // Int J Environ Res Public Health. 2020; 17(15): 5438. DOI: 10.3390/ijerph17155438.

Umarani, V. Rutin potentially attenuates fluoride-induced oxidative stress-mediated cardiotoxicity, blood toxicity and dyslipidemia in rats / V. Umarani, S. Muvvala, A Ramesh [et al.] // Toxicol Mech Methods. 2015; 25(2): 143–149. DOI: 10.3109/15376516.2014.1003359.

Valko, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer / M. Valko, C.J. Rhodes, J. Moncol [et al.] // Chem Biol Interact. 2006; 160(1): 1–40. DOI: 10.1016/j.cbi.2005.12.009.

Varaksin, A.N. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead / A.N. Varaksin, B.A. Katsnelson, V.G. Panov [et al.] // Food Chem Toxicol. 2014; 64: 144–156. DOI: 10.1016/j.fct.2013.11.02.

Vasak, M. Encyclopedia of Inorganic Chemistry / M. Vasak, J.H.R. Kägi; R.B. King (eds). NewYork: John Wiley and Sons Ltd, 1994: 2229–2241. ISBN: 0471936200, 9780471936206.

Verma, N. Review on proteomic analyses of benzo[a]pyrene toxicity / N. Verma, M. Pink, A.W. Rettenmeier, S. Schmitz-Spanke // Proteomics. 2012; 12(11): 1731–1755. DOI: 10.1002/pmic.201100466.

Vogel, C.F. A new cross-talk between the aryl hydrocarbon receptor and RelB, a member of the NF-kappaB family / C.F. Vogel, F. Matsumura // Biochem Pharmacol. 2009; 77: 734–745. DOI: 10.1016/j.bcp.2008.09.036.

Wallin, M. Low-level cadmium exposure and effects on kidney function / M. Wallin, G. Sallsten, T. Lundh, L. Barregard // Occup Environ Med. 2014; 71(12): 848–854. DOI: 10.1136/oemed- 2014-102279.

Walton, J.R. APP expression, distribution and accumulation are altered by aluminum in a rodent model for Alzheimer's disease / J.R. Walton, M.X. Wang // J Inorg Biochem. 2009; 103(11): 1548–1554. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2009.07.027.

Wang, B. How Do Metalloproteins Tame the Fenton Reaction and Utilize •OH Radicals in Constructive Manners? / B. Wang, X. Zhang, W. Fang [et al.] // Acc Chem Res. 2022; 55(16): 2280–2290. DOI: 10.1021/acs.accounts.2c00304.

Wang, H. Fluoride-induced thyroid dysfunction in rats: roles of dietary protein and calcium level / H. Wang, Z. Yang, B. Zhou [et al.] // Toxicol Ind Health. 2009; 25(1): 49–57. DOI: 10.1177/0748233709102720.

Wang, H. The molecular mechanism of AhR-ARNT-XREs signaling pathway in the detoxification response induced by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in clam Ruditapes philippinarum / H. Wang, L. Pan, X. Zhang [et al.] // Environ Res. 2020; 183: 109165. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109165.

Wang, L. Effects of aluminium on β-amyloid (1-42) and secretases (APP-cleaving enzymes) in rat brain / L. Wang, J. Hu, Y. Zhao [et al.] // Neurochem Res. 2014; 39(7): 1338–1345. DOI: 10.1007/s11064-014-1317-z.

Wang, L. Vanadium-induced apoptosis and pulmonary inflammation in mice: role of reactive oxygen species / L. Wang, D. Medan, R. Mercer [et al.] // J Cell Physiol. 2003; 195(1): 99–107. DOI: 10.1002/jcp.10232.

Wang, X. Predicting the combined toxicity of binary metal mixtures (Cu–Ni and Zn–Ni) to wheat / X. Wang, X. Luo, Q. Wang [et al.] // Ecotoxicol Environ Saf. 2020; 205: 111334. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111334.

Warburg, O. On respiratory impairment in cancer cells / O. Warburg // Science. 1956; 124(3215): 269–270.

Waugh, D.T. Fluoride exposure induces inhibition of sodium-and potassium-activated adenosine triphosphatase (Na+,K+-ATPase) enzyme activity: molecular mechanisms and implications for public health / D.T. Waugh // Int J Environ Res Public Health. 2019; 16(8): 1427. DOI: 10.3390/ijerph16081427.

Wei, H. Copper induces--and copper chelation by tetrathiomolybdate inhibits--endothelial activation in vitro / H. Wei, W.J. Zhang, R. Leboeuf, B. Frei // Redox Rep. 2014; 19(1): 40–48. DOI: 10.1179/1351000213Y.0000000070.

WHO, 2017. Chemical mixtures in source water and drinking-water [Электронный ресурс]. Geneva: World Health Organization, 2017. 81 p. URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789241512374 (дата обращения 15.12.2025).

WHO, 2021. A screening tool for assessment of health risks from exposure to multiple chemicals in indoor air in public settings for children: methodological approach [Электронный ресурс]. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2021. URL: https://www.who.int/europe/publications/i/item/9789289055611 (дата обращения 12.12.2025).

Xie, G. Integration of whole-genome sequencing and functional screening identifies a prognostic signature for lung metastasis in triple-negative breast cancer / G. Xie, H. Yang, D. Ma [et al.] // Int J Cancer. 2019; 145(10): 2850–2860. DOI: 10.1002/ijc.32329.

Xu, Z. Nickel promotes the invasive potential of human lung cancer cells via TLR4/MyD88 signaling / Z. Xu, T. Ren, C. Xiao [et al.] // Toxicology. 2011; 285(1-2): 25–30. DOI: 10.1016/j.tox.2011.03.016.

Yang, C.A. Correlation of copper interaction, copper-driven aggregation, and copper-driven H2O2 formation with Aβ40 conformation / C.A. Yang, Y.H. Chen, S.C. Ke [et al.] // Int J Alzheimers Dis. 2010; 2011: 607861. DOI: 10.4061/2011/607861.

Yang, Q. Cuprous oxide nanoparticles trigger ER stress-induced apoptosis by regulating copper trafficking and overcoming resistance to sunitinib therapy in renal cancer / Q. Yang, Y. Wang, Q. Yang [et al.] // Biomaterials. 2017; 146: 72–85. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.09.008.

Yang, X. Bone impairment caused by $AlCl_3$ is associated with activation of the JNK apoptotic pathway mediated by oxidative stress / X. Yang, K. Yu, H. Wang [et al.] // Food Chem Toxicol. 2018; 116(Pt B): 307–314. DOI: 10.1016/j.fct.2018.04.057.

Ye, J. Induction of TNF alpha in macrophages by vanadate is dependent on activation of transcription factor N-F-kappa B and free radical reactions / J. Ye, M. Ding, X. Zhang [et al.] // Mol Cell Biochem. 1999; 198(1-2): 193–200. DOI: 10.1023/a:1006969008056.

Yeowell-O'Connell, K. Determination of albumin and hemoglobin adducts in workers exposed to styrene and styrene oxide / K. Yeowell-O'Connell, Z. Jin, S.M. Rappaport // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1996; 5(3): 205–215.

Yoon, B.I. Aryl hydrocarbon receptor mediates benzene-induced hematotoxicity / B.I. Yoon, Y. Hirabayashi, Y. Kawasaki [et al.] // Toxicol Sci. 2002; 70 (1): 150–156. DOI: 10.1093/toxsci/70.1.150.

Yu, H. Melatonin alleviates aluminium chloride-induced immunotoxicity by inhibiting oxidative stress and apoptosis associated with the activation of Nrf2 signaling pathway / H. Yu, J. Zhang, Q. Ji [et al.] // Ecotoxicol Environ Saf. 2019; 173: 131–141. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.095.

Zaeemzadeh, N. Comparison of dietary micronutrient intake in PCOS patients with and without metabolic syndrome / N. Zaeemzadeh, S. Jahanian Sadatmahalleh, S. Ziaei [et al.] // J Ovarian Res. 2021; 14(1): 10. DOI: 10.1186/s13048-020-00746-0.

Zaky, A. Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 is a key modulator of aluminum-induced neuroinflammation / A. Zaky, B. Mohammad, M. Moftah [et al.] // BMC Neurosci. 2013; 14: 26. DOI: 10.1186/1471-2202-14-26.

Zambelli, B. Nickel impact on human health: An intrinsic disorder perspective / B. Zambelli, V.N. Uversky, S. Ciurli // Biochim Biophys Acta. 2016; 1864(12): 1714–1731. DOI: 10.1016/j.bbapap.2016.09.008.

Zhan, X.A. Evaluation of caspase-dependent apoptosis during fluoride-induced liver lesion in pigs / X.A. Zhan, M. Wang, Z.R. Xu [et al.] // Arch Toxicol. 2006; 80(2): 74–80. DOI: 10.1007/s00204-005-0019-3.

Zhang, L. Benzene metabolite, 1,2,4-benzenetriol, induces micronuclei and oxidative DNA damage in human lymphocytes and HL60 cells / L. Zhang, M.L. Robertson, P. Kolachana [et al.] // Environ Mol Mutagen. 1993; 21(4): 339–348. DOI: 10.1002/em.2850210405.

Zhang, L. Effects of subchronic aluminum exposure on spatial memory, ultrastructure and L-LTP of hippocampus in rats / L. Zhang, C. Jin, Q. Liu [et al.] // J Toxicol Sci. 2013; 38(2): 255–268. DOI: 10.2131/jts.38.255.

Zhang, L. Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene / L. Zhang, N. Rothman, Y. Wang [et al.] // Carcinogenesis. 1998; 19(11): 1955–1961. DOI: 10.1093/carcin/19.11.1955.

Zhang, L. The nature of chromosomal aberrations detected in humans exposed to benzene / L. Zhang, D.A. Eastmond, M.T. Smith // Crit Rev Toxicol. 2002; 32(1): 1–42. DOI: 10.1080/20024091064165.

Zhang, Q.L. Effect of aluminum on neuronal mitochondria of rats / Q.L. Zhang, P.Y. Niu, Q. Niu, L.P. Wang // Wei Sheng Yan Jiu. 2005; 34(6): 674–677.

Zhang, X. Toll-like receptor 4 deficiency causes pulmonary emphysema / X. Zhang, P. Shan, G. Jiang [et al.] // J Clin Invest. 2006; 116(11): 3050–3059. DOI: 10.1172/JCI28139.

Zhang, Y.L. Genes associated with sodium fluoride-induced human osteoblast apoptosis / Y.L. Zhang, Q. Luo, Q. Deng [et al.] // Int J Clin Exp Med. 2015; 8(8): 13171–13178.

Zhao, J. Effects of benzo(a)pyrene on apoptosis of neuronal cells and expression of Bcl-2 and Bax proteins in rat brain tissue / J. Zhao, L.P. Wang, J.S. Nie, Q. Niu // Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi. 2011; 29(11): 820–824.

Zheng, W. Alteration of iron homeostasis following chronic exposure to manganese in rats / W. Zheng, Q. Zhao, V. Slavkovich [et al.] // Brain Res. 1999; 833(1): 125–132. DOI: 10.1016/s0006-8993(99)01558-9.

Zheng, W. Iron overload following manganese exposure in cultured neuronal, but not neuroglial cell / W. Zheng, Q. Zhao // Brain Res. 2001; 897(1-2): 175–179. DOI: 10.1016/s0006-8993(01)02049-2.

Zheng, W. Manganese inhibits mitochondrial aconitase: a mechanism of manganese neurotoxicity / W. Zheng, S. Ren, J.H. Graziano // Brain Res. 1998; 799(2): 334–342. DOI: 10.1016/s0006-8993(98)00481-8.

Zhong, G. Copper Exposure Induced Chicken Hepatotoxicity: Involvement of Ferroptosis Mediated by Lipid Peroxidation, Ferritinophagy, and Inhibition of FSP1-CoQ10 and Nrf2/SLC7A11/GPX4 Axis / G. Zhong, Y. Li, F. Ma [et al.] // Biol Trace Elem Res. 2024; 202(4): 1711–1721. DOI: 10.1007/s12011-023-03773-2.

Zhong, G. Cuproptosis is involved in copper-induced hepatotoxicity in chickens / G. Zhong, L. Li, Y. Li [et al.] // Sci Total Environ. 2023; 866: 161458. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.161458.

Živanov-Čurlis, J. The Influence of Long-Term Intake of Copper and Chromium Compounds on Reproductive Ability and Development of Drosophila Melanogaster / J. Živanov-Čurlis, J. Tomin, P. Vasiljević [et al.] // Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2006; 20(2): 62–66. DOI: 10.1080/13102818.2006.10817343.

Zong, W.X. BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak / W.X. Zong, T. Lindsten, A.J. Ross [et al.] // Genes Dev. 2001; 15(12): 1481–1486. DOI: 10.1101/gad.897601.

Zuo, H. Toxic effects of fluoride on organisms / H. Zuo, L. Chen, M. Kong [et al.] // Life Sci. 2018; 198: 18–24. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.02.001.

ГЛАВА 3

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АНАЛИЗА ВАРИАТИВНОСТИ ПРОТЕОМА: ПОДХОДЫ И ИНСТРУМЕНТЫ

3.1. Сквозная экспериментальная платформа: от пробоподготовки до количественного масс-спектрометрического анализа

Протеомный анализ представляет собой междисциплинарный методологический подход, позволяющий получить всестороннюю характеристику белкового состава биологического образца – от идентификации отдельных белков до количественной оценки их экспрессии и посттрансляционных модификаций.

В современной гигиене окружающей среды, биомедицине, токсикологии, фундаментальной биологии протеомика выступает приоритетным аналитическим инструментом для реализации ряда ключевых задач:

- выявления биомаркеров заболеваний;
- изучения механизмов действия токсикантов, лекарственных средств и др.;
- анализа клеточных сигнальных путей;
- оценки и прогноза ответа организма на внешние воздействия;
- разработки персонализированных профилактических стратегий.

Стандартный анализ включает в себя ряд последовательно реализуемых этапов [Пескова Е.В., 2021]:

1) отбор и подготовка биологического материала – обеспечение репрезентативности образца и минимизация артефактов, экстракция и денатурация белков – высвобождение белков из клеточных структур и разрушение их вторичной/третичной конформации;

2) ферментативное расщепление (чаще всего трипсином) – расщепление белков до пептидов для повышения разрешающей способности анализа;

3) разделение пептидных смесей методом жидкостной хроматографии (ВЭЖХ/УВЭЖХ) – фракционирование пептидов по физико-химическим свойствам;

4) масс-спектрометрический анализ (MS/MS) – детектирование пептидов, определение их массы и аминокислотной последовательности;

5) биоинформационная обработка данных – идентификация белков, количественный анализ, статистическая валидация и функциональная аннотация.

Следовательно, протеомный анализ сочетает высокотехнологичные методы разделения и детектирования с продвинутой биоинформатикой, обеспечивая глубокое понимание белковых сетей в норме и патологии. Грамотный выбор биологического материала служит фундаментом для получения достоверных и значимых результатов.

Критерии выбора биологического материала

Выбор источника биологического материала является критически важным этапом, определяющим достоверность и воспроизводимость результатов. Приоритетными являются образцы, отвечающие следующим требованиям [Сучков С.В. и др., 2013; Оловянникова Р.Я. и др., 2015]:

– малоинвазивность забора – минимизация риска стрессогенных эффектов для индивидуума (например, слюна, моча);

– простота и стандартизация процедуры – снижение вариабельности, связанной с техникой отбора;

– стабильность белкового профиля при хранении и транспортировке – устойчивость к деградации, агрегации и посттрансляционным изменениям (требуется соблюдение температурных режимов, использование ингибиторов протеаз);

– репрезентативность – соответствие исследуемым биологическим процессам (например, биопсия опухоли для изучения опухолевого протеома, сыворотка крови для системного скрининга);

– доступность и масштабируемость – возможность повторного забора и анализа больших когорт.

Предпочтение отдается образцам, забор которых является малоинвазивным, простым в выполнении, стандартизированным и обеспечивающим стабильность белкового профиля на этапах хранения и транспортировки [Сучков С.В. и др., 2013; Оловянникова Р.Я. и др., 2015].

Примеры биологических материалов в протеомных исследованиях: жидкости организма (сыворотка/плазма крови, моча, слюна, спинномозговая жидкость, бронхоальвеолярный лаваж, слёзная жидкость, пот, грудное молоко), тканевые образцы (биопсии, замороженные или фиксированные срезы, клеточные культуры), субклеточные фракции (митохондрии, ядерные экстракты, мембранные белки).

Биологические жидкости

Сыворотка крови, несмотря на свою широкую распространённость в качестве биосубстрата для протеомного анализа, представляет собой исключительно сложный объект для масс-спектрометрии. Ограничением является широкий динамический диапазон концентрации белков. Разница между уровнем высоко представленных белков, таких как альбумин и иммуноглобулины, и низко представленными белками может достигать 10-12 порядков. Помимо этого, сыворотка крови содержит большое количество мешающих компонентов, таких как липиды, соли и метаболиты. Всё это обуславливает необходимость применения специализированных и многостадийных протоколов пробоподготовки, направленных на удаление основных белков и очистку пептидной смеси для получения надёжных и воспроизводимых данных [Сорокина А.В. и др., 2011; Оловянникова Р.Я. и др., 2015; Сазонова Н.Г. и др., 2019].

Плазма крови является наиболее распространённым биосубстратом для выявления биомаркеров патологических состояний и исследования патогенеза заболеваний. Это обусловлено несколькими факторами. Во-первых, плазма

крови является универсальной жидкой средой организма, включающей в себя информацию обо всех органах и тканях. Во-вторых, её высокая доступность делает плазму крови удобным объектом для рутинной практики и масштабных исследований. Считается, что изменения в протеомном составе плазмы крови могут отражать патологические процессы, протекающие в организме, поскольку количественные и качественные колебания концентраций специфических белков ассоциированы с конкретными заболеваниями [Сазонова Н.Г. и др., 2019]. Однако трудности протеомного анализа плазмы крови схожи с исследованиями сыворотки. В плазме также встречается широкий динамический диапазон высоко представленных белков, превышающий 10 порядков. Альбумин, иммуноглобулин и фибриноген составляют 90 % белкового пула, маскируя низко представленные, но зачастую наиболее биологически значимые белки. Поэтому первоочередной задачей при исследовании протеома плазмы крови становится предварительное обогащение низко представленных белков. Для этого применяются протоколы пробоподготовки, направленные на удаление основных белков и последующую очистку и фракционирование оставшейся пептидной смеси. Это является необходимым условием для получения надежных и воспроизводимых данных о полном белковом составе плазмы крови.

Моча считается перспективным биосубстратом для протеомного анализа [Fliser D. et al., 2007; Good D.M. et al., 2010; Захарова Н.Б. и др., 2017]. Её преимуществом являются неинвазивность и простота сбора, а также относительная стабильность белкового состава по сравнению с другими биосубстратами. На сегодняшний день в моче идентифицировано более 3 тысяч различных белков, что делает её источником потенциальных биомаркеров для исследования широкого спектра патологических процессов. Однако протеомный состав мочи обладает высокой физиологической вариабельностью, которая усложняет интерпретацию данных. Она обусловлена комплексом факторов, таких как суточные ритмы, диета, физические нагрузки, метаболический статус и межиндивидуальные различия. В связи с этим для получения статистически верных и достоверных результатов необходима строгая стандартизация на всех этапах. Необходимо унифицировать время сбора мочи (предпочтительно утренняя порция), немедленно обработать и стабилизировать полученные образцы для предотвращения протеолиза, нормализовать данные относительно концентраций креатинина или удельного веса мочи для коррекции различий в гидрации организма. Такой комплексный подход позволяет минимизировать «помехи», вызванные физиологическими колебаниями, и выявить значимые изменения протеомного профиля мочи, ассоциированные с патологическими процессами в организме.

Тканевые образцы. Преимущество биоптата ткани заключается в способности напрямую отражать локальные патофизиологические изменения. В отличие от биожидкостей, анализ тканей позволяет получить информацию о конкретной клеточной популяции, их функциональном состоянии, взаимодействиях и модификациях белков. Однако использование образцов тканей имеет ряд ограничений. Главным из них является инвазивность процедуры забора,

что делает их малоприменимыми для многочисленных исследований, в отличие от образцов крови и мочи.

Протеомный профиль тканей также характеризуется доминированием широко представленных белков – актина, тубулина, коллагенов и др. Они могут маскировать сигнал низко представленных белков, представляющих наибольший интерес в качестве маркеров. Кроме этого, структура ткани часто неоднородна и может включать различные типы клеток. Поэтому необходимо тщательно выбирать тип образца тканей, проводить специализированную пробоподготовку, в том числе гомогенизацию, и строго соблюдать протокол забора ткани, чтобы минимизировать изменения в протеоме [Таипов М.А. и др., 2015; Khan G.H. et al., 2015].

Пробоподготовка биообразцов для протеомного анализа: этапы на примере плазмы крови

Основная цель пробоподготовки – упростить сложную белковую смесь, удалить мешающие компоненты и перевести белки в форму, пригодную для аналитических методов (жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии, 2D-электрофореза). Пошаговое описание ключевых этапов на примере плазмы крови включает:

1. Забор и первичная обработка крови

• антикоагулирование – кровь собирают в пробирки с ЭДТА или цитратом натрия; гепарин не рекомендуется: он прочно связывается с белками и может подавлять последующее ферментативное переваривание;

• центрифугирование – пробирки центрифугируют при +4°С, чтобы предотвратить деградацию белка, в результате образуются три слоя: верхний – плазма, промежуточный (тонкий) – лейкоцитарная плёнка, нижний – форменные элементы крови;

• аликвотирование и хранение – плазму разливают на малые аликвоты (50–100 мкл), чтобы избежать повторных циклов заморозки-оттаивания, хранят при − 80°С.

2. Удаление широко представленных белков

Из плазмы необходимо исключить доминирующие белки (альбумин, иммуноглобулины, трансферрин, гаптоглобин и др.), которые затмевают низкоабундантные мишени. Применяют два основных метода:

• иммуноаффинная хроматография – плазму пропускают через картридж или спин-колонку с иммобилизованными антителами против целевых белков, связанные белки удаляются, а обедненная фракция собирается для дальнейшего анализа;

• осаждение органическими растворителями – широко представленные белки осаждают и удаляют центрифугированием.

3. Очистка и обессоливание

Необходимо удалить небелковые примеси (соли, липиды, антикоагулянты, метаболиты), мешающие масс-спектрометрическому анализу:

• осаждение холодным ацетоном. Очищенный белковый осадок, свободный от большинства низкомолекулярных загрязнителей.

4. Денатурация, восстановление и алкилирование – подготовка белков к ферментативному расщеплению

• денатурация – высушенный белковый осадок инкубируют в буфере, разрушающем вторичную и третичную структуру белка, это делает сайты расщепления доступными для фермента;

• восстановление – разрывают дисульфидные связи (S–S) с помощью восстановителей (например, дитиотреитола, DTT);

• алкилирование – модифицируют свободные SH-группы цистеина (например, иодацетамидом), чтобы предотвратить повторное образование дисульфидных связей.

5. Ферментативное расщепление

Белки расщепляют на пептиды, которые лучше ионизируются, разделяются при хроматографии и детектируются в масс-спектрометре.

• Фермент: чаще всего используют трипсин (расщепляет по остаткам лизина и аргинина);

• Остановка реакции: подкисление образца для снижения pH и инактивации трипсина.

6. Очистка пептидов

• твердофазная экстракция – удаляют соли, детергенты и продукты распада мочевины;

• вымораживание в вакуумном концентраторе – устраняют ацетонитрил, получают сухой остаток;

• растворение – сухой остаток помещают в раствор для загрузки в хроматографическую систему.

7. Готовый образец для анализа

Итоговый продукт – очищенная смесь пептидов, отражающая исходный белковый состав плазмы. Её используют для:

• жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (LC-MS/MS);

• других методов, требующих пептидных фрагментов.

Особенности пробоподготовки для двумерного гель-электрофореза (2D-электрофореза)

При исследовании протеомного состава плазмы методом 2D-электрофореза пробоподготовка принципиально отличается. Ее задача – сохранить белки в нативной форме, с естественным зарядом и молекулярной массой. Ключевые отличия:

• избегают денатурации и восстановления, чтобы не нарушить третичную структуру;

• минимизируют химические модификации (алкилирование и т. п.);

• фокусируются на сохранении изоэлектрических точек и молекулярных масс белков для корректного разделения в геле.

Этапы:

1. Мягкое лизирование (если требуется).

2. Удаление высокоабундантных белков (по необходимости).

3. Балансировка буфера для изоэлектрофокусирования.

4. Загрузка в IPG-стрипы (для первого направления – по заряду).

5. Перенос в SDS-PAGE-гель (для второго направления – по массе).

Выбор протокола пробоподготовки зависит от метода анализа: для LC-MS/MS нужна глубокая фрагментация и очистка, для 2D-электрофореза – сохранение нативных свойств белков. Грамотная пробоподготовка является критическим фактором качества и воспроизводимости протеомных данных.

Основные отличия пробоподготовки для LC-MS/MS и 2D-электрофореза представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1

Сравнение пробоподготовки для LC-MS/MS и 2D-электрофореза

Этап	Пробоподготовка для LC-MS/MS	Пробоподготовка для 2D-электрофореза
1	2	3
Постановка цели	Получение пептидной смеси для масс-спектрометрической идентификации и квантификации. Критический параметр – высокая эффективность ферментативного расщепления и чистота пептидов	Сохранение интактных нативных белков с их естественным зарядом и массой для разделения в геле. Критический параметр – растворимость белков и предотвращение любых модификаций, изменяющих заряд
Удаление широко представленных белков (деплеция)	Желательна. Проводится на уровне целых белков перед протеолизом	Крайне ограничена. Может неравномерно удалять белки и нарушать количественное соотношение. Применяется с осторожностью
Разрушение структуры белка и его перевод в раствор (денатурация и солюбилизация)	Используются сильные денатуранты с их полным удалением перед протеолизом	Используется мочевина для растворения, но белки остаются в денатурированном состоянии
Использование детергентов	Избегаются! Детергенты несовместимы с MS, так как подавляют ионизацию	Обязательны! Критически важны для солюбилизации мембранных и гидрофобных белков
Восстановление дисульфидных связей и алкилирование цистеинов	Проводится в буфере с мочевиной. Алкилирование необходимо для модификации цистеинов и предотвращения повторного образования дисульфидных связей	Проводится в буфере для набухания геля. Алкилирование тщательно контролируется, так как переалкилирование может сместить точку белка в геле

Окончание таблицы 3.1

1	2	3
Регидратация иммобилизированого градиента pH и изоэлектрическое фокусирование	Не требуется	Обязательный этап. Образец наносится на иммобилизованные pH-градиенты (IPG) полоски. Белки останавливаются в своей точке изоэлектрической фокусировки
Ферментативное расщепление (протеолиз)	Проводится в растворе	Проводится после электрофореза. Белки вырезаются из геля
Определение формата конечного образца	Очищенная смесь пептидов в растворе, готовая для прямого ввода в хромато-масс-спектрометр	Белки, разделенные в 2D-геле. Каждое пятно вырезается, расщепляется и экстрагируется для последующего MS-анализа

Несмотря на сложность пробоподготовки, 2D-электрофорез остаётся незаменимым методом в ряде ключевых сценариев протеомного анализа. Его уникальность обусловлена способностью раздельно визуализировать белковые изоформы, различающиеся по изоэлектрической точке (pI) и молекулярной массе. Следовательно, метод пробоподготовки определяется конечной аналитической платформой и поставленными задачами.

Протеомика использует множество методов, которые можно классифицировать по задачам анализа: идентификация белков, количественная оценка, изучение посттрансляционных модификаций и белковых взаимодействий [Geyer P.E. et al., 2016; de Souza N., Picotti P., 2020; Low T.Y. et al., 2021a, 2021b; Землянова М.А. и др., 2022; Lee P.Y. et al., 2023].

Историческая справка

Еще в пятидесятые годы 20-го века появился метод определения аминокислотной последовательности пептидов путем ступенчатой деградации, который в настоящее время принято называть методом деградации Эдмана [Edman P. et al., 1949]. В начале 70-х годов появился метод разделения белков при помощи электрофореза в полиакриламидном геле (SDS-PAGE по Лэммли). Данный метод разделяет белки в зависимости от молекулярной массы, что позволяет увидеть сам протеом [Laemmli U.K., 1970].

Однако классическим методом является двумерный электрофорез. Разделение белков изучаемого биологического образца осуществляется в два этапа: первый – изоэлектрическое фокусирование, разделяющее белки по показателю изоэлектрической точки на полиакриламидных гелях-полосках с иммобилизированным градиентом pH; второй – электрофорез в полиакриламидном геле, разделяющий белки под действием электрического поля по показателю молекулярной массы. В результате получается карта белковых пятен. Далее интересующие пятна идентифицируют методом масс-спектрометрии [O'Farrell P.H., 1975].

В настоящее время масс-спектрометрия является ключевой аналитической платформой протеомных исследований. Анализ включает два этапа:

разделение пептидов и измерение массы. Тандемная масс-спектрометрия (MS/MS) позволяет определить массу пептида и его фрагментов, что даёт информацию об аминокислотной последовательности белка. Времяпролетную масс-спектрометрию с лазерной десорбцией/ионизацией с использованием матрицы (MALDI-TOF MS) часто используют для быстрой идентификации белков из пятен 2D-гелей [Bouatra S. et al., 2013].

Передовые технологии для протеомики включают белковые микрочипы (высокопроизводительный анализ тысяч белков одновременно), аптамеры и метод «проксимального удлинения цепи». Протеомная платформа SOMAscan использует модифицированные ДНК-аптамеры, известные как модифицированные аптамеры с низкой скоростью реакции (SOMAmer), в качестве реагентов для захвата белков для высокомультиплексного измерения широкого спектра белков-мишеней [Gold L. et al., 2012]. Анализ близорукости (ПЭА) – уникальная технология, разработанная Olink Proteomics, основанная на двойном распознавании целевого биомаркера методом «проксимального удлинения цепи» с парой антител, меченных уникальными ДНК-олигонуклеотидами и ПЦР-детектированием с помощью мультиплексного иммуноферментного анализа, что позволяет проводить высокопроизводительный анализ белковых биомаркеров [Smith J.G., Gerszten R.E., 2017]. Развитие технологий масс-спектрометрии привело к прогрессу в области протеомики отдельных клеток и пространственной протеомики, что позволяет характеризовать протеомы отдельных клеток и их локализации в тканях, т. е. пространственное распределение белков с высоким разрешением [Vistain L.F., Tay S., 2021].

В зависимости от задач протеомный анализ можно разделить на несколько направлений: идентификация белков, количественный анализ, ПТМ, белковые взаимодействия. Методы идентификации белков включают:

• «Bottom-up» протеомика – самый распространённый подход. С помощью него белки расщепляют ферментом до пептидов (например, трипсином), которые затем анализируют на масс-спектрометре, полученные данные сопоставляют с белковыми базами данных.

• «Top-down» протеомика, при которой белки разделяют без предварительного расщепления и напрямую анализируют в масс-спектрометре, позволяет детектировать ПТМ и изоформы белков.

• «Shotgun» протеомика. Смесь пептидов из образца сначала разделяют хроматографически, затем анализируют на тандемном масс-спектрометре. Данный метод позволяет идентифицировать тысячи белков за один запуск.

Ключевым направлением в протеомике является количественный анализ, задачей которого является не просто идентификация белков, а точное определение изменений их концентрации в сравниваемых образцах (например, здоровые/больные, контроль/опыт). Количественный анализ включает:

– метод на основе 2D-гель-электрофореза, позволяет количественно сравнить интенсивность белковых пятен на гелях после окрашивания;

– методы на основе масс-спектрометрии, основаны на меченых (Labeling: SILAC, iTRAQ/TMT) и безметковых (Label-free) технологиях.

Анализ ПТМ представляет собой одно из наиболее сложных и быстро развивающихся направлений в протеомике, поскольку именно ПТМ зачастую играют ключевую роль в регуляции активности, стабильности, локализации и функции белков. Методы анализа разделяют:

– анализ фософопротеома: используются аффинные методы обогащения пептидов;

– анализ гликопротеома: обогащение гликопептидов с последующим масс-спектрометрическим анализом;

– анализ убиквитилирования, ацетилирования и др.: применяются специфические антитела.

Понимание белковых взаимодействий является краеугольным камнем для расшифровки механизмов работы клетки, поскольку большинство биологических процессов осуществляется не отдельными белками, а сложными молекулярными комплексами. Методы анализа белковых взаимодействий включают:

– аффинную очистку с последующей масс-спектрометрией, когда один из белков используется как «приманка» для выделения его партнеров по взаимодействию из клеточного лизата с последующей идентификацией на масс-спектрометре;

– анализ ближайших соседей (proximity-based assays), позволяет идентифицировать белки, находящиеся в непосредственной близости и физически контактирующие с целевым белком в клетке (например, BioID, APEX).

Обобщение информации свидетельствует, что современная протеомика объединяет классические методы (2D-PAGE, SDS-PAGE), высокопроизводительные платформы (МС, микрочипы, аптамеры), специализированные подходы для анализа ПТМ и взаимодействий. Выбор конкретного метода или их комбинации зависит от задачи, типа образца и требуемой глубины анализа. Развитие технологий (особенно МС и мультиплексных методов) позволяет идентифицировать и количественно оценивать тысячи белков, детектировать редкие ПТМ, изучать белковые сети в контексте клеточных процессов, выявлять биомаркеры риск-ассоциированных нарушений и мишени воздействий для профилактики и коррекции негативных последствий.

Двумерный электрофорез в сочетании с масс-спектрометрией: принципы, методы и практическое применение

Как отмечено ранее, двумерный электрофорез в сочетании с масс-спектрометрией длительное время оставался одним из ключевых методов протеомного анализа. Основное преимущество данного подхода заключается в его высокой разрешающей способности, позволяющей в рамках одного эксперимента разделить до нескольких тысяч белковых форм (включая различные изоформы и продукты ПТМ), детектировать изоформы белков, выявлять продукты посттрансляционных модификаций [Wittmann-Liebold B. et al., 2006; Burke A.M. e al., 2015; Zhang H. et al., 2015; Zhao Y.Y., 2015].

Этапы анализа:

– разделение белков, иммобилизованных в геле (метод 2D-электрофореза), которое возможно по изоэлектрическому фокусированию (ИЭФ), т.е. разделение

по изоэлектрической точке (pI) в градиенте pH или разделение по молекулярной массе (SDS-PAGE). В результате получают карту белковых пятен, каждое из которых соответствует определённой белковой форме;

– визуализация белков в геле, осуществляемая высокочувствительными методами окрашивания с помощью красителей, таких как коллоидальный синий Кумасси (обеспечивает хорошую линейность и совместимость с последующей масс-спектрометрией), серебро (обнаруживает нанограммовые количества белка), флуоресцентные красители, позволяющие наносить на один гель до трех разных образцов, меченных различными флуорофорами, что значительно повышает точность количественной оценки и снижает вариабельность (современный стандарт) [Lauber W.M. et al., 2001; Stessl M. et al., 2009; Minden J.S., 2012];

– идентификация белков методом масс-спектрометрии, включающая вырезание из геля интересующих пятен, ферментативное расщепление (например, трипсином), анализ пептидов на MS/MS, сопоставление полученных данных с белковыми базами для идентификации.

Результат визуализации белков в геле для сравнительного анализа представлен на рисунке 3.1. На фрагменте двумерной электрофореграммы продемонстрирован участок геля с белковым пятном, идентифицированным как Катепсин L1. Данное сравнение проведено в рамках исследования протеомного профиля плазмы крови у детей, подвергающихся хронической аэрогенной экспозиции газообразных и твердых фтористых соединений [Землянова М.А. и др., 2022]. Изменение интенсивности данного пятна указывает на потенциальную ассоциацию уровня Катепсина L1 с исследуемым негативным воздействием. Сравнительный анализ позволил количественно оценить различия в экспрессии белка между экспонированными и неэкспонированными индивидуумами.

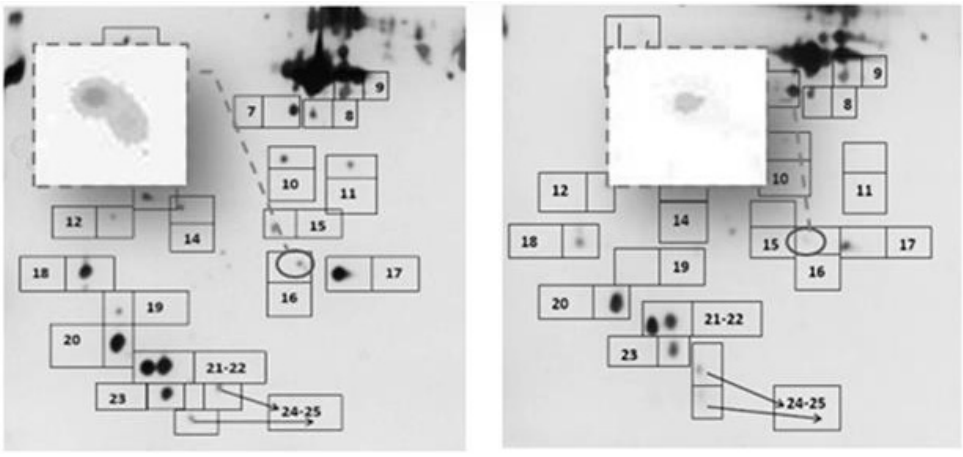


Рис. 3.1. Фрагмент двумерной электрофореграммы плазмы крови детей: а – индивид группы наблюдения; б – индивид группы сравнения. На области увеличения представлено белковое пятно, включающее белок Катепсин L1

Идентификация белков, заключающаяся в определении аминокислотной последовательности на основе анализа пептидов, является ключевым этапом в протеомном анализе. Для решения этой задачи используются специализированные алгоритмы поиска по базам данных, среди которых центральное место занимает база знаний UniProt (https://www.uniprot.org/). Это комплексный и централизованный ресурс, объединяющий информацию о белковых последовательностях и их функциях. Его основу составляет база знаний UniProt, которая, в свою очередь, состоит из двух тщательно курируемых разделов:

1. UniProtKB/Swiss-Prot – вручную аннотированный и рецензированный раздел, характеризующийся высоким уровнем точности. Каждая запись в Swiss-Prot содержит богатую аннотацию, включая функцию белка, его доменную структуру, ПТМ, варианты splicing и многое другое.

2. UniProtKB/TrEMBL – этот раздел содержит автоматически аннотированные и еще не прошедшие ручную проверку записи, полученные в результате трансляции нуклеотидных последовательностей из базы данных EMBL-Bank/GenBank/DDBJ. Именно этот раздел насчитывает сотни миллионов последовательностей.

Миссия UniProt заключается в поддержке биологических и биомедицинских исследований путем предоставления полного свода данных о белковых последовательностях, дополненных как экспериментально подтвержденной, так и вычислительно предсказанной функциональной информацией. При проведении масс-спектрометрического анализа полученные тандемные масс-спектры пептидов сравниваются с теоретическими спектрами, содержащимися в базе данных UniProt, что позволяет осуществить их надежную идентификацию.

Схему проведения протеомных исследований плазмы крови можно представить в виде алгоритма (рис. 3.2).

Преимуществами подхода являются высокая разрешающая способность (разделение белков с разницей в pI до 0,01 единиц), наглядность (визуализация всех белковых изоформ в виде отдельных пятен), совместимость с МС (точная идентификация белков из геля), количественный анализ (оценка изменений экспрессии по интенсивности окрашивания, особенно при использовании флуоресцентных меток), обнаружение ПТМ (сдвиги пятен по pI или массе указывают на модификации, например, фосфорилирование, гликозилирование и др.).

Ограничения и пути их преодоления:

– низкая чувствительность к низкоабундантным белкам → применение флуоресцентных красителей и обогащение образцов;

– трудоёмкость → автоматизация этапов (ИЭФ, окрашивание, сканирование);

– вариабельность результатов → стандартизация протоколов, использование контрольных белков;

– сложность анализа гидрофобных белков → оптимизация буферов (мочевина, тиомочевина, детергенты).

Современные модификации (флуоресцентное окрашивание, автоматизация) повышают точность и воспроизводимость метода, сохраняя его

Рис. 3.2. Схема алгоритма проведения протеомных исследований плазмы крови

актуальность в условиях развития высокопроизводительных технологий (например, «shotgun»-протеомики).

Таким образом, создание надежной сквозной экспериментальной платформы для протеомных исследований требует неразрывной интеграции и оптимизации всех этапов – от пробоподготовки до финального количественного анализа. Критически важным звеном является строго стандартизированная пробоподготовка, поскольку именно на этой стадии закладывается основа для последующей воспроизводимости и достоверности данных. Выбор аналитической стратегии напрямую диктует протоколы подготовки образцов и определяет глубину и точность последующей квантификации. Современная масс-спектрометрия, в свою очередь, выступает не просто инструментом детекции, а центральным узлом, генерирующим сложные данные, интерпретация которых невозможна без мощных биоинформационных ресурсов и обращения к курируемым базам знаний. Только такой комплексный подход, где каждый этап тщательно выверен и согласован с другими, позволяет трансформировать исходный биологический образец в количественные протеомные данные, при-

годные для получения биологически значимых и статистически достоверных оценок и прогнозов риск-ассоциированных негативных последствий со стороны здоровья в условиях экспозиций химических веществ.

3.2. Биоинформатическая интерпретация результатов на основе визуализации и интеграции данных

Развитие высокопроизводительных технологий в молекулярной биологии (массово-параллельное секвенирование, масс-спектрометрия, микрочипы, мультиплексные платформы) привело к взрывному росту объёма экспериментальных данных. Это создало острую потребность в методах биоинформатики, обеспечивающих надёжное хранение, эффективную обработку и высокое качество анализа молекулярных данных. Даже при минимальной априорной информации о взаимодействиях и функциях массово-параллельного секвенирования молекул биоинформатические подходы дают возможность с высокой вероятностью определить характеристики изучаемого объекта [Сучков С. В. и др., 2013].

Ключевые задачи биоинформатики в протеомике:

1) идентификация белков на основе сопоставления масс-спектрометрических данных (m/z-значения пептидов, паттерны фрагментации) с виртуальными пептидными картами из белковых баз данных, использование алгоритмов поиска (Mascot, Sequest, MaxQuant, Proteome Discoverer), учёт ПТМ, изоформ, генетических вариаций;

2) функциональная аннотация, включающая предсказание функций белка на основе гомологии (BLAST, InterPro, Pfam), анализ доменной структуры и мотивов, реконструкция метаболических и сигнальных путей (KEGG, Reactome, Gene Ontology);

3) структурное моделирование, обеспечивающее предсказание вторичной и третичной структуры (AlphaFold, I-TASSER), моделирование белок-белковых взаимодействий (STRING, ClusPro);

4) интеграция мультиомных данных, в том числе корреляция протеомных данных с транскриптомикой, геномикой, метаболомикой, построение регуляторных сетей;

5) статистический и количественный анализ, на основе которого осуществляется выявление дифференциально экспрессируемых белков (Perseus, Limma), контроль ложных открытий (FDR), кластеризация и визуализация (Heatmap, PCA, t-SNE), которая проводится путем поиска в специализированных базах данных.

Цель работы с базами данных и ресурсами заключается в комплексном анализе идентифицированных белков для понимания их биологических функций, а также в раскрытии молекулярных механизмов развития патологических состояний. Для достижения этой задачи базы данных протеомики редко используются изолированно. Наиболее полная картина достигается при их интеграции с базами данных по геномике, транскриптомике (например, базами

данных мРНК), а также со спектральными библиотеками для масс-спектрометрии. Объединение таких разнородных массивов информации в единые аналитические платформы обеспечивает прямой и удобный доступ к большей части существующих протеомных данных, что значительно ускоряет и облегчает процесс биоинформационного анализа.

Важным аспектом является классификация баз данных по способу наполнения и верификации данных. Так, некоторые ресурсы комплектуются автоматически путем прямого переноса данных из научной литературы и крупномасштабных экспериментов (например, EMBL, GenBank, DDBJ). В отличие от них, курируемые базы данных (такие как UniProtKB/Swiss-Prot, RefSeq) тщательно отбираются, аннотируются и проверяются экспертами-биологами, что гарантирует высокую точность и надежность информации, однако делает их менее полными и более трудоемкими в поддержке [Chen C. et al., 2017].

Для идентификации и анализа белков используют первичные базы (UniProtKB, NCBI Protein, RefSeq), спектральные библиотеки (NIST Peptide Library, PRIDE), функциональные аннотации (Gene Ontology (GO), KEGG, Reactome), структурные базы (PDB, AlphaFold DB), взаимодействия (STRING, BioGRID, IntAct).

База данных знаний UniProt [UniProt Consortium, 2023] является наиболее полным на сегодняшний день ресурсом данных по белкам. В частности, для белков человека собран и представлен в единообразном виде широкий спектр высококачественных, отредактированных вручную аннотаций. База данных постоянно обновляется, в нее включены новые перекрестные ссылки на другие основные инструменты биоинформатики. Важные аннотации для каждого белка включают термины онтологии генов, субклеточную локализацию и ПТМ, включая поперечные сшивки и дисульфидные мостики. UniProt предоставляет каноническую последовательность и потенциальные изоформы каждого белка.

Например, при поиске информации о белке Аполипопротеин A-1 (P02647) на странице поиска в карточке белка можно узнать первоначальную информацию о нём: ген, кодирующий белок (APOA1), таксономическую группу (Homo sapiens (Human)), количество аминокислот (267), доказательство существования белка (доказательство на уровне белка), оценку аннотации (5/5). Далее можно узнать участие белка в биологических процессах (метаболизм холестерола, метаболизм липидов, транспорт липидов, метаболизм стеров и т. д.). Для белка определены 2 ПТМ (2 PTMs), 33 варианта белка, 12 взаимодействий, 4 заболевания, 26 3D-структур и 68 рецензируемых публикаций. Это минимальные характеристики белка, которые можно получить с помощью базы знаний UniProt (рис. 3.3).

База данных UniProt служит отправной точкой для получения ключевой информации об исследуемом белке, такой как его последовательность, доменная структура и базовая функциональная аннотация. Однако для ее углубления и систематизации необходимы специализированные ресурсы. В результате протеомных исследований, опирающихся на биоинформационные ресурсы, ключевым этапом становится функциональная аннотация белка.

Рис. 3.3. Карточка белка APOA1 (P02647) в базе данных Uniprot

Данная процедура представляет собой аналитический метод, применяемый к большим массивам данных (таким как наборы генов, транскриптов или белков) с целью предсказания их биологических функций. Функциональная аннотация стала стандартом в современной биологии, и ее эффективность напрямую зависит от существования экспертных курируемых баз знаний. Эти ресурсы вручную аннотируют и классифицируют гены и белки на основе данных экспериментальных исследований [Tasan M. et al., 2015].

Широко используются функциональные аннотации (Gene Ontology, KEGG, Reactome). Наиболее известной и всеобъемлющей системой является Gene Ontology (GO). Она предоставляет стандартизированный словарь терминов, структурированных по трем независимым аспектам:

– биологические процессы – упорядоченные цепи молекулярных событий (например, клеточное дыхание);

– молекулярные функции – конкретная биохимическая активность отдельного белка (например, связывание АТФ);

– клеточный компонент – место локализации белка в клетке (например, рибосома).

Кроме того, GO открывает возможность для проведения функционального анализа не отдельных белков, а целых групп с помощью метода, известного как анализ обогащения GO-терминов (GO enrichment analysis). Этот статистический подход позволяет выявить биологически значимые закономерности в наборе данных. Логика анализа заключается в сравнении двух групп:

1) исследуемая выборка – список генов или белков, объединенных по общему признаку (например, дифференциально экспрессирующихся в эксперименте);

2) эталонный набор (background) – более крупная совокупность (например, весь геном организма), представляющая общее распределение функций.

Анализ проверяет, встречаются ли определенные GO-термы (например, «апоптоз») в исследуемой выборке статистически значимо чаще, чем это можно было бы ожидать случайно, исходя из их частоты в эталонном наборе. Если какой-либо термин обогащен, это указывает на то, что соответствующий биологический процесс, молекулярная функция или клеточный компонент являются характерными и, вероятно, ключевыми для анализируемой группы генов или белков [Rhee S.Y. et al., 2008]. В результате анализ обогащения преобразует простой список белков в гипотезу об их скоординированной биологической роли.

Помимо GO, существуют специализированные базы данных, ориентированные на аннотацию биологических путей и сетей взаимодействий. К ним относятся, например, KEGG [Kanehisa M. et al., 2016] и Reactome [Jassal B. et al., 2020]. В отличие от онтологий, эти ресурсы визуализируют и описывают целостные, разветвленные молекулярные пути, такие как каскады передачи сигнала, метаболические сети, пути регуляции клеточного цикла.

В отличие от словарных онтологий, Reactome представляет собой открытую базу данных и инструмент для визуализации фундаментальных биологических процессов, представленных в виде детализированных молекулярных путей. Главная задача Reactome – систематизация знаний о клеточных процессах, включая метаболизм, передачу сигналов, регуляцию транскрипции и клеточный цикл, в формате интерактивных, каузальных сетей взаимодействий. Это позволяет не просто получить список функций отдельных белков, а увидеть их роль в контексте целостного молекулярного механизма.

Ресурс предоставляет несколько ключевых возможностей для анализа данных:

• визуализация путей: иерархический браузер позволяет изучать пути на разных уровнях детализации – от обзора всего процесса до отдельных реакций с участием конкретных молекул;

• интерпретация данных: с помощью встроенных инструментов (таких как Analysis Tool) пользователь может загрузить собственный список, например, дифференциально экспрессирующихся генов или белков, и проверить их статистически значимое обогащение для путей Reactome. Это выявляет, какие именно биологические процессы наиболее активны в конкретном эксперименте;

• анализ и интеграция: Reactome тесно интегрирован с другими крупными базами данных (UniProt, Ensembl, KEGG, ChEBI), что обеспечивает перекрестные ссылки и комплексный анализ информации. Все пути курируются экспертами вручную и снабжены ссылками на литературные источники, что гарантирует их точность и надежность.

Еще одним фундаментальным биоинформатическим ресурсом является KEGG. В отличие от Reactome, который фокусируется на детальных каузальных взаимодействиях, KEGG предоставляет более широкий, модульный взгляд на биологические системы, интегрируя данные о генах, белках, химических веществах и болезнях. Основу KEGG составляют несколько взаимосвязанных баз данных, ключевым элементом которых являются карты путей (KEGG Pathways). Эти карты представляют собой статические схемы, отображающие обобщенные знания о молекулярных взаимодействиях в таких процессах, как метаболизм, передача клеточных сигналов, регуляция генов и развитие заболеваний. Каждая карта служит справочным контекстом, в который можно проектировать данные конкретного организма.

KEGG предлагает мощный аналитический функционал:

– сравнительный анализ: ресурс позволяет сравнивать метаболические и сигнальные пути между разными организмами, что делает его незаменимым инструментом в эволюционной и сравнительной геномике;

– функциональная интерпретация: с помощью инструмента KEGG Mapper исследователи могут накладывать свои списки генов или белков (например, из транскриптомного или протеомного эксперимента) на эталонные карты путей, это позволяет визуально идентифицировать, какие модули и пути статистически значимо обогащены в данном наборе данных;

– интеграция знаний: помимо путей, KEGG включает базы по ортологичным генам (KO), метаболитам (KEGG LIGAND), лекарствам (KEGG DRUG) и заболеваниям (KEGG DISEASE), обеспечивая целостный взгляд на функционирование клетки и мишени для токсического и фармакологического воздействия.

В целом KEGG функционирует как комплексная справочная система и аналитическая платформа, которая не только описывает отдельные биологические пути, но и раскрывает их взаимосвязи в глобальной сети клеточных функций. Это делает его критически важным ресурсом для метаболомики, системной биологии и биомедицинских исследований.

Важным ресурсом для определения функциональных характеристик белков является PANTHER. Эта система представляет собой интегрированную базу знаний, которая классифицирует гены и их продукты на основе эволюционных отношений, а также предоставляет набор инструментов для статистического анализа крупномасштабных данных, таких как транскриптомные или протеомные наборы. Ключевое отличие PANTHER от других ресурсов, например, Gene Ontology, заключается в его сильной эволюционной составляющей и ориентации на высокопроизводительный анализ. Система использует специально разработанные алгоритмы и строгие статистические методы (включая точный критерий Фишера с поправкой Бонферрони или контроль частоты ложных открытий, FDR) для обеспечения достоверности анализа обогащения.

Функциональная классификация в PANTHER осуществляется на нескольких уровнях:

– эволюционный уровень – белки группируются по семействам и подсемействам на основе филогенетического анализа;

– функциональный уровень – белки аннотируются с использованием терминов молекулярной функции, биологического процесса и участвующих путей (включая пути из GO и собственные пути PANTHER).

Наиболее значимым применением PANTHER является точное прогнозирование функций неохарактеризованных генов любого организма на основе их эволюционных отношений с генами, функции которых уже установлены [Milacic M. et al., 2024]. Этот подход, основанный на эволюционном выводе, позволяет переносить функциональные аннотации с хорошо изученных организмов-моделей (например, мыши или дрозофилы) на менее изученные виды.

Важной отличительной чертой PANTHER является возможность автоматического построения филогенетических деревьев для каждого белкового семейства. Эта функция позволяет наглядно проследить эволюционные взаимоотношения между различными видами (например, установить ортологи между человеком и экспериментальной биологической моделью), что критически важно для интерпретации результатов экспериментов в контексте конкретного организма.

В работе М.А. Земляновой с соавторами с помощью ресурса PANTHER проведен биоинформационный анализ локализации идентифицированных белков у детей, подвергающихся длительной аэрогенной экспозиции фтористых газообразных и твердых соединений. Установлено, что большинство из них (57,7 %) входят в состав клеточных структур (GO:0110165) и 15,4 % белков локализованы в протеиновых комплексах (GO:00032991) [Землянова М.А. и др., 2022]. В зависимости от участия в жизненном цикле белки классифицированы следующим образом: 22,7 % белков относятся к протеинам, участвующим в передаче сигналов (PC00219), 13,6 % – к метаболитам взаимосвязи ферментов (PC00262), по 9,1 % – к ферментативным модуляторам (PC00260), белкам цитоскелета (PC00085) и белкам-адаптерам (PC00226). Анализ классификационных признаков по молекулярным функциям показал, что большинство белков осуществляют связывание с другими молекулами (GO:0005488; 44,8 %) и каталитическую активность (GO:0003824; 31,3 %). Исследование и оценка классификации биологических процессов показали, что основная часть белков обеспечивает клеточные (GO:0009987; 30 %) и метаболические (GO:0008152; 15 %) процессы, а также биологическое регулирование (GO:0065007; 12 %).

Изменения в экспрессии белков являются ключевым молекулярным ответом организма на внешнесредовое воздействие факторов риска (например, токсичных химических веществ). Эти изменения могут напрямую влиять на физиологические функции тех тканей и органов, где данные белки экспрессируются. Для системного изучения тканеспецифичной экспрессии был создан ресурс TISSUES, который обеспечивает всестороннюю аннотацию ассоциаций «ген – ткань».

Главное преимущество TISSUES заключается в интеграции разнородных данных, полученных из трех основных источников:

1) вручную курируемые сведения из научной литературы и баз данных;

2) данные крупномасштабных экспериментов (протеомики и транскриптомики);

3) результаты автоматического текстового анализа научных публикаций.

Ресурс предоставляет информацию об экспрессии белков для человека и нескольких модельных млекопитающих (мышь, крыса, свинья), что позволяет проводить межвидовые сопоставления тканевых профилей. Эта функция критически важна для трансляционных исследований, поскольку позволяет экстраполировать данные, полученные в контролируемых экспериментах на модельных организмах, на человека [Palasca O. et al., 2018].

Визуализация данных в TISSUES реализована в виде интерактивных анатомических схем, охватывающих 20 основных тканей крысы и 21 ткань человека, мыши и свиньи (различие обусловлено отсутствием желчного пузыря у крыс). Уровень экспрессии в каждой ткани отображается с помощью цветовой шкалы, которая основана на интегрированной оценке достоверности. Эта оценка рассчитывается с учетом количества, типа и надежности всех имеющихся доказательств, что позволяет пользователю быстро оценить качество

ассоциации. На рисунке 3.4 представлен профиль тканевой экспрессии белка APOA1 у разных организмов.

Следовательно, TISSUES служит мостом между фундаментальными исследованиями на модельных организмах и прикладными биомедицинскими задачами, обеспечивая систематический доступ к проверенной информации о тканевой специфичности экспрессии генов и белков.

В эпидемиологических и токсикологических исследованиях ключевой задачей является установление сложных взаимосвязей между факторами риска внешней среды (химическими веществами), генами и заболеваниями человека. Для решения этой задачи были разработаны специализированные биоинформационные ресурсы, такие как Comparative Toxicogenomics Database (CTD) и DisGeNET, которые позволяют систематизировать и анализировать отношения в системе «химическое вещество (фактор экспозиции) – ген – белок – заболевание».

CTD сфокусирован на углублении понимания влияния факторов окружающей среды, в первую очередь химических веществ, на здоровье человека и биологию модельных организмов. База данных вручную курируется экспертами, которые извлекают из научной литературы данные о взаимодействиях «химическое вещество – ген», «заболевание – ген» и устанавливают между ними прямые и опосредованные связи. CTD особенно ценен для исследований в области токсикологии, так как позволяет, например, выявить, через какие гены и молекулярные пути конкретное химическое вещество может ассоциироваться с развитием заболевания.

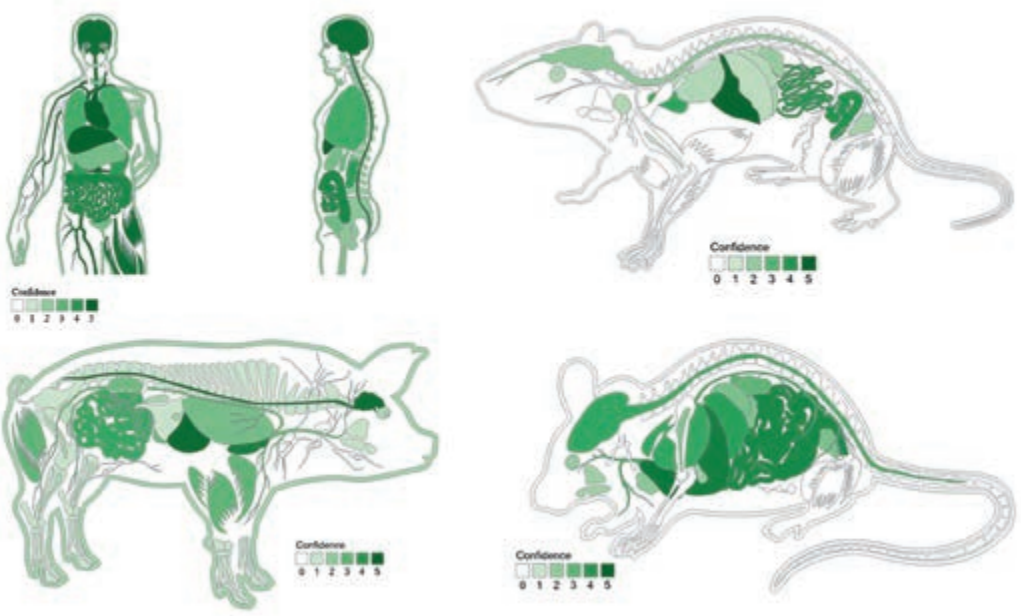


Рис. 3.4. Профиль тканевой экспрессии белка APOA1 у разных организмов

Ресурс DisGeNET ориентирован на более широкий контекст и агрегирует информацию о генах, связанных с человеческими заболеваниями, из множественных источников, включая базы данных о менделевских наследованиях, репозитории GWAS (полногеномного поиска ассоциаций), каталоги соматических мутаций при раке и интеллектуальный анализ текста научной литературы. DisGeNET присваивает каждой паре «ген – заболевание» показатель достоверности (score), который рассчитывается на основе количества и типа доказательств, что позволяет исследователям фильтровать и ранжировать результаты по их надежности.

Совместное использование биоинформационных платформ предоставляет комплексный подход: CTD выявляет триггеры и молекулярные механизмы развития патологий, а DisGeNET формирует целостную картину генетической предрасположенности к заболеваниям. Это делает их незаменимыми инструментами для выявления белков-мишеней химических веществ и прогноза негативных эффектов для здоровья человека.

Биоинформационные базы данных становятся незаменимым инструментом для прогноза риск-ассоциированных нарушений здоровья. Они систематизируют накопленные научные знания, обеспечивая структурированный доступ к информации о генах, белках, метаболитах, биологических путях и их взаимосвязях с заболеваниями. Однако стремительный рост количества таких ресурсов создает новую проблему – проблему навигации и выбора подходящего инструмента для конкретной научной задачи.

Для эффективной работы необходимо понимать специализацию и взаимодополняемость существующих баз данных. Ни один ресурс не является универсальным, их необходимо использовать в комплексе. Ниже представлена таблица, в которой сгруппированы биоинформационные ресурсы по их основному назначению, что позволяет целенаправленно выбирать инструменты для решения конкретных исследовательских задач, начиная от идентификации белка и заканчивая установлением молекулярных патологических механизмов развития заболеваний (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Классификация биоинформационных баз данных

Название базы данных	**Описание**	**Ссылка на ресурс**
1	**2**	**3**
Базы данных по экспосому и биомониторингу – фокусируются на внешних факторах, воздействующих на организм, и их биомаркерах		
Exposome-Explorer	База данных биомаркеров воздействия пищи и факторов окружающей среды	http://exposome-explorer.iarc.fr/about
MarkerDB	База данных биомаркеров для диагностики, прогноза и лечения заболеваний	https://markerdb.ca/

Продолжение таблицы 3.2

1	2	3
BIOCLAIMS	База данных биомаркеров, связанных с питанием и здоровьем	http://bioclaims.uib.es
DEDuCT	База данных, посвященная эндокринным разрушающим химическим веществам и их токсичности	https://cb.imsc.res.in/deduct/home
Базы данных по белкам и протеомам – содержат информацию о белках, их экспрессии, локализации и взаимодействиях		
The Human Protein Atlas	Детальная информация об экспрессии и локализации белков в тканях, клетках и органеллах человека	http://www.proteinatlas.org
Plasma Proteome Database	База данных, специализирующаяся на белках плазмы крови человека	http://www.plasmaproteomedatabase.org/
BioGRID	База данных физических и генетических взаимодействий белков	https://thebiogrid.org/
MatrixDB	База данных взаимодействий белков внеклеточного матрикса	http://matrixdb.univ-lyon1.fr/
TISSUES	База данных экспрессии и локализации белков	https://tissues.jensenlab.org/Search
Базы данных метаболизма и метаболитов – содержат информацию о метаболитах, метаболических путях и реакциях		
HMDB	Всеобъемлющая база данных метаболитов человека	https://hmdb.ca/
MetaNetX	Интегрированная база данных и платформа для анализа метаболических сетей	https://www.metanetx.org/
MitoTox	База данных, фокусирующаяся на митохондриальной токсичности	https://www.mitotox.org/
Базы данных биологических путей и сетей – содержат информацию о молекулярных путях и сетях взаимодействий		
KEGG	Интегрированная база данных, содержащая информацию о генах, ферментах, метаболических и сигнальных путях	https://www.kegg.jp/
Reactome	База данных биологических путей и реакций	https://reactome.org/
WikiPathways	База данных биологических путей, создаваемая сообществом исследователей	https://www.wikipathways.org/

Окончание таблицы 3.2

1	2	3
SMPDB	База данных, специализирующаяся на малых молекулах и их участии в биологических путях	http://smpdb.ca/
Pathway Commons	Объединяет информацию о биологических путях из множественных источников	http://www.pathwaycommons.org/
PANTHER	Система для функциональной классификации и эволюционного анализа	https://www.pantherdb.org/
Базы данных по заболеваниям и генетике – содержат информацию о заболеваниях, генах и генетических вариантах		
OMIM	Каталог человеческих генов и генетических заболеваний	https://www.omim.org/
DisGeNET	База данных ассоциаций ген-заболевание	https://www.disgenet.org/
MalaCards	База данных человеческих заболеваний и их аннотаций	https://www.malacards.org/
ATLAS	База данных, содержащая информацию о взаимосвязях между генетическими вариантами и заболеваниями	http://lcsb-databases.epfl.ch/pathways/atlas/
Базы данных по токсикологии и токсичным веществам – содержат информацию о токсичных веществах и их воздействии на организм		
CTD	База данных, связывающая химические вещества, гены и заболевания	https://ctdbase.org/
MEDIC	База данных по токсикологии и фармакологии	https://ctdbase.org/voc.go?type=disease
CEBS	База данных токсикологических исследований	https://cebs.niehs.nih.gov/cebs/
TEDB/T3DB	База данных токсинов и их мишеней	http://www.t3db.ca/
OpenTox	Платформа и база данных для прогнозирования токсичности	https://opentox.net/

Таким образом, для эффективной работы в современных медико-биологических исследованиях недостаточно просто знать о биоинформационных ресурсах – важно понимать их место в общей схеме исследования. Различные ресурсы взаимодействуют и дополняют друг друга, формируя единую аналитическую среду. Ключевая компетенция здесь – умение выстроить аналитический конвейер: от подачи сырых данных на вход до получения на выходе

комплексного представления о молекулярных механизмах. Именно эту способность обеспечивают рассмотренные биоинформационные ресурсы. Кроме того, существующие базы знаний существенно расширяют возможности анализа белковых наборов, повышая точность прогнозов негативных эффектов и исходов, обусловленных воздействием факторов риска среды обитания.

Список литературы к главе 3

Захарова, Н.Б. Значение протеомного состава мочи при заболеваниях мочевыводящих путей (обзор литературы) / Н.Б. Захарова, Л.Х. Пастушкова, И.М. Ларина [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. 2017; 1: 22–29.

Землянова, М.А. Создание биоинформационной матрицы молекулярных маркеров для прогнозирования риск-ассоциированных нарушений здоровья / М.А. Землянова, Н.В. Зайцева, Ю.В. Кольдибекова [и др.] // Анализ риска здоровью. 2022; 2: 174–184. DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.16.

Оловянникова, Р.Я. Проблема префракционирования образцов плазмы/сыворотки крови для их протеомного профилирования с помощью масс-спектрометрии / Р.Я. Оловянникова, В.В. Рославцева, В.В. Салмин [и др.] // Масс-спектрометрия. 2015; 12(1): 7–29.

Пескова, Е.В. Протеомные исследования как современный инструмент диагностики нарушений здоровья: обзор литературы / Е.В. Пескова // Фундаментальные и прикладные аспекты анализа риска здоровью населения: Материалы Всероссийской научно-практической интернет-конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора с международным участием; под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2021: 257–264.

Сазонова, Н.Г. Методики протеомного анализа и их роль в диагностике акушерской и гинекологической патологии / Н.Г. Сазонова, Т.А. Макаренко, Р.Я. Оловянникова [и др.] // Журнал акушерство и женские болезни. 2019; 1: 69–82. DOI: 10.17816/JOWD68169-82.

Сорокина, А.В. Поиск пептидных маркеров гинекологических заболеваний в сыворотке крови с использованием МАЛДИ-масс-спектрометрии / А.В. Сорокина, В.Е. Радзинский, Р.Х. Зиганшин, Г.П. Арапиди // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2011; 6: 122–130.

Сучков, С.В. Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии / С.В. Сучков, Д.А. Гнатенко, Д.С. Костюшев [и др.] // Вестник РАМН. 2013; 68(1): 65–71. DOI: 10.15690/vramn.v68i1.540.

Таипов, М.А. Протеомные исследования, направленные на поиск маркеров рака молочной железы (обзор литературы) / М.А. Таипов, З.Н. Никифорова, В.Е. Шевченко // Опухоли женской репродуктивной системы. 2015; 2: 8–18. DOI: 10.17650/1994-4098-2015-11-2-8-18.

Bouatra, S. The human urine metabolome / S. Bouatra, F. Aziat, R. Mandal [et al.] // PLoS One. 2013; 8(9): e73076. DOI: 10.1371/journal.pone.0073076.

Burke, A.M. Synthesis of two new enrichable and MS-cleavable cross-linkers to define protein-protein interactions by mass spectrometry / A.M. Burke, W. Kandur, E.J. Novitsky [et al.] // Org Biomol Chem. 2015; 13(17): 5030–5037. DOI: 10.1039/c5ob00488h.

Chen, C. Protein Bioinformatics Databases and Resources / C. Chen, H. Huang, C.H. Wu // Methods Mol Biol. 2017; 1558: 3–39. DOI: 10.1007/978-1-4939-6783-4_1.

de Souza, N. Mass spectrometry analysis of the structural proteome / N. de Souza, P. Picotti // Curr Opin Struct Biol. 2020; 60: 57–65. DOI: 10.1016/j.sbi.2019.10.006.

Edman, P. A method for the determination of amino acid sequence in peptides / P. Edman // Arch Biochem. 1949; 22(3): 475.

Fliser, D. Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery / D. Fliser, J. Novak, V. Thongboonkerd [et al.] // J Am Soc Nephrol. 2007; 18(4): 1057–1071. DOI: 10.1681/ASN.2006090956.

Geyer, P.E. Plasma Proteome Profiling to Assess Human Health and Disease / P.E. Geyer, N.A. Kulak, G. Pichler [et al.] // Cell Syst. 2016; 2(3): 185–195. DOI: 10.1016/j.cels.2016.02.015.

Gold, L. Advances in human proteomics at high scale with the SOMAscan proteomics platform / L. Gold, J.J. Walker, S.K. Wilcox, S. Williams // N Biotechnol. 2012; 29(5): 543–549. DOI: 10.1016/j.nbt.2011.11.016.

Good, D.M. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease / D.M. Good, P. Zürbig, A. Argilés [et al.] // Mol Cell Proteomics. 2010; 9(11): 2424–2437. DOI: 10.1074/mcp.M110.001917.

Jassal, B. The reactome pathway knowledgebase / B. Jassal, L. Matthews, G. Viteri [et al.] // Nucleic Acids Res. 2020; 48(D1): D498-D503. DOI: 10.1093/nar/gkz1031.

Kanehisa, M. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation / M. Kanehisa, Y. Sato, M. Kawashima [et al.] // Nucleic Acids Res. 2016; 44(D1): D457– D462. DOI: 10.1093/nar/gkv1070.

Khan, G.H. Overlap of proteomics biomarkers between women with pre-eclampsia and PCOS: a systematic review and biomarker database integration / G.H. Khan, N. Galazis, N. Docheva [et al.] // Hum Reprod. 2015; 30(1): 133–148. DOI: 10.1093/humrep/deu268.

Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // Nature. 1970; 227(5259): 680–685. DOI: 10.1038/227680a0.

Lauber, W.M. Mass spectrometry compatibility of two-dimensional gel protein stains / W.M. Lauber, J.A. Carroll, D.R. [et al.] // Dufield Electrophoresis. 2001; 22(5): 906–918. DOI: 10.1002/1522-2683()22:5<906::AID-ELPS906>3.0.CO;2-9.

Lee, P.Y. A recent update on small-molecule kinase inhibitors for targeted cancer therapy and their therapeutic insights from mass spectrometry-based proteomic analysis / P.Y. Lee, Y. Yeoh, T.Y. Low // FEBS J. 2023; 290(11): 2845–2864. DOI: 10.1111/febs.16442.

Low, T.Y. Recent progress in mass spectrometry-based strategies for elucidating protein-protein interactions / T.Y. Low, S.E. Syafruddin, M.A. Mohtar [et al.] // Cell Mol Life Sci. 2021a; 78(13): 5325–5339. DOI: 10.1007/s00018-021-03856-0.

Low, T.Y. Widening the bottleneck of phosphoproteomics: evolving strategies for phosphopeptide enrichment / T.Y. Low, M.A. Mohtar, P.Y. Lee [et al.] // Mass Spectrom Rev. 2021b; 40(4): 309–333. DOI: 10.1002/mas.21636.

Milacic, M. The Reactome Pathway Knowledgebase 2024 / M. Milacic, D. Beavers, P. Conley [et al.] // Nucleic Acids Res. 2024; 52(D1): D672–D678. DOI: 10.1093/nar/gkad1025.

Minden, J.S. Two-dimensional difference gel electrophoresis / J.S. Minden // Methods Mol Biol. 2012; 869: 287–304. DOI: 10.1007/978-1-61779-821-4_24.

O'Farrell, P.H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins / P.H. O'Farrell // J Biol Chem. 1975; 250(10): 4007–4021.

Palasca, O. TISSUES 2.0: an integrative web resource on mammalian tissue expression / O. Palasca, A. Santos, C. Stolte [et al.] // Database (Oxford). 2018; 2018: bay003. DOI: 10.1093/database/bay003.

Rhee, S.Y. Use and misuse of the gene ontology annotations / S.Y. Rhee, V. Wood, K. Dolinski, S. Draghici // Nat Rev Genet. 2008; 9(7): 509–515. DOI: 10.1038/nrg2363.

Smith, J.G. Emerging Affinity-Based Proteomic Technologies for Large-Scale Plasma Profiling in Cardiovascular Disease / J.G. Smith, R.E. Gerszten // Circulation. 2017; 135(17): 1651–1664. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025446.

Stessl, M. Influence of image-analysis software on quantitation of two-dimensional gel electrophoresis data / M. Stessl, C.R. Noe, B. Lachmann // Electrophoresis. 2009; 30(2): 325–328. DOI: 10.1002/elps.200800213.

Tasan, M. Selecting causal genes from genome-wide association studies via functionally coherent subnetworks / M. Tasan, G. Musso, T. Hao [et al.] // Nat Methods. 2015; 12(2): 154–159. DOI: 10.1038/nmeth.3215.

The UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2023 / The UniProt Consortium // Nucleic Acids Res. 2023; 51(D1): D523–D531. DOI: 10.1093/nar/gkac1052.

Vistain, L.F. Single-Cell Proteomics / L.F. Vistain, S. Tay // Trends Biochem Sci. 2021; 46(8): 661–672. DOI: 10.1016/j.tibs.2021.01.013.

Wittmann-Liebold, B. Two-dimensional gel electrophoresis as tool for proteomics studies in combination with protein identification by mass spectrometry / B. Wittmann-Liebold, H.R. Graack, T. Pohl // Proteomics. 2006; 6(17): 4688–4703. DOI: 10.1002/pmic.200500874.

Zhang, H. Protein expression profiles characterize distinct features of mouse cerebral cortices at different developmental stages / H. Zhang, Y. Kawase-Koga, T. Sun // PLoS One. 2015; 10(4): e0125608. DOI: 10.1371/journal.pone.0125608.

Zhao, Y.Y. Urinary metabolomics and biomarkers of aristolochic acid nephrotoxicity by UPLC-QTOF/HDMS / Y.Y. Zhao, D.D. Tang, H. Chen [et al.] // Bioanalysis. 2015; 7(6): 685–700. DOI: 10.4155/bio.14.309.

ГЛАВА 4

ПРОТЕОМНЫЕ БИОМАРКЕРЫ В ПРЕДИКТИВНОЙ ОЦЕНКЕ РИСКОВ ЗДОРОВЬЮ ПРИ ХИМИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ

4.1. Идентификация биомаркеров химической экспозиции

Биомаркеры выступают фундаментальным ориентиром научных исследований и незаменимым инструментом гигиенической оценки рисков здоровью, способствуя своевременному выявлению неблагоприятных факторов внешней среды и предупреждению негативных последствий их воздействия [Зайцева Н.В. и др., 2020, 2024, 2025]. Согласно современным концепциям превентивной медицины, биомаркеры формируют методологическую основу персонализированного подхода к профилактике и лечению, позволяя количественно оценивать биологические изменения до манифестации клинических симптомов [Califf R.M., 2018]. Их использование способствует трансформации медицинской профилактической парадигмы от реактивного к проактивному управлению здоровьем в условиях изменяющейся экологической обстановки.

В последние годы особенно возрос интерес к белковым маркерам и определению их уровня в жидких биосредах (например, в плазме крови), что прочно вошло в практику исследования патологических процессов [Hernández J., Thompson I.M., 2004; Blennow K. et al., 2010]. Несмотря на эти успехи, многие потребности остаются неудовлетворенными, что делает разработку новых белковых маркеров активной и динамично развивающейся областью исследований [Dayon L. et al., 2022; Mavrina E. et al., 2022].

Постоянно появляются сообщения о новых кандидатах, часто основанные на результатах высокопроизводительных протеомных исследований биологических жидкостей, которые сравнивают концентрации белков между экспонированными и неэкспонированными группами для выявления белков со значимыми различиями в концентрации [Dayon L. et al., 2022]. Однако, несмотря на обилие белков-кандидатов, лишь единицы из них находят применение в практике. Это связано со сложностью и многоэтапностью процесса разработки биомаркеров, который часто терпит сбой уже после первоначальной фазы открытия [Rifai N. et al., 2006].

Одной из ключевых проблем является технологический разрыв между методами, используемыми для открытия биомаркеров, и методами, применимыми для их валидации и использования [Mavrina E. et al., 2022; Zhou X. et al., 2022]. Масс-спектрометрия идеально подходит для первоначального открытия белковых маркеров, однако высокая стоимость оборудования, трудоемкость подготовки проб и необходимость в высококвалифицированном персонале ограничивают ее применение в текущей деятельности лабораторий. По-

стоянное технологическое развитие и совершенствование в будущем может способствовать переходу масс-спектрометрии из исследовательской сферы в рутинную практику [Zhou X. et al., 2022]. Широко распространенные иммуноанализы (например, ИФА) малопригодны для крупномасштабного открытия новых биомаркеров, они остаются «золотым стандартом» для их количественного определения в условиях рутинной диагностики благодаря своей высокой специфичности, чувствительности и доступности [Del Campo M., 2015].

В качестве решения этой проблемы предложен биоинформатический подход, позволяющий проводить приоритизацию кандидатов на основе данных, аккумулированных в специализированных базах знаний [Lin Y. et al., 2019; Waury K. et al., 2022]. В зарубежных исследованиях используется протокол, облегчающий выбор кандидатов на роль белковых маркеров с использованием доступных онлайн инструментов биоинформатики, таких как курируемые базы данных белков [Zhou M., Timothy D.V., 2013]. Протокол исследования белка с использованием онлайн-ресурсов включает несколько этапов:

1. Определение идентификатора белка в базе данных UniProt. Идентификатор UniProt (известный как регистрационный номер) является стандартизированным и часто требуется для поиска в других базах данных. Благодаря множеству перекрестных ссылок UniProt предоставляет удобную отправную точку для сбора информации о белке.

2. Изучение существующих данных о связи кандидата (на уровне белка или гена) с заболеваниями. Помимо поиска в базах данных научной литературы, таких как PubMed или Google Scholar, для получения сжатого обзора можно использовать специализированные ресурсы, например, MarkerDB. Ассоциация белка с заболеванием, имеющим сходную патологию или задействующим те же пути, что и исследуемое заболевание, делает его перспективным кандидатом. Напротив, связь с другими заболеваниями может ограничивать специфичность биомаркера, особенно для патологий с высокой частотой коморбидности.

3. Изучение функции белка и его взаимодействия для понимания механизма его потенциального участия в патологии. Участие белка в пути, нарушаемом при исследуемой патологии, укрепляет его позиции как биомаркера. Функциональные данные можно получить из UniProt через термины Gene Ontology. Партнеры по белковым взаимодействиям, указанные в базе данных STRING, которые сами вовлечены в интересующее заболевание, также усиливают обоснованность выбора кандидата.

4. Изучение субклеточной локализации для понимания его роли в клетке. Локализация влияет на вероятность секреции белка в биологические жидкости. Белки, расположенные на мембране или во внеклеточном пространстве, являются более подходящими в качестве маркерных кандидатов для анализа в жидкостях. Эктодомены, которые могут секретироваться, а также ассоциация с внеклеточными везикулами – важные свойства, повышающие вероятность обнаружения белка в биологических жидкостях. Эту информацию можно получить из UniProt и специализированных баз данных.

5. Измерение концентрации белковых биомаркеров предпочтительно проводить в биологических жидкостях из-за большого количества секретируемых белков. Ключевыми жидкостями для обнаружения биомаркеров являются плазма, моча и спинномозговая жидкость. Подтвердить наличие белка-кандидата в целевой жидкости можно с помощью баз данных.

6. Установление вероятного тканевого происхождения белка при измерении его концентрации в биологической жидкости. Белок, который высоко и специфично экспрессируется в ткани, затрагиваемой патологией, обладает высоким биомаркерным потенциалом (например, для биомаркеров деменции особый интерес представляет мозг). Повсеместная экспрессия белка, напротив, затрудняет интерпретацию источника его появления в жидкости. Если белок слабо экспрессируется в интересующей ткани, его детекция в биологических жидкостях может потребовать применения сверхчувствительных методов. Данные об экспрессии белка в тканях человека можно найти в базе данных Human Protein Atlas.

Накопленный опыт позволил разработать «Алгоритм обоснования белковых маркеров и кодирующих их генов для прогнозирования негативных эффектов, ассоциированных с воздействием факторов риска среды обитания» [Патент № 137550, 2023]. Помимо использования доступных онлайн инструментов для выбора кандидатов на роль белковых маркеров, для повышения точности и объективности оценок целесообразно дополнительно проводить экспериментальные исследования на биологической модели и использовать методы статистического анализа.

Алгоритм состоит из трёх этапов (рис. 4.1).

Этап 1 – Оценка экспозиции в реальных и экспериментальных условиях.

1.1. Гигиеническая оценка химических факторов экспозиции, сформированной ненадлежащим качеством объектов среды обитания.

Концентрации химических веществ в объекте среды обитания (атмосферном воздухе, питьевой воде, продуктах питания и др.) оцениваются на основании сопоставления с гигиеническими нормативами (ПДК). Для атмосферного воздуха оценка проводится с учётом периодов осреднения (годовой и/или среднесуточный). Процедура осуществляется в соответствии с действующими санитарными правилами и нормативами, регламентирующими требования к безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания[1].

1.2. Гигиеническая оценка реальной экспозиции на основе методологии оценки риска.

Расчет и оценка уровней экспозиции проводится относительно референтных уровней (концентраций, доз) с учетом приоритетного пути поступления вещества для условий хронического воздействия. Методология оценки реализуется в соответствии с действующим «Руководством по оценке

[1] СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания» (срок действия 01.03.2021 – 01.03.2027 гг.) [Электронный ресурс]. URL: https://nagut6.gosuslugi.ru/netcat_files/174/2801/SP123685_21.pdf (дата обращения 09.02.2026.)

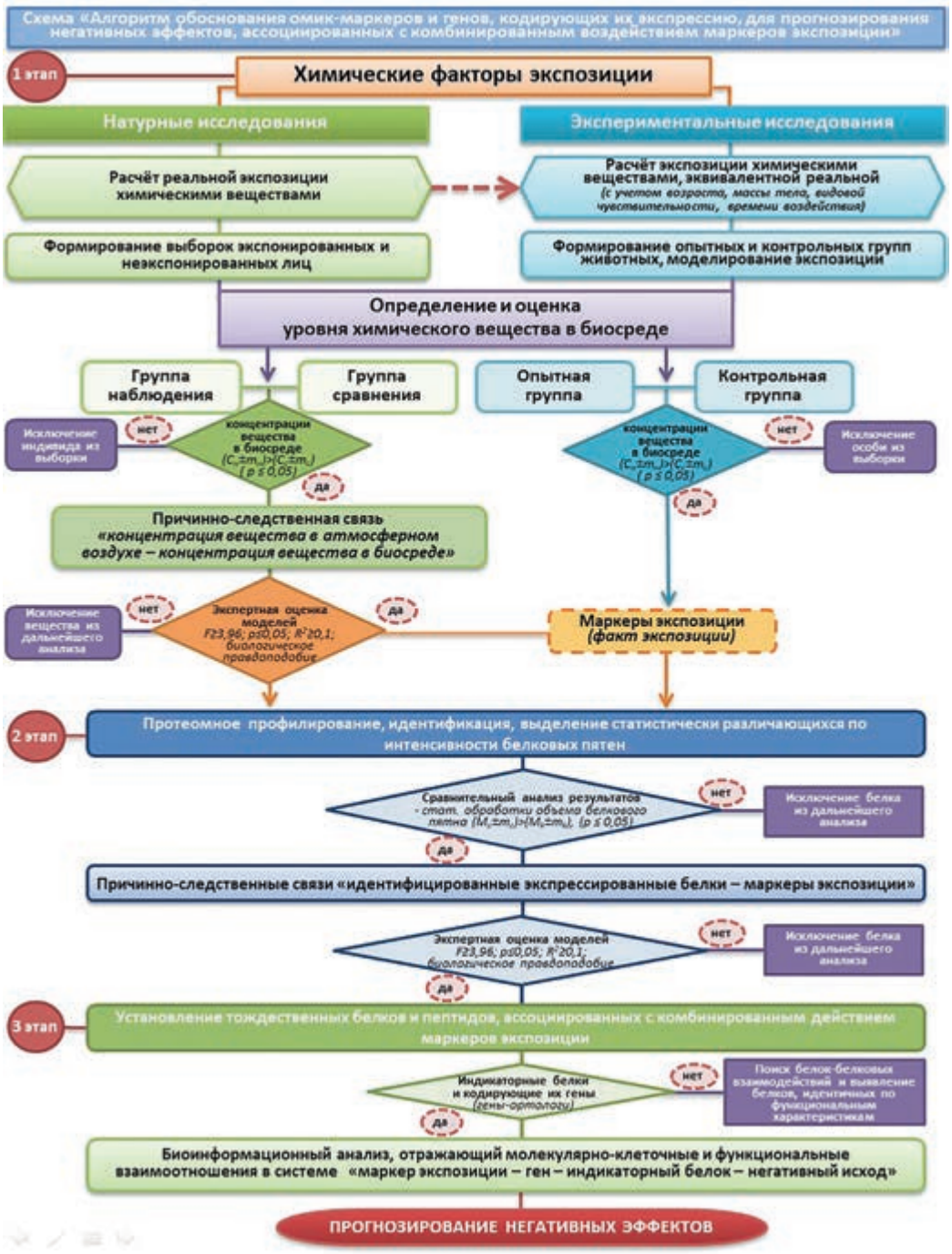


Рис. 4.1. Алгоритм обоснования белковых маркеров и кодирующих их генов для прогнозирования негативных эффектов, ассоциированных с воздействием факторов риска среды обитания

риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания» [Р 2.1.10.3968-23, 2023].

1.3. Оценка экспериментальной экспозиции и расчёт дозы для биологической модели.

Расчет дозы вещества, экспозиции которой подвергаются лабораторные животные в эксперименте, проводится с целью моделирования установленной реальной экспозиции человека в условиях хронического воздействия. При расчете учитываются ключевые параметры пересчета: возраст, масса тела, видовая чувствительность и продолжительность экспозиции, что обеспечивает биологическую сопоставимость результатов, полученных в эксперименте, реальным условиям экспозиции.

1.4. Исследование и количественная оценка содержания веществ в индикаторных биосредах (крови и/или моче).

Количественное определение целевых химических веществ в образцах крови и/или мочи проводится с использованием методов химико-аналитического анализа. Процедура выполняется в строгом соответствии с действующими методическими указаниями, регламентирующими методы количественного химического анализа в биологических средах.

1.4.1. Формирование групп экспериментальных животных.

Опытные группы включают животных, подвергающихся воздействию изучаемого химического вещества при изолированном и комбинированном поступлении. Контрольные группы включают животных, содержащихся в аналогичных условиях, без воздействия тестируемого вещества. Все экспериментальные исследования проводятся в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных или иных научных целях (ETS № 123)[2].

1.4.2. Подтверждение факта экспозиции экспериментальных животных.

Подтверждение экспозиции осуществляется на основании результатов количественного определения изучаемых химических веществ в биосредах животных каждой группы. Особи исключаются из выборки, если концентрация вещества в биосреде опытной группы ниже среднего значения в контрольной группе: $(C_н \pm m_н) > (C_с \pm m_с)$ $(p \leq 0,05)$.

1.4.3. Формирование выборок из числа экспонированных и неэкспонированных лиц, относящихся к наиболее чувствительным контингентам к воздействию изучаемых химических веществ (группа наблюдения и группа сравнения).

Формирование группы наблюдения и группы сравнения проводится на основании результатов определения уровня химического вещества в биосредах:

– критерий включения в группу наблюдения: повышенное содержание изучаемого химического вещества в биосреде относительно референтного значения;

[2] Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных или иных научных целях (ETS № 123). Страсбург, 1986. 13 с. (в ред. Протокола CED № 170 от 02.12.2005) [Электронный ресурс]. URL: https://rm.coe.int/168007a6a8 (дата обращения 19.08.2025).

– критерий включения в группу сравнения: содержание изучаемого химического вещества в биосреде не превышает минимальное или референтное значение.

Индивиды исключаются из выборки, если концентрация вещества в группе наблюдения ниже среднего значения в группе сравнения: $(C_н \pm m_н) > (C_с \pm m_с)$ $(p \leq 0,05)$.

Выборки индивидов группы наблюдения и сравнения должны быть сопоставимы по половозрастному составу, социально-бытовым условиям проживания, среднему уровню материального обеспечения, по частоте и характеру вредных привычек и профессиональных вредностей у родителей (для детей), по психологическому климату в семье и в общеобразовательных организациях (для детей).

Критерии исключения: наличие острых инфекционных заболеваний менее чем в течение 4 недель до начала исследования, приём лекарственных препаратов, оказывающих влияние на предполагаемые органы-мишени, менее чем за 30 дней до начала исследования.

Все биомедицинские исследования с участием человека осуществляются в соответствии с этическими принципами, закрепленными в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA. Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013[3]). Проведенные исследования не должны ущемлять права, подвергать опасности благополучие субъектов исследования и причинять вред их здоровью.

1.5. Подтверждение факта экспозиции: идентификация и количественная оценка маркеров экспозиции у экспонированных лиц.

Подтверждение факта экспозиции осуществляется на основе установления количественной зависимости между концентрацией химического вещества в объектах среды обитания (атмосферном воздухе, питьевой воде, продуктах питания, почве) и его содержанием в индикаторных биосредах (крови, моче). Для этого проводится регрессионный анализ, моделирующий связь «концентрация вещества в объекте среды обитания – концентрация вещества в биосреде» за годовой период осреднения. Данная зависимость может быть описана в виде линейного уравнения регрессии:

$$y = a_0 + a_1 x \qquad (4.1),$$

где y – концентрация вещества в биосреде (крови или моче), мг/дм^3;

x – концентрация или доза вещества в объекте среды обитания (приоритетном), мг/м^3 или мг/(кг·сут);

α_0, α_1 – коэффициенты уравнения регрессии.

[3] WMA. Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013 [Электронный ресурс]. URL: https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/ (дата обращения 02.12.2025).

1.6 Экспертная оценка полученных моделей.

Установленная и параметризированная причинно-следственная связь «концентрация вещества в объекте среды обитания – концентрация вещества в биосреде» должна удовлетворять следующим критериям: F-критерию Фишера (например, $F \geq 3,96$), критерию статистической значимости ($p \leq 0,05$), коэффициенту детерминации ($R^2 \leq 0,1$) – и соответствовать биологическому правдоподобию. Если полученная причинно-следственная связь удовлетворяет вышеописанным критериям, то изучаемое химическое вещество в концентрации выше референтного уровня или показателя сравнения обосновывают в качестве маркера экспозиции; если вещество не удовлетворяет обозначенным критериям, то оно исключается из дальнейшего анализа.

Этап 2 – Протеомное профилирование, квантификация, выделение статистически различающихся по интенсивности белковых пятен, оценка причинно-следственных связей с фактором экспозиции.

2.1. Протеомное профилирование плазмы крови.

Интенсивность белковых пятен, полученных в результате протеомного анализа, у индивидов группы наблюдения оценивается относительно показателей группы сравнения. Для экспериментальных животных показатели опытных групп сравниваются с контрольной группой. Результаты представляются в виде среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего (m). Статистическую значимость различий между группами определяют с использованием непараметризированного критерия Манна-Уитни при уровне значимости $p \leq 0,05$. Белковые пятна, не демонстрирующие статистически значимых различий между сравниваемыми группами ($p > 0,05$), исключаются из дальнейшего анализа. Функциональная интерпретация идентифицированных белков и пептидов проводится на основе данных отечественных и зарубежных аннотируемых научных публикаций.

2.2. Выявление и оценка причинно-следственных связей статистически различающихся белковых пятен с экспозицией (в качестве экспозиции используют маркеры экспозиции).

Осуществляются на основании моделирования зависимости интенсивности каждого идентифицированного статистически значимого экспрессированного белка от содержания всех маркеров экспозиции, описываемой уравнением множественной линейной регрессии:

$$y_j = b_{0j} + \sum_i b_{ij} x_i \qquad (4.2),$$

где y_j – показатель интенсивности j-го белкового пятна, int;

x_i – i-ый влияющий фактор (концентрация вещества в биосреде), мг/дм^3 или мг/г;

b_{0j}, b_{ij} – коэффициенты уравнения регрессии.

2.3. Экспертная оценка моделей.

Установленная и параметризированная причинно-следственная связь должна удовлетворять следующим критериям: F-критерию Фишера ($F \geq 3,96$),

критерию статистической значимости ($p \leq 0,05$), коэффициенту детерминации ($R^2 \geq 0,1$), соответствовать требованиям биологического правдоподобия. Если причинно-следственная связь не удовлетворяет вышеописанным требованиям, то белок исключается из дальнейшего анализа.

Этап 3 – Прогнозирование негативных эффектов.

3.1. Выявление и оценка причинно-следственных связей статистически значимых белковых маркеров с экспозицией, в том числе комбинированной.

Для установления причинно-следственных связей между экспозицией (оцениваемой по содержанию маркеров экспозиции в биосредах) и изменениями в протеомном профиле выполняется моделирование зависимости интенсивности каждого идентифицированного белкового пятна, показавшего статистически значимые различия между группами, от содержания всех маркеров экспозиции. Данная зависимость описывается уравнением множественной линейной регрессии.

3.2. Прогноз негативных эффектов.

3.2.1. Идентификация тождественных белков осуществляется методом тандемной масс-спектрометрии в сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографией. Сопоставление полученной аминокислотной последовательности пептида с библиотечным масс-спектром. Выявление идентификатора UniProt для дальнейшего биоинформационного анализа белка.

3.2.2. Биоинформационный анализ функций и взаимодействий идентифицированных белков проводится с использованием специализированных информационных ресурсов для построения гипотез об их молекулярных функциях, бинарных белковых взаимодействиях, участии в сигнальных путях и тканевой специфичности экспрессии.

Для аннотирования биологических функций белков применяется система Gene Ontology (GO)[4], которая предоставляет стандартизированную терминологию для описания молекулярных функций, биологических процессов и клеточной локализации. Тканевая специфичность экспрессии оценивается с использованием платформ Tissue expression database[5] и The Human Protein Atlas[6].

3.2.3. Прогнозирование нарушений здоровья осуществляется на основе качественного синтеза данных и построения биоинформационной матрицы, отражающей молекулярно-клеточные взаимодействия, функциональные взаимосвязи и сигнальные пути. Для установления взаимосвязей в системе «фактор экспозиции (маркер экспозиции) – белок – ген – негативный эффект – заболевание» используются специализированные биоинформационные ресурсы, например, такие как Comparative Toxicogenomics Database (CTD) и DisGeNET,

[4] Gene Ontology Resource [Электронный ресурс]. URL: http://geneontology.org/ (дата обращения 06.02.2026).

[5] Tissue expression database [Электронный ресурс]. URL: https://tissues.jensenlab.org/Search (дата обращения 06.02.2026).

[6] The Human Protein Atlas [Электронный ресурс]. URL: https://www.proteinatlas.org/ (дата обращения 06.02.2026).

которые аккумулируют данные о доказанных ассоциациях между химическими веществами, биомолекулами и заболеваниями. Верификация результатов прогноза проводится на основании сопоставления с данными экспериментальных исследований на биологических моделях и/или эпидемиологических исследований на популяциях.

Представленный алгоритм позволяет эффективно обосновывать маркерные белки-мишени для прогнозирования негативных эффектов, ассоциированных с воздействием факторов риска среды обитания.

4.2. Верификация и валидация протеомных биомаркерных панелей в экспериментальных условиях

Влияние токсических веществ на состояние здоровье человека представляет собой значимую проблему, поскольку достоверно ассоциировано с инициацией, развитием и прогрессированием широкого спектра заболеваний. Согласно современным данным, значительная доля патологических состояний обусловлена длительным кумулятивным воздействием неблагоприятных факторов среды обитания [Shields H.J. et al., 2021]. Рост заболеваемости во многом обусловлен нарастающим загрязнением ключевых объектов среды обитания – продуктов питания, атмосферного воздуха, питьевой воды. Длительное воздействие токсикантов может провоцировать развитие интенсивных патофизиологических реакций, в частности, окислительного стресса, сопровождающегося избыточной генерацией реактивных форм кислорода, хронического субклинического воспаления, нарушающего гомеостаз тканей. Эти процессы существенно повышают риск формирования патологических состояний [Federico A. et al., 2007].

В современной научной литературе убедительно продемонстрирована роль токсических веществ в патогенезе нейродегенеративных заболеваний [Richardson J.R. et al., 2019], сердечно-сосудистых патологий [Chowdhury R. et al., 2018], респираторных нарушений [Wyman A.E., Hines S.E., 2018], почечных дисфункций [Farzan S.F. et al., 2016].

Для углубленного изучения последствий токсического воздействия в современных биомедицинских исследованиях активно применяются высокотехнологичные методологические подходы, среди которых особое место занимает протеомика. В рамках протеомного анализа оценка влияния токсичных веществ осуществляется посредством комплексного исследования биологических жидкостей (сыворотки крови, мочи, ликвора и др.) и тканевых образцов. Современные протеомные технологии обеспечивают:

• высокочувствительное выявление изменений белковых профилей, индуцированных воздействием токсикантов;

• количественную оценку экспрессии и посттрансляционных модификаций белков;

• идентификацию потенциальных биомаркеров токсического воздействия.

Ключевая цель протеомики в контексте изучения химического фактора среды обитания заключается в расшифровке молекулярных механизмов, посредством которых токсические вещества:

• нарушают нормальную экспрессию белковых молекул;

• индуцируют патологические модификации белков;

• запускают каскады клеточных реакций, приводящих к развитию токсических эффектов.

Омические биомаркеры, включая протеомные, занимают лидирующие позиции среди наиболее перспективных и современных классов биомаркеров. Их исключительная ценность обусловлена способностью точно отражать молекулярные механизмы клеточного повреждения и апоптоза – фундаментальных процессов, лежащих в основе токсических реакций. Прорыв в аналитических технологиях, прежде всего в масс-спектрометрии и высокопроизводительном секвенировании, открыл возможность для идентификации специфических белковых маркеров. Сегодня они рассматриваются как перспективные индикаторы раннего выявления органных и системных повреждений, индуцированных химическими агентами.

Ключевые преимущества омических биомаркеров:

– высокая чувствительность, выражающаяся в способности фиксировать минимальные молекулярные изменения до появления клинических симптомов;

– реакционная способность, обеспечивающая получение данных о первичных клеточных ответах в кратчайшие сроки;

– патогенетическая обоснованность, указывающая на прямую связь с биохимическими путями повреждения клеток.

В практической реализации этого перспективного направления сохраняется существенная проблема. До сих пор не решена задача достоверной интерпретации прогностической значимости выявленных биомаркеров и их трансляции в медико-профилактическую практику. Возникают сложности, связанные:

– с установлением чётких корреляций между уровнем биомаркера и тяжестью нарушений;

– с определением пороговых значений, сигнализирующих о высоком риске развития патологии;

– со стандартизацией методик измерения и оценкой воспроизводимости результатов.

Преодоление этих ограничений требует проведения масштабных проспективных исследований, разработки унифицированных протоколов анализа, создания референсных баз данных по биомаркерным профилям при различных токсических воздействиях, что подчёркивают ведущие исследователи [Fowler B., 2012; Зайцева Н.В. и др., 2020].

Использование биологических моделей в токсикологическом эксперименте является фундаментальным подходом для верификации новых биомаркеров экспозиции. Данная стратегия позволяет детально реконструировать молекулярные механизмы токсического действия химических веществ в

контролируемых условиях [Gibbs R.A. et al., 2004]. Ключевое значение в этом контексте приобретает анализ изменений экспрессии белков у филогенетически близких видов. Подобный подход имеет фундаментальное значение для прогнозирования негативных эффектов в отношении критических органов и систем, выявления ранних молекулярных маркеров токсического воздействия, понимания универсальных механизмов клеточного ответа на химические агенты [Koonin E.V., Galperin M.Y., 2003]. Особую ценность представляет исследование протеомного профиля экспериментальных животных. Оно позволяет не только фиксировать специфические изменения в белковом профиле, но и с высокой степенью достоверности экстраполировать полученные данные на человека [Verma N. et al., 2012]. Этот методологический подход приобретает исключительную важность при изучении неканцерогенных эффектов, вызванных хроническим воздействием субтоксических доз химических веществ. В отличие от эпидемиологических исследований, моделирование процесса в эксперименте обеспечивает контроль условий воздействия, позволяет выявлять тонкие молекулярные изменения до появления клинических симптомов, дает возможность изучать дозозависимые эффекты в динамике. Именно подобные исследования позволяют детально изучить механизм развития неканцерогенных эффектов, индуцированных хроническим воздействием низких доз химических веществ, которые зачастую остаются вне поля зрения в эпидемиологических исследованиях [Соседова Л.М., Филиппова Т.М., 2017].

Исследования протеома модельных организмов (бактерий, насекомых, растений и др.) открывают широкие перспективы для углубления фундаментальных представлений о молекулярных механизмах жизни. Полученные данные обладают высокой трансляционной ценностью и могут быть успешно применены к изучению как физиологических, так и патологических процессов в организме человека. Ключевыми достоинствами таких биологических систем выступают: относительная биологическая простота, облегчающая интерпретацию молекулярных взаимодействий; возможность культивирования в строго контролируемых, стандартизированных условиях, обеспечивающая воспроизводимость экспериментов; масштабируемость, позволяющая получать достаточный биологический материал для проведения статистически обоснованных протеомных исследований; короткие жизненные циклы, ускоряющие изучение динамики протеомных изменений; генетическая доступность, дающая возможность проведения целенаправленных манипуляций и анализа функциональных связей. Эти характеристики делают модельные организмы незаменимыми инструментами для валидации результатов протеомного анализа, выявления эволюционно консервативных молекулярных путей, тестирования новых методов прогнозирования негативных эффектов на основе протеомной диагностики.

Несмотря на значительные успехи в изучении модельных организмов с применением классических биологических подходов и современных омиксных технологий, интеграция накопленных данных остаётся сложной междисциплинарной задачей. К основным проблемам относятся:

– недостаточная межвидовая интеграция данных, обусловленная отсутствием унифицированных платформ для сопоставления протеомных профилей различных биологических систем;

– ограниченный трансфер знаний между научными сообществами, связанный с разобщённостью исследовательских групп, специализирующихся на разных модельных объектах, что затрудняет консолидацию данных;

– сложность экстраполяции результатов на человека, обусловленная различиями в организации генома, протеома и регуляторных сетей между модельными организмами и человеком, что требует тщательной верификации полученных выводов;

– нехватка стандартизированных протоколов, объяснимая вариабельностью методик пробоподготовки и анализа, затрудняющая сопоставление результатов, полученных в разных лабораториях;

– проблема обработки больших данных диктует необходимость разработки специализированных биоинформатических инструментов для анализа и интеграции мультиомных массивов информации.

Для решения этих проблем была основана инициатива HUPO по протеомике модельных организмов (iMOP). Основными целями iMOP являются [Jones A.M. et al., 2012]:

– содействие обмену между различными сообществами модельных организмов и их взаимодействием с HUPO;

– продвижение протеомики в сообществах модельных организмов и внедрение стандартов и передового опыта HUPO;

– объединение и интеграция инструментов, используемых в различных сообществах протеомов и модельных организмов, например, для совмещения баз данных.

К числу модельных объектов относятся позвоночные и беспозвоночные животные, растения, а также микроорганизмы. Интенсивное и глубокое изучение таких организмов обеспечивает высокую результативность научных исследований и способствует формированию целостного, системного понимания их биологии на всех уровнях организации – от молекулярного до организменного. Ключевым научным обоснованием использования модельных организмов выступает принцип эволюционной консервативности. Он гласит, что фундаментальные молекулярные и клеточные механизмы, выявленные при изучении биологической модели, зачастую сохраняются в ходе эволюции, демонстрируют высокую степень сходства у представителей различных таксономических групп, выполняют аналогичные функции в разных биологических системах. Этот принцип позволяет рассматривать модельные организмы не как изолированные объекты исследования, а как эволюционно связанные системы, содержащие общие биологические «кирпичики» жизни. Благодаря эволюционной консервативности полученные экспериментальные данные могут быть экстраполированы на филогенетически родственные организмы, применены к изучению биологических процессов у человека, использованы для моделирования патологических состояний и тестирования терапевтических подходов [Edison A.S. et al., 2016].

Протеомный анализ в исследовании негативных эффектов в эксперименте

Нейротоксический эффект. Применение протеомного анализа на биологических моделях открывает возможности для детального изучения молекулярных механизмов нейродегенерации. В частности, в тканях головного мозга экспериментальных животных удаётся идентифицировать биомаркеры ключевых патологических процессов: окислительного стресса, апоптоза, нарушения роста клеток, дисфункции энергетического метаболизма, синаптических нарушений, сбоев везикулярного транспорта, аномального аксонального роста и навигации [Kaindl A.M. et al., 2006]. Избыточная продукция активных форм кислорода запускает каскад апоптотических реакций, что подтверждается нарушением регуляции полипептидов белка активации тирозин-3-монооксигеназы/триптофана-5-монооксигеназы, сдвигом баланса фосфорилирования и дефосфорилирования. Вероятно, что гибель клеток головного мозга, вызванная избыточной продукцией АФК, происходит путём апоптоза, на что указывает снижение экспрессии белков, участвующих в защите астроцитов при апоптических процессах (Pdcd5 и Pea15). Гибель клеток, предположительно, приводит к нарушениям синаптической функции, зафиксированной по изменению уровня содержания в ткани синапсина 1 (Syn1), регулирующего функцию нервных окончаний в зрелых синапсах, процессы аксоно- и синаптогенеза. Нарушение регуляции гетерогенного ядерного рибонуклеопротеина Q (hnRNP-Q) может свидетельствовать о нарушении транспорта везикул и динамики мРНК. Развитие окислительного стресса, предположительно, влияет на дифференцировку нейронов, что подтверждается снижением содержания даблкортина (Dcx) – белка, критически важного для миграции нейронов и формирования кортикальных слоёв. Вероятное нарушение процессов миграции нейронов и изменение направления конуса роста аксонов можно определить по совокупности снижения экспрессии ингибитора диссоциации Rab 1, увеличения экспрессии ингибитора диссоциации Rho 1, Rho ГТФазы – ключевых регуляторов цитоскелета и аксональной навигации, и белков-медиаторов коллапсинового ответа CRMP-2 и CRMP-4 – участников сигнальных путей, контролирующих рост и направление аксонов.

Кардиотоксический эффект. Протеомный анализ в экспериментах *in vivo* является мощным инструментом для выявления кардиотоксического эффекта химических веществ. Он позволяет идентифицировать изменения в экспрессии белков, которые отражают влияние токсикантов на функции сердца, включая нарушение клеточных процессов, поражение миокарда, дефекты развития сердца, сбои в ангиогенезе и дисфункцию сократительного аппарата кардиомиоцитов. Влияние веществ на дифференцировку кардиомиоцитов и нарушение функции их сократительного аппарата демонстрирует снижение экспрессии сердечного тропина T (*Tnnt2*) [Thygesen K. et al., 2012; Sumi D. et al., 2013; Rebuzzini P. et al., 2015]. Тропонины (TnI, TnT и TnC) – ключевые регуляторные белки, участвующие в Ca^{2+}-зависимой регуляции сокращения и расслабления

кардиомиоцитов. Их дисрегуляция приводит к нарушению сократительной функции миокарда. Снижение экспрессии миозинов (миозин 6 и 7, тропомиозин α-1) ассоциируется с риском развития дефектов межпредсердной перегородки, кардиомиопатии, а также изменениями скорости дилатации и сокращения сердца [Nath A.K. et al., 2009; Zheng D. et al., 2014; Al-Numair N.S. et al., 2016]. Эти белки играют важную роль в структуре и функции миофибрилл, обеспечивая сокращение мышечных волокон. Снижение экспрессии талина 1 и винкулина указывает на развитие нарушения морфогенеза миокарда, структуры сердца и атеросклероза [von Essen M. et al., 2016; Huang Q. et al., 2017]. Талин и винкулин – белки цитоскелета, участвующие в поддержании структуры клеток и их взаимодействии с внеклеточным матриксом. Их дисрегуляция может приводить к структурным изменениям в миокарде. Развитие сердечной недостаточности и изменение морфометрических параметров сердца в виде снижения абсолютной и относительной массы сопровождаются снижением экспрессии виментина и протеина 5 доменов PDZ и LIM (*Pdlim5*). Виментин – белок промежуточного филамента, обеспечивающий механическую стабильность клеток, а Pdlim5 участвует в сигнальных путях, регулирующих структуру и функцию кардиомиоцитов. Нарушение ангиогенеза и развитие артериального тромбоза можно определить по ингибированию экспрессии циклофилина А (*Ppia*) и Т-кининогена 2 (*Kng1*) [von Essen M. et al., 2016]. Циклофилин А участвует в регуляции сосудистого тонуса и воспаления, а Kng1 – в системе кинин-калликреин, влияющей на сосудистую проницаемость и фибринолиз. Протеомные исследования позволяют выявить и другие механизмы кардиотоксичности, такие как окислительный стресс, митохондриальная дисфункция кардиомиоцитов, программируемая и неконтролируемая гибель кардиомиоцитов, дисбаланс Ca^{2+} в цитоплазме, ведущий к диссипации мембранного потенциала.

Гепатотоксический эффект. Протеомный анализ позволяет выявить изменения в экспрессии белков печени, которые связаны с воздействием гепатотоксических химических веществ. Эти изменения отражают механизмы повреждения печени, включая развитие жировой дистрофии, фиброза, цирроза и окислительного стресса. При хроническом повреждении печени (например, под действием токсикантов) активируются звёздчатые клетки (клетки Ито). В норме они содержат запасы витамина А, но при активации теряют липидные капли, трансформируются в миофибробластоподобные клетки и начинают активно синтезировать компоненты внеклеточного матрикса: коллаген (I, III, IV типов), фибронектин, ламинин, эластин и другие белки. Это приводит к избыточному отложению соединительной ткани – фиброзу. При прогрессировании процесса развивается цирроз печени с нарушением архитектоники ткани [Kawada N. et al., 2001; Low T.Y. et al., 2004]. Активации звёздчатых клеток предшествует жировая дистрофия печени. Одним из механизмов развития жировой дистрофии является нарушение катаболизма жирных кислот, сопровождающееся снижением экспрессии ключевых ферментов: длинноцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы, α- и β-субъединиц флавопротеина, некоторых

изоформ короткоцепочечной еноил-КоА-гидратазы и глицин-N-метилтрансферазы в тканях печени [Grimbert S. et al.,1993; Low T.Y. et al., 2004]. Нарушение окисления жирных кислот приводит к их накоплению в гепатоцитах в виде триглицеридов. Это может повреждать мембраны клеток, способствовать дальнейшему прогрессированию патологии. Отмеченные изменения влияют на клеточное дыхание, в результате чего наблюдается снижение образования сукцинил-КоА – кофермента, модулирующего скорость синтеза δ-аминолевулиновой кислоты (АЛК) [Bonkowsky H.L., Pomeroy J.S., 1977]. АЛК участвует в процессе биосинтеза гема в качестве катализатора. Ингибирование биосинтеза гема, в свою очередь, может снижать экспрессию цитохрома Р450, так как гем является его положительным регулятором транскрипции [Bhat G.J., Padmanaban G., 1988]. Ингибирование биосинтеза гема также может повлиять на экспрессию гемопротеинов, в том числе каталазы – катализатора разложения пероксида водорода и, как следствие, фермента, защищающего организм от негативных эффектов окислительного стресса [Low T.Y. et al., 2004]. Помимо снижения активности синтеза гема, развитию окислительного стресса предшествует снижение экспрессии лёгкой цепи тканевого ферритина (*Ftl1*). Предположительно, при одновременном подавлении экспрессии гема и тканевого ферритина увеличивается содержание железа в свободной форме. Железо способно выступать в роли катализатора в реакциях Фентона и Габера-Вейса. В результате этого пероксид водорода и кислород усиливают свою токсичность за счёт образования широкого спектра свободных радикалов [Crichton R.R. et al., 2002]. Воздействие свободных радикалов приводит к перекисному окислению липидов в гепатоцитах, вследствие этого в тканях печени увеличивается содержание МДА и 4-гидрокси-2-ноненаля, что, в свою очередь, может стимулировать сверхэкспрессию *Akr1b1* [Rittner H.L. et al., 1999; Koh Y.H. et al., 2000]. Предполагается, что *Akr1b1* может служить потенциальным биомаркером гепатокарциногенеза на ранних этапах развития патологии [Zeindl-Eberhart E. et al., 1994, 2001].

Пневмотоксический эффект. Экспериментальными исследованиями *in vivo* подтверждена эффективность протеомного анализа для выявления фиброза и воспалительных процессов в тканях лёгких. При моделировании условий, вызывающих данные патоморфологические изменения, установлено увеличение уровней экспрессии ряда белков, что позволяет мониторировать развитие заболеваний дыхательной системы. К ключевым белкам, уровень экспрессии которых увеличивается, относятся *Cd14, Psap, Col1a1* и *Gm2a*; снижается – *Itga8, Timp3* и *Cldn5* [Bo C. et al., 2020]. *CD14* способствует процессу эндоцитоза толл-подобного рецептора 4 макрофагами, что позволяет фагоцитировать частицы химических веществ, попавших в лёгкие. При поглощении макрофагами неразлагающихся частиц развивается лизосомальный стресс и активируются воспалительные процессы, что приводит к прогрессирующему фиброзу легких [Zanoni I. et al., 2011]. *PSAP* является предшественником четырех сфинголипидных белков-активаторов, известных как сапозины A-D, служащих активаторами лизосомальных гидролаз, в том числе катепсинов

[Shimokawa T. et al., 2013]. Активация катепсина B способствует дифференцировке фибробластов лёгких в миофибробласты, что позволяет им участвовать в развитии фиброза [Kasabova M. et al., 2014]. Такие катепсины, как B, L, C, S и X, способствуют активации IL-1β в макрофагах [Orlowski G.M. et al., 2015]. *CLDN5* – клаудин 5, преимущественно экспрессируется в межклеточных соединениях альвеолярных эндотелиальных клеток. Он играет решающую роль в поддержании легочного эндотелиального барьера [Bo C. et al., 2020]. Снижение его содержания увеличивает проницаемость эндотелия для токсикантов, что может приводить к фиброзу. Кроме того, снижение подавления экспрессии *CLDN5* индуцирует экспрессию *COL1A1*, способствуя инфильтрации макрофагов [Yamagami K. et al., 2015]. Ещё одним фактором, способствующим увеличению проницаемости эпителиального барьера, является разрушение компонентов внеклеточного матрикса. Биомаркером дисбаланса анаболизма и катаболизма белков внеклеточного матрикса может выступать увеличение экспрессии *MMP8*, а также снижение экспрессии его ингибитора – TIMP3 [Bo C. et al., 2020]. *MMP8* – матриксная металлопротеиназа, может разрушать базальную мембрану и внеклеточные белки, вызывая нарушение и ремоделирование дыхательных путей при развитии хронической обструктивной болезни легких [Dong T. et al., 2020]. *ITGA8* – интегрин, один из важных белков, усиливающих генерацию компонентов внеклеточного матрикса [Volkert G. et al., 2014]. Он ослабляет фибротические процессы за счет регуляции передачи сигналов TGF-β-Smad2/3, активации фибробластов и инфильтрации иммунных клеток [Marek I. et al., 2016]. Снижение экспрессии *ITGA8* способствует развитию фиброза лёгких.

Нефротоксический эффект. В научной литературе описано использование протеомного анализа для изучения нефротоксических свойств химических веществ в экспериментальных исследованиях на животных. Этот метод позволяет идентифицировать изменения в экспрессии белков, которые могут служить биомаркерами повреждения почек, в частности, проксимальных и дистальных канальцев. Среди перспективных биомаркеров повреждения проксимальных и дистальных канальцев почек названо изменение уровней экспрессии *Ngal, Kim-1, Spp1, Clu, Rpa-1* и *GST-YB-1* в моче и тканях почек [Bonventure J.V. et al., 2010; Fuchs T.C. et al., 2012]. На примере экспозиции тиоацетамидом отмечено увеличение уровней экспрессии *Kim-1, NGAL, Ank* и *ASAP2*; снижение экспрессии *RGS14, MAP7, Tmod1, NQO2* и *MUP* [Lim J.Y. et al., 2022]. *ASAP2* участвует в регуляции везикулярного транспорта, передаче сигналов, клеточной миграции, аутофагии, что способствует прогрессированию клеточного цикла и потенциально может привести к росту опухолей [Fujii A. et al., 2021; Huang X. et al., 2022]. Белки семейства *MAP* (микротрубочковых ассоциированных белков) стабилизируют микротрубочки цитоскелета, образуя с ними связи [Bhat K.M., Setaluri V., 2007]. В частности, *MAP7* катализирует экспрессию *TRPV4* в мембране клеток. В почечных эпителиальных клетках активация каналов *TRPV4* происходит в результате гипотонического набухания клеток, что позволяет предположить, что он действует как осмосенсор и

может играть критическую роль при ишемическом/реперфузионном повреждении почек и при аутосомно-рецессивном поликистозе [Woudenberg-Vrenken T.E. et al., 2009; Zaika O. et al., 2013]. Снижение экспрессии *MAP7* в клетках почек ведёт за собой снижение активности *TRPV4*, в результате чего могут развиваться патологические изменения органа. В подержании нормального функционирования цитоскелета также активно участвуют протеины семейства *TMOD*, представляющие собой актин-связывающие белки, покрывающие концы актиновых филаментов – основного компонента цитоскелета [Fath T., 2013]. Экспрессирующийся в дистальных канальцах и собирательных трубочках почек *TMOD1* участвует в метаболических процессах, в частности, в регуляции водного гомеостаза, фосфорилировании белков и в путях передачи сигналов [Wang W. et al., 2019]. Снижение активности *TMOD1* совместно с увеличением экспрессии *Kim-1* и *NGAL* может указывать на нарушение функций почечных канальцев. *NGAL* – белок семейства липокалинов, компонент острой фазы воспалительного ответа. При повреждении почек повышается его синтез в дистальных частях нефрона, что приводит к увеличению концентрации в моче. *NGAL* рассматривается как ранний биомаркер развивающегося острого почечного повреждения и предиктор возможной трансформации в хроническую болезнь почек. *NQO2* представляет собой цитоплазматический фермент, локализующийся преимущественно в клетках скелетных мышц, почек, печени, легких и сердца [Janda E. et al., 2020]. В исследованиях *in vitro* установлена активация антиоксидантных ферментов при ингибировании активности *NQO2*, что повышает устойчивость клеток к окислительному повреждению, вызванному АФК [Zhang X. et al., 2012a, 2012b]. Снижение экспрессии *NQO2* в почках может указывать на мобилизацию системы антиоксидантной защиты в ответ на повышение генерации АФК при воздействии химического вещества. *MUP* является низкомолекулярным членом семейства липокалина, синтезируемым преимущественно в печени, который затем секретируется в кровоток и выводится из организма с мочой [Gomez-Baena G. et al., 2014; Guo X. et al., 2018]. 60 % синтезированного *MUP* реабсорбируется в проксимальных канальцах и распадается в лизосомальном компартменте почек до белковых продуктов, накапливающихся в цитоплазме [Wang Y., 2000]. Снижение экспрессии *MUP* в тканях почек может быть связано с нарушением функций и/или повреждением проксимальных и дистальных канальцев, приводящим к снижению секреции [Lim J.Y. et al., 2022].

Панкреатотоксический эффект. В источниках научной литературы описано изменение протеомного профиля при воздействии химических веществ, приводящих к нарушению функции поджелудочной железы экспериментальных животных. При развитии острого панкреатита, обусловленного негативным воздействием токсикантов, в ткани поджелудочной железы отмечают увеличение экспрессии большинства белков семейства ингибиторов сериновых протеаз (*SPI*). *SPI* принимают участие в процессах ингибирования ферментативной активности сериновых протеаз, активации комплемента, свертывания крови, воспаления, фибринолиза [Khan M.S. et al., 2011]. Отмечено увеличение

экспрессии белков цитоскелета, включая цитоплазматический *Actg1, Tuba4a, Krt 8, Krt 18, Krt 6a, Krt 19* [Wang R. et al., 2023], что потенциально может влиять на функционирование микротрубочек, организацию зимогенных гранул и вызывать экзокринную атрофию, что приводит к снижению продукции пищеварительных ферментов [Wade R.H., 2007; Toivola D.M. et al., 2008]. Зафиксировано увеличение экспрессии *Apoa1, Apoa2* и *Apoc3*, участвующих в процессах регуляции липидного обмена [Wang R. et al., 2023].

Энтеро- и колонотоксический эффект. При пероральном пути поступления химических веществ с помощью протеомного анализа в тканях кишечника можно идентифицировать биомаркеры развития окислительного стресса, изменения процессов метаболизма, связывания белков, передачи сигналов, нарушения функций клеточных компонентов, а также развития нейродегенеративных заболеваний. Угнетение системы антиоксидантной защиты в тканях кишечника отмечают по снижению экспрессии пероксиредоксина, катализирующего процессы выведения перекиси водорода и АФК из клетки [Wang J. et al., 2012; Wang H. et al., 2017]. Окислительный стресс называют причиной повышения экспрессии HSP в тканях кишечника [Wang H. et al., 2017]. Нарушение метаболизма жирных кислот можно выявить по снижению экспрессии белка, связывающего жирные кислоты (*FABP*). *FABP* локализуется в цитоплазме эпителиальных клеток тонкого кишечника и участвует в абсорбции, внутриклеточном метаболизме и транспортировке длинноцепочечных жирных кислот [Storch J., McDermott L., 2009]. Нарушение абсорбции эпителия кишечника в связи с изменением функции клеток также отмечают по ингибированию экспрессии белков семейства химотрипсина и трипсина. При пероральном поступлении нейротоксикантов в тонком кишечнике наблюдается изменение активности белков, связанных с болезнями Хантингтона, Альцгеймера и Паркинсона (*Gapdh, Atp5g1, Cycsl2* и *Creb1*) [Wang H. et al., 2017].

Трансформация протеомного профиля при изолированном действии химических веществ в эксперименте

Важнейшее преимущество контролируемого лабораторного эксперимента заключается в возможности исследовать эффекты изолированного действия конкретного химического вещества. В реальных условиях, где организм подвергается комбинированному воздействию сложной смеси химических соединений, подобная изоляция практически недостижима. Использование биологических моделей даёт возможность получать точные и воспроизводимые данные о нарушениях гомеостаза на клеточно-молекулярном уровне [Harris W.R., 1992]. Отмечено, что ценность модельных организмов обусловлена комплексом ключевых преимуществ, позволяющих решать задачи, недоступные при работе с человеческими объектами [Alberts B., 2010]. Ключевые преимущества моделей, по мнению автора, включают:

– экспериментальную манипулируемость: возможность прямого вмешательства в биологические процессы, что недопустимо в исследованиях на людях;

– короткое время генерации: позволяет быстро изучать сложные генетические механизмы и наследование признаков;

– мощный генетический инструментарий: наличие специфических методов (например, РНК-интерференция, направленный мутагенез), позволяющих «расшифровать» функции генов гораздо эффективнее.

Это распространяется как на общебиологические и биохимические эксперименты, так и на протеомные исследования в частности [Kolmeder C.A., de Vos W.M., 2014]. Экспериментально выявленные изменения служат фундаментом для построения прогностических моделей, а также разработки стратегий ранней диагностики и профилактики заболеваний, ассоциированных с химическим воздействием [Verma N. et al., 2012].

Алюминия оксид. В конкретных экспериментальных исследованиях установлено, что при хронической ингаляционной экспозиции оксидом алюминия на уровне 0,0025 мг/(кг х сутки) (эквивалентно реальному содержанию в атмосферном воздухе населенных мест на уровне 0,1 ПДКс.г.) у животных опытной группы содержание алюминия в моче установлено в 3,5 раза выше относительно аналогичного показателя в контрольной группе [Землянова М.А. и др., 2023; Пескова Е.В., 2024b]. В результате денситометрического измерения и сравнительного анализа протеомных карт плазмы крови экспонированных и неэкспонированных животных установлено 13 белковых пятен, интенсивность которых достоверно отличается между группами и доказано связана с содержанием алюминия в моче. При сопоставлении масс-спектров данных белковых пятен идентифицировано 8 белков, совпадающих с белками библиотечного масс-спектра (табл. 4.1).

Таблица 4.1

Белки и кодирующие их гены плазмы крови крыс линии Wistar, их участие в ключевых биологических процессах и специфические ткани

Название белка	Ген крысы	Индекс UniProt	Участие в ключевых биологических процессах	Тканеспецифическая экспрессия
1	2	3	4	5
Актин-связывающий Rho-активирующий белок	Abra	Q8K4K7	– Транспорт белков – Транскрипция и ее регулирование – Транслокация	Сердце Мышцы
Альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1	Aldh1a7	P13601	– Процесс деградации этанола	Печень Сердце
Аполипопротеин A-I	Apoa1	P04639	– Метаболизм холестерина, липидов, стероидов и стеролов – Транспорт липидов	Печень Тонкая кишка

Окончание таблицы 4.1

1	2	3	4	5
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Sec22b	Q4KM74	– Транспорт между эндоплазматическим ретикулумом и аппаратом Гольджи – Транспорт белков	Селезенка Матка Печень
Фактор элонгации 1-γ	Eef1g	Q68FR6	– Биосинтез белков	Селезенка
Нейросекреторный белок VGF	Vgf	P20156	– Регуляция нейрональной синаптической пластичности	Головной мозг Надпочечники
Пумилио гомолог 3	Pum3	Q562C7	– Трансляционная регуляция	Печень Тимус
Тенеурин-2	Tenm2	Q9R1K2	– Клеточная адгезия – Транскрипция и ее регулирование	Головной мозг Нейроны

Биоинформационный анализ позволил идентифицировать гены, кодирующие выявленные белки, определить их участие в биологических процессах (клеточных, метаболических и регуляторных), локализовать ткани с повышенной экспрессией этих генов (печень, головной мозг, сердце, мышцы, тонкая кишка, селезёнка, матка, яички, надпочечники). У человека выявлены ортологи данных генов. Это даёт основание рассматривать экспериментально обнаруженные белки в качестве биомаркеров негативных ответов организма. На этой основе можно прогнозировать развитие патологий сердечно-сосудистой системы, печени и головного мозга при длительной аэрогенной экспозиции оксидом алюминия (табл. 4.2).

В ходе протеомного исследования выявлены ключевые белки-маркеры, ассоциированные с токсическим действием алюминия и его соединений. К белкам-маркерам кардиоваскулярных рисков относится белок, специфически экспрессируемый в тканях сердца и мышц – актин-связывающий Rho-активирующий белок [Arai A. et al., 2002]. Гиперэкспрессия данного белка в тканях сердца повышает чувствительность миокарда к перегрузке давлением и нарушению сигнальной трансдукции. Это ассоциируется с риском развития кардиомиопатии при гипертрофических стимулах [Wallace M.A., Russell A.P., 2013]. Помимо этого, выявлен белок аполипопротеин A-I, который также является маркером развития кардиоваскулярных рисков, связанных с ожирением, атеросклерозом, гипертонией и нарушением метаболизма липопротеидов. Он входит в состав ЛПВП и синтезируется преимущественно в печени и тонком кишечнике. Его сверхэкспрессия стимулирует специфичный для макрофагов обратный транспорт холестерина [Halley P. et al., 2014].

Таблица 4.2

Белки и кодирующие их гены плазмы крови крыс, гены-ортологи и прогнозируемые заболевания у человека

Наименование белка	Ген крысы	Ген человека (ортолог)	Маркер прогнозируемого заболевания
Актин-связывающий Rho-активирующий белок	Abra	ABRA	Дилатационная кардиомиопатия
Альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1	Aldh1a7	ALDH1A1	Заболевания печени Сердечная недостаточность
Аполипопротеин A-I	Apoa1	APOA1	Атеросклероз Гипертония Нарушения метаболизма липопротеидов Ожирение
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Sec22b	SEC22B	–
Фактор элонгации 1-γ	Eef1g	EEF1G	–
Нейросекреторный белок VGF	Vgf	VGF	Гиперфагия Ожирение Нарушения памяти
Пумилио гомолог 3	Pum3	PUM3	–
Тенеурин-2	Tenm2	TENM2	–

Белком-маркером гепатотоксического воздействия алюминия является альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1, высоко экспрессирующийся в тканях печени, где также обнаружено накопление алюминия. Исследования показали, что значительное накопление алюминия в тканях печени может приводить к возникновению умеренной гиперплазии желчных протоков и жировой дистрофии печени [Bogdanovic M. et al., 2008]. Белком-маркером нейродегенеративных рисков, ассоциированных с воздействием алюминия, является нейросекреторный белок VGF, широко экспрессируемый в различных отделах головного мозга и периферических тканях. Данный белок участвует в регуляции энергетического гомеостаза и может рассматриваться как потенциальный маркер нейродегенеративных нарушений [Lewis J.E. et al., 2015].

На основании анализа экспрессии белков отмечено, что критическими органами и системами при ингаляционном воздействии оксида алюминия являются центральная нервная система, в частности, головной мозг, в связи с нейротоксичностью алюминия, и органы дыхания как первичный путь поступления, со стороны которых формируется риск развития негативных эффек-

тов. Изменение экспрессии белков, обнаруженных в представленном исследовании, позволило расширить перечень органов и систем (печень – ввиду накопления алюминия и изменений метаболизма, сердечно-сосудистая система – из-за риска кардиомиопатии и метаболических нарушений), функциональные процессы которых изменяются при воздействии алюминия на клеточно-молекулярном уровне.

Гидрофторид. При ингаляционном воздействии фторида водорода на уровне 0,012 мг/(кг х сутки) (эквивалентно реальному содержанию в атмосферном воздухе на уровне 0,3 ПДКс.г.) концентрация фторид-иона в моче крыс линии Wistar опытной группы превысила контроль в 19 раз, что подтверждает системное поступление токсиканта. Сравнительный анализ трансформации протеомного профиля плазмы крови крыс на основании результатов денситометрии протеомных карт выявил 13 белковых пятен с достоверно различающейся интенсивностью между опытной и контрольной группами [Пескова Е.В., Степанков М.С., 2023; Пескова Е.В., 2023]. Из полученных моделей зависимости выявлено, что все исследуемые белковые пятна увеличивают свою интенсивность при повышении концентрации фторид-иона в моче. Однако для 4 белков установлена сильная связь с ростом концентрации фторид-иона в моче (R^2 = 0,66-0,78), что указывает на дозозависимый эффект.

Функциональная роль белков, входящих в состав указанных белковых пятен, рассмотрена подробнее. Белок Тектин-2 входит в состав семейства белков Тектинов, высоко экспрессирующихся во взрослом мозге, эмбриональных стадиях развития сосудистого сплетения, формирующейся сетчатки и нейронов обонятельных рецепторов [Dec K. et al., 2017]. Нейросекреторный белок VGF участвует в ремоделировании нейронов, регуляции энергетического баланса и метаболизма, патогенезе нейродегенеративных нарушений, включая болезнь Гентингтона, боковой амиотрофический склероз и психические расстройства [Dionizio A.S. et al., 2018]. Обнаружено, что накопление фтора в гиппокампе провоцирует дегенерацию нейронов через окислительный стресс (образование АФК) [Goschorska M. et al., 2015]. Связывание выявленного белка аполипопротеина A-I с β-амилоидом может влиять на морфологию амилоидных агрегатов и защиту нейронов от индуцированного β-амилоидом окислительного стресса и нейротоксичности. В модели ГЭБ *in vitro* степень липидизации аполипопротеина A-I коррелирует с клиренсом β-амилоида [Mangaraj M. et al., 2016]. В ткани головного мозга ангиотензинпревращающий фермент (АПФ) принимает участие в местной системе регуляции артериального давления, катализирует протеолиз β-амилоид 42 (токсичная форма, агрегирует в бляшки) в β-амилоид 40 (менее токсичная форма). Ингибирование АПФ (особенно N-доменной активности) может приводить к накоплению β-амилоида 42 и прогрессированию когнитивных нарушений [Tong J.H. et al., 2022]. Обобщение патогенетических механизмов нейротоксичности фтора позволяет выделить ключевые звенья:

– окислительный стресс – накопление фтора в гиппокампе → образование активных форм кислорода (АФК) → повреждение нейронов;

– нарушение амилоидного обмена – снижение клиренса β-амилоида из-за изменений в аполипопротеине A-I и АПФ → риск амилоидоза;

– энергетический дисбаланс – дисрегуляция белка VGF → нарушение метаболизма нейронов.

Бенз(а)пирен. В эксперименте на биологической модели (крысы линии Wistar) при ингаляционной экспозиции на уровне 0,00001 мг/(кг × сутки) (эквивалентно реальному содержанию в атмосферном воздухе населенных мест на уровне 2,2 ПДКс.г.) выявлена трансформация протеомного профиля плазмы крови. Это проявляется в изменении интенсивности белковых пятен, статистически достоверно связанных с воздействием изучаемого вещества. Методом масс-спектрометрии идентифицированы белки с изменённой экспрессией. Повышенный синтез отмечен для белков *Eef1g, Tenm2, Sec22b, Vwf, Apoa1, Krt5, Ttr, Abra*. Сниженный синтез зафиксирован для белков *Tekt2* и *Sdad1*. Биоинформационный анализ продемонстрировал, что рост концентрации бенз(а)пирена в крови сопряжён с изменением экспрессии указанных белков в тканях легких, тимуса, печени, сердца и эндотелия сосудов. У человека выявлены ортологи генов, кодирующих экспрессию белков, обнаруженных в эксперименте. Это позволяет экстраполировать полученные данные на человека при решении задач прогнозирования рисков для его здоровья.

На основании анализа функций выявленных белков определены потенциальные негативные эффекты, включая нарушение метаболизма липопротеидов, развитие ожирения, возникновение артериальной гипертензии (гипертонии), формирование мерцательной аритмии, прогрессирование сердечной недостаточности, развитие атеросклероза, риск кардиомиопатии.

Медь оксид (в пересчете на медь). Экспериментальные исследования изолированного действия меди оксида при экспозиции 0,015 мг/(кг × сутки) (эквивалентно реальному содержанию в воздушной среде на уровне 2,2 ПДКс.г.) выявили изменения протеомного профиля плазмы крови крыс [Пескова Е.В., 2025]. Установлены достоверные различия в экспрессии 26 белков между опытной группой и контролем (p = 0,000–0,012). Для всех обнаруженных белков подтверждена дозозависимая реакция: их экспрессия значимо изменяется при повышении концентрации меди в крови (p = 0,000–0,042). Биоинформационный анализ тканевой специфичности показал, что белки с изменённой экспрессией синтезируются в различных органах и тканях: в лёгких – 13 белков (преимущественная экспрессия, согласующаяся с аэрогенным путём воздействия меди оксида), головном мозге – 13 белков, сердце – 11 белков, селезёнке – 8 белков, почках – 7 белков, печени и тимусе – по 4 белка. Это указывает на системный характер токсического действия меди оксида, выходящего за рамки первичного поражения органов дыхания. На основании анализа генов, ассоциированных с выявленными белками, спрогнозированы риски развития негативных эффектов у населения в условиях аэрогенной экспозиции меди оксида (по данным базы CDC). Органами-мишенями воздействия являются:

а) нервная система (гены-маркеры – *Vgf, Hbb, Hsp90ab1, Krt75, Prkra, Ace, Gys1, Smarca4, Igkc, Aldh1a7*) – в виде нарушения нейротрансмиссии, дисре-

гуляции энергетического метаболизма нейронов, нейродегенеративных изменений;

б) сердечно-сосудистая система (гены-маркеры – *Tep1, Krt75, Ace, Gys1, Smarca4, Aldh1a7*) – в виде дисфункции эндотелия, нарушения сократимости миокарда, риска артериальной гипертензии и кардиомиопатии;

в) иммунная система (гены-маркеры – *Ddx1, Hsp90ab1, Rbl2, Smarca4, Igkc*) – в виде подавления лимфоидной пролиферации, нарушения антигенпрезентации, аутоиммунных реакций.

Патогенетические механизмы негативного воздействия оксида меди характеризуются рядом ключевых звеньев. При аэрогенном воздействии оксида меди органы дыхания выступают первичной мишенью. Это обусловлено прямым контактом респираторного тракта с ингаляционными частицами вещества. Выявленные белки, экспрессирующиеся в лёгких, отражают ранние локальные эффекторные воспалительные реакции, инициированные прямым цитотоксическим действием частиц на слизистую оболочку дыхательных путей. Процесс сопровождается активацией провоспалительных цитокинов и медиаторов, что ведёт к гиперреактивности слизистой и риску хронизации процесса (например, формированию хронического ринита). В свою очередь, медь катализирует образование активных форм кислорода. АФК повреждают клеточные мембраны, ДНК и митохондрии, развивается дисбаланс между прооксидантными и антиоксидантными системами. Следствием становится повреждение альвеолярных макрофагов и эпителиоцитов. Иммунные нарушения развиваются как результат взаимодействия оксида меди с иммунными клетками, что провоцирует дегрануляцию тучных клеток. Высвобождение при этом гистамина и других провоспалительных факторов усиливает местную реакцию. Возможно формирование антигенных комплексов с сывороточными и тканевыми белками. Морфологические изменения характеризуются гиперплазией лимфоидной ткани в бронхоальвеолярной зоне с вероятным развитием отёка, эмфиземы и микрокровоизлияний при субхроническом воздействии. Отмечается нарушение соотношения клеточных популяций в бронхоальвеолярном лаваже (увеличение доли нейтрофилов, числа альвеолярных макрофагов до 2,5 раза) [Степанков М.С., 2023]. Молекулярными маркерами поражения лёгких являются выявленные белки, экспрессирующиеся в лёгочной ткани. Изменение их экспрессии отражает активацию воспалительных путей, усиление окислительных процессов, нарушение клеточного гомеостаза, дисрегуляцию иммунных реакций.

Системное действие связано с проникновением меди в кровоток, приводящим к накоплению металла в других органах, что подтверждается экспрессией маркерных белков в мозге, сердце, селезёнке, почках, печени и тимусе. Молекулярными мишенями воздействия являются гены, регулирующие стресс-ответ (Hsp90ab1), клеточную пролиферацию и дифференцировку (Smarca4, Rbl2), метаболизм липидов и углеводов (Aldh1a7, Gys1), сосудистый тонус (Ace). Следовательно, выявленные белки и кодирующие их гены выступают биомаркерами ранних молекулярных нарушений, индуцированных аэрогенной

экспозицией оксида меди. Их диагностическая ценность обусловлена тем, что они отражают сбои в сигнальных путях, нарушение рецептор-опосредованной передачи сигналов, дисрегуляцию киназных каскадов, сбой в путях апоптоза и пролиферации клеток.

Хром оксид (в пересчете на хром(VI)). Исследование изолированного ингаляционного действия хрома оксида на протеомный профиль плазмы крови [Пескова Е.В., Булатова Н.И., 2025] при экспозиции 0,00008 мг/(кг × сутки) (эквивалентно реальному содержанию в воздушной среде жилой застройки на уровне 2,2 ПДКс.г.) выявило статистически значимые различия экспрессии 25 белков (по критерию интенсивности) в опытной группе относительно контроля. Установлено значимое увеличение до 28,3 раза синтеза 23 белков (p = 0,000–0,004) и уменьшение в 1,3-1,4 раза синтеза 2 белков (p = 0,0001). Выявлены 22 прямые зависимости повышения экспрессии белков при увеличении концентрации хрома в крови (R^2 = 0,26–0,68; p = 0,000–0,042) и 2 обратных зависимости снижения экспрессии (R^2 = 0,49–0,64; p = 0,000–0,002) при повышении концентрации хрома в крови. Биоинформационный анализ показал локализацию синтеза белков в следующих органах: 9 выявленных белков преимущественно экспрессируются в тканях легких (первичная мишень при ингаляционном воздействии), 8 – в почках и 7 – в печени. Вместе с тем установлено, что 15 белков синтезируются в тканях головного мозга и 12 – в тканях сердца. Это расширяет перечень критических органов и систем, подверженных токсическому действию хрома на клеточно-молекулярном уровне (рис. 4.2).

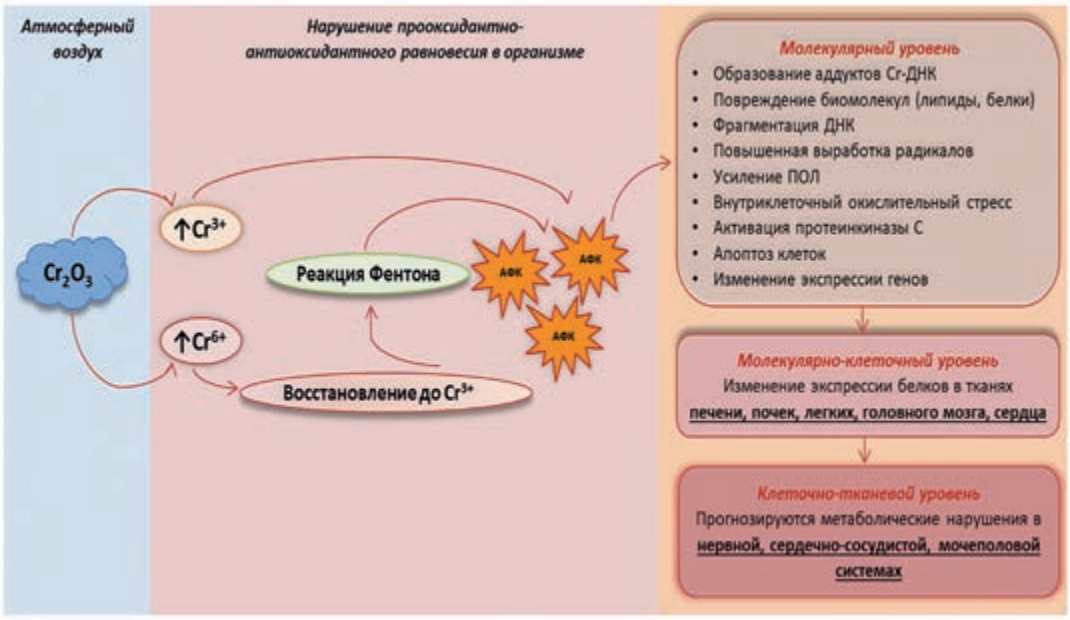


Рис. 4.2. Основные элементы клеточно-молекулярного механизма развития негативных эффектов при ингаляционном действии хрома/оксида хрома

Прогнозируемые негативные эффекты, ассоциированные с генами, кодирующими идентифицированные белки, характеризуются рисками для следующих органов и систем:

а) нервная система (гены *B4galt4, Nup35, Aldh1a7, Rax, Tagln, Acot2, Ifrd1, Syncrip, Colq, Spast, Wt1*) – в виде нарушения нейрональной дифференцировки, дисрегуляции синаптической передачи, нейродегенеративных изменений;

б) сердечно-сосудистая система (гены *B4galt4, Nup35, Aldh1a7, Acot2, Ifrd1, Syncrip, Colq, Spast)* – в виде эндотелиальной дисфункции, нарушения сократимости миокарда, риска артериальной гипертензии и кардиомиопатии;

в) мочеполовая система (гены *Nup35, Aldh1a7, Acot2, Syncrip, Colq, Wt1*) – в виде повреждения почечных канальцев, нарушения гомеостаза электролитов, риска нефропатии и репродуктивных нарушений.

Патогенетические механизмы развития прогнозируемых негативных эффектов, ассоциированных с ингаляционной экспозицией хрома оксида, включают:

– индукцию системного окислительного стресса с генерацией активных форм кислорода (АФК), инициирующих повреждение биомембран и генотоксические эффекты (фрагментацию ДНК);

– дестабилизацию металлолигандного гомеостаза, обусловленную конкурентным замещением эндогенных биометаллов (Fe, Zn) в активных центрах ферментативных систем;

– эпигенетическую модуляцию экспрессии генов-регуляторов клеточного цикла и метаболизма (Nup35, Aldh1a7);

– персистирующее воспаление, развивающееся вследствие активации провоспалительных сигнальных каскадов в органах-мишенях (легкие, печень, почки).

Никель оксид (в пересчете на никель). В другом исследовании изучена функциональная характеристика белков плазмы крови крыс при изолированной ингаляционной экспозиции никеля оксида на уровне 0,007 мг/(кг × сутки) (эквивалентно реальному содержанию в атмосферном воздухе жилой застройки на уровне 2,2 ПДКс.г.) [Пескова Е.В., 2024с]. Сравнительный анализ результатов денситометрического измерения протеомных карт плазмы крови крыс опытной группы позволил выявить 22 белковых пятна с достоверными различиями интенсивности по сравнению с контролем. Среди них 8 белковых пятен продемонстрировали достоверное увеличение интенсивности (в диапазоне от 2,0 до 13,1 раза) и 14 белковых пятен показали достоверное снижение интенсивности (от 1,2 до 14,1 раза) (p = 0,000–0,005). Выявление и оценка параметров моделей причинно-следственных связей «концентрация никеля в крови – изменение интенсивности белкового пятна у крыс» позволили получить 21 достоверное уравнение зависимости, отвечающее критериям адекватности и биологической правдоподобности. Масс-спектрометрическая идентификация выявленных белковых пятен показала, что обнаруженные пептиды соответствуют 22 различным белкам. Функциональный анализ, с помощью базы данных Panther DB, показал, что преобладающие группы белков включают белки-переносчики, белки метаболизма РНК, моторные белки цитоскелета. Классификация белков по их локализации в клеточных компонентах выяви-

ла следующее распределение: 55,6 % входят в состав клеточных структур и 25,9 % локализованы в белковых комплексах. Анализ молекулярных функций показал, что большинство выявленных белков участвует в связывании с другими молекулами, обеспечивают каталитическую активность, проявляют АТФ-зависимую активность, обладают антиоксидантной активностью.

Таким образом, экспериментальные исследования остаются фундаментальным инструментом гигиенических и биомедицинских оценок. Их востребованность обусловлена возможностью культивирования в строго детерминированных условиях, доступностью направленного генетического редактирования для функционального анализа и коротким жизненным циклом, что существенно интенсифицирует получение экспериментальных данных. Обозначенные характеристики позволяют детально реконструировать биологические процессы на молекулярно-генетическом уровне, который зачастую недостижим в исследованиях с участием человека.

4.3. Построение предиктивных моделей на основе интегральных протеомных данных

Систематизация результатов исследований молекулярно-клеточной динамики позволила идентифицировать ключевые звенья дестабилизации биологических систем в условиях аэрогенной экспозиции. Раскрытие механизмов каскадной дезорганизации клеточного гомеостаза в ответ на воздействие приоритетных поллютантов (оксиды Al, Cu, Ni, Cr, фторид водорода, бенз(а)пирен), характерных для выбросов в 65 субъектах РФ, обеспечивает фундамент для предиктивной оценки рисков. Полученные результаты позволяют оптимизировать стратегии адресной профилактики риск-индуцированной патологии на доклиническом этапе.

Для раскрытия молекулярных механизмов токсичности химических веществ широко применяются протеомные технологии, позволяющие идентифицировать мишени инициации патологических эффектов на субклеточном уровне [Cote I. et al., 2016; Yipel M., İlhan A., 2022]. Полученные данные критически важны для картирования ключевых событий на ранней стадии их формирования, что существенно повышает точность дифференциации нормы и патологии на молекулярном уровне [Зайцева Н.В. и др., 2024]. Анализ белкового профиля биосред (плазмы, сыворотки, мочи) позволяет верифицировать гомеостатический ответ организма на условия среды обитания и выявлять маркеры дисбаланса задолго до манифестации функциональных или морфологических нарушений. Данный подход обладает высоким предиктивным потенциалом, обеспечивая прогнозирование негативных эффектов на стадиях, предшествующих клеточно-тканевой деструкции [Anderson N.L., Anderson N.G., 2002; Corzett T.H. et al., 2010; Зайцева Н.В. и др., 2024].

Полученные данные формируют научно-методическую основу для:

• ранней диагностики рисков – идентификации молекулярных предикторов патологии на доклинической стадии;

• оптимизации гигиенического нормирования – учета субклеточных эффектов при научном обосновании и уточнении ПДК;

• верификации белков-мишеней – количественной оценки биологического ответа на изолированное и комбинированное воздействие ксенобиотиков по изменениям протеома;

• совершенствования социально-гигиенического мониторинга – интеграции молекулярных показателей в систему оценки причинно-следственных связей между качеством среды обитания и состоянием здоровья населения.

Построение предиктивных моделей на основе интегральных протеомных данных выполнено на основе результатов реализации алгоритма итерационного прогноза риска развития негативных эффектов [Патент № 148805 от 18.08.2025], патогенетически связанных с трансформацией протеомного профиля, в условиях комбинированного воздействия смеси химических веществ (рис. 4.3).

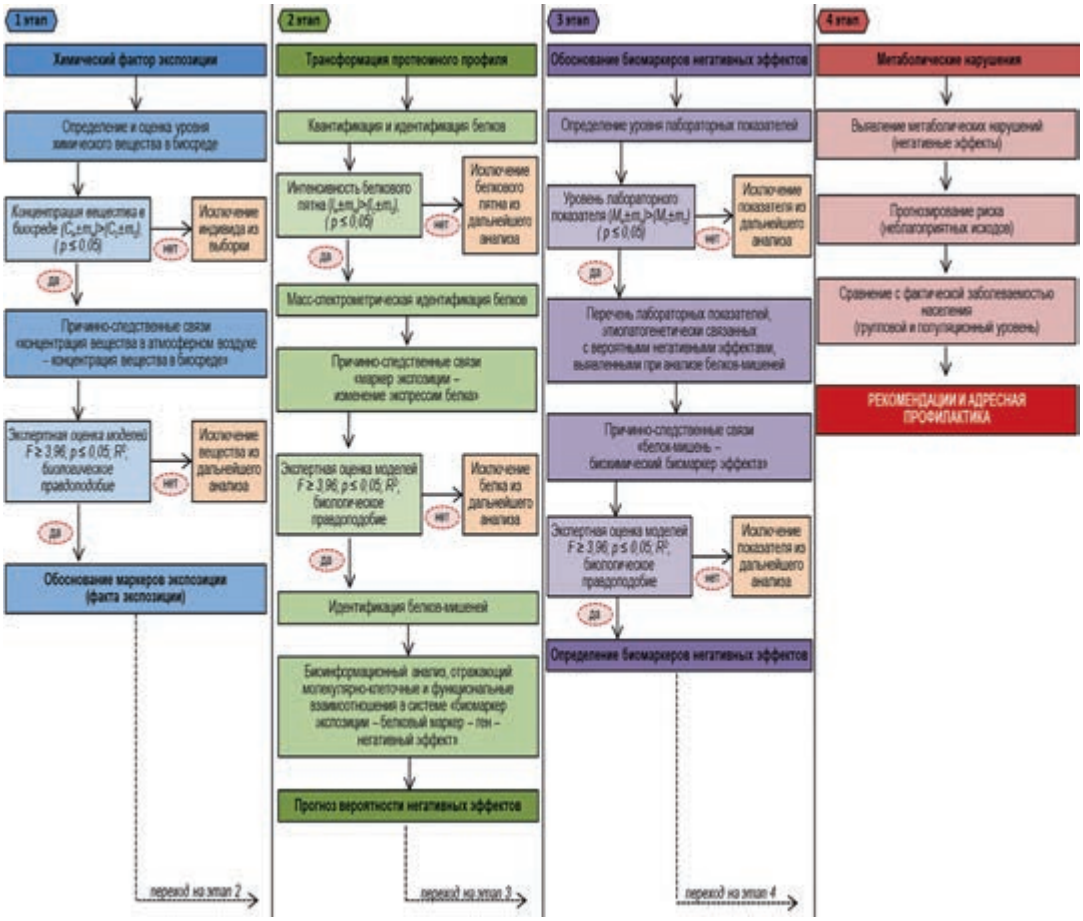


Рис. 4.3. Алгоритм итерационного прогноза риска развития метаболических нарушений, патогенетически связанных с трансформацией протеомного профиля, в условиях комбинированного воздействия химических веществ

В рамках комплексного исследования осуществлялась количественная оценка протеомного профиля плазмы крови с целью выявления биомаркеров воздействия загрязнённого атмосферного воздуха. Ключевыми объектами исследования являлись индикаторные биомолекулы: белки и пептиды, демонстрирующие значимое изменение экспрессии у экспонированных субъектов; гены, кодирующие синтез индикаторных белков (анализ уровней транскрипции).

Группы испытуемых включали детей, подвергавшихся и не подвергавшихся хронической аэрогенной экспозиции (экспонированная и неэкспонированная группа), экспериментальных животных, моделирующих ингаляционное воздействие изучаемых факторов. Характеристика экспозиции, сформированная существующим качеством атмосферного воздуха на селитебных территориях, предусматривала количественную оценку, в том числе при комбинированном поступлении комплекса химических веществ, оценку особенности синергетического/антагонистического взаимодействия токсикантов. Анализировали пробы атмосферного воздуха селитебной территории на содержание приоритетных загрязнителей, биосубстраты (пробы цельной крови, плазмы крови, мочи), квантифицированные белковые пятна, масс-спектры протеомного профиля плазмы крови, идентифицированные белки и пептиды (MS/MS анализ), концентрации изучаемых химических веществ в биосредах (кровь, моча), сопоставимые с внешними экспозиционными дозами, параметры математических моделей, описывающих связь «концентрация – эффект». Целевой анализ предусматривал последовательную оценку параметризированных причинно-следственных связей между уровнем экспозиции, концентрациями токсикантов в биосредах и протеомными изменениями. В качестве белков-мишеней и воздействия обосновывали идентифицированные молекулы, чья экспрессия/модификация достоверно связана с воздействием конкретных химических агентов. На основе анализа протеомных паттернов, ассоциированных с окислительным стрессом, воспалением, нарушением сигнальных путей, цитотоксичностью, выполнен прогноз риска развития негативных биологических ответов у человека в условиях аэрогенного комбинированного действия химических веществ.

Использованные материалы, методы и объёмы исследований ориентированы на получение адекватных и надёжных исходных данных, характеризующих экспрессируемые белки и пептиды в трансформированном протеомном профиле плазмы крови, для прогнозирования риска развития негативных исходов у человека в условиях комбинированного действия химических веществ.

Алгоритм реализован на примере повышенной контаминации биосред, обусловленной хроническим аэрогенным поступлением в организм оксидов алюминия, меди, никеля и хрома, фторида водорода и бенз(а)пирена (результаты собственных исследований, полученных в экспериментальных и реальных условиях за период 2021–2024 гг.).

Обобщение и систематизация включали результаты:

– гигиенической оценки качества атмосферного воздуха селитебной территории по содержанию приоритетных поллютантов (Al_2O_3, HF, B[a]P, CuO, NiO

и Cr_2O_3) на основе данных многолетних мониторинговых наблюдений (2014–2020 гг.);

– анализа соответствия гигиеническим нормативам (ПДКсс) среднегодовых предельно допустимых концентраций (согласно СанПиН 2.1.3684-21) и референтным уровням для хронического ингаляционного поступления (Руководство 2.1.10.3968-23);

– количественной оценки длительной аэрогенной экспозиции и установления критических органов-мишеней (в соответствии с Руководством 2.1.10.3968-23);

– углублённого обследования детей 3-7 лет как наиболее чувствительного к воздействию контингента, подвергающихся и не подвергающихся реальному хроническому (не менее 3 лет) аэрогенному воздействию различных комбинаций химических веществ: группа наблюдения 1 – дети, подвергающиеся комбинированному воздействию Al_2O_3, HF и B[a]P с атмосферным воздухом, группа наблюдения 2 – дети, подвергающиеся комбинированному воздействию CuO, NiO и Cr_2O_3. Для каждой категории сформированы соответствующие группы сравнения. Критерием включения в группы наблюдения служило превышение референтных уровней (RfL) содержания контаминантов в биосредах (алюминий в моче > 0,0065 мг/дм^3, фторид-ион в моче > 0,2 мг/дм^3, бенз(а)пирен в крови > 1 х 10^{-6} мг/дм^3*, никель в крови > 0,001 мг/дм^3, хром в крови > 0,001 мг/дм^3, медь в крови > 0,9 мг/дм^3). В группах сравнения концентрации веществ соответствовали референтным значениям [Клиническое руководство, 2003]. Группы детей сопоставимы по половозрастному составу, нутритивному статусу, социально-бытовым условиям и анамнезу родителей (отсутствию вредных привычек и профессиональных вредностей). Критериями исключения детей из групп являлось наличие острых инфекционных заболеваний менее чем в течение 4 недель до начала обследования, прием медикаментозных препаратов, влияющих на функции органов-мишеней, менее чем за 30 дней до начала обследования. Забор периферической крови (локтевая вена, натощак) и утренней порции мочи для выполнения биохимических исследований осуществляли в соответствии с этическими нормами и требованиями преаналитического этапа. Обследование детей выполнено с соблюдением этических принципов Хельсинской декларации (WMA. Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» с обязательным получением информированного добровольного согласия законного представителя ребёнка. Проведённые исследования не ущемляли прав, не подвергали опасности благополучие субъектов исследования и не причиняли вреда их здоровью;

– экспериментальных исследований, выполненных на крысах линии Wistar (со средней массой 200 г и возрастом 2 месяца, который является сопоставимым с возрастом обследованных детей [Ghasemi A. et al., 2021]), подвергаю-

Примечание: – * нижний предел обнаружения вещества в соответствии с методом контроля.

щихся комбинированной и изолированной ингаляционной экспозиции изучаемыми химическими веществами в дозах, эквивалентных реальным условиям, с учётом коэффициента межвидового переноса и аллометрического масштабирования (по площади поверхности тела) [Шекунова Е.В. и др., 2020]. Животные разделены на 10 групп по 20 особей в каждой (8 опытных и 2 контрольные группы), экспонированных и неэкспонированных изучаемыми химическими веществами (табл. 4.3).

Таблица 4.3

Экспериментальные группы животных (крысы линии Wistar)

Группа экспериментальных животных (крысы линии Wistar)	Вид экспозиции, вещество
Опытная группа	Изолированная экспозиция Al_2O_3
Опытная группа	Изолированная экспозиция HF
Опытная группа	Изолированная экспозиция B[a]P
Опытная группа	Изолированная экспозиция CuO
Опытная группа	Изолированная экспозиция NiO
Опытная группа	Изолированная экспозиция Cr_2O_3
Опытная группа	Комбинированное действие Al_2O_3, HF, B[a]P
Опытная группа	Комбинированное действие NiO, Cr_2O_3 и CuO
Контрольная группа	Без экспозиции для групп с изолированной и комбинированной экспозицией Al_2O_3, HF, B[a]P
Контрольная группа	Без экспозиции для групп с изолированной и комбинированной экспозицией NiO, Cr_2O_3 и CuO

Спустя 24 часа после завершения финальной экспозиции у животных осуществляли забор биологического материала для протеомного и химико-аналитического анализа. Образцы периферической крови в объеме 3 $см^3$ отбирали из подъязычной вены в условиях асептики, моча отобрана с помощью метаболической клетки для мелких грызунов DXL-D (3W Fengshi, Китай) в течение суток. Животные содержались в условиях, соответствующих СП 2.2.1.3218-14 и «International guiding principles for biomedical research involving animals» (CIOMMS and ICLAS). Экспериментальные исследования проведены в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123) и этического комитета ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

Для проведения экспериментальных исследований использованы порошки оксида алюминия (CAS 1344-28-1), бенз(а)пирена (CAS 50-32-8), фтора (CAS 7782-41-4), оксида меди (CAS 1317-38-0), оксида никеля (CAS 1313-99-1), оксида хрома (CAS 1308-38-9) в форме водной суспензии с добавлением бидистиллированной воды (ТУ 6-09-2502-77). Для разрушения агломератов

частиц и их равномерного распределения в объёме жидкости полученные растворы подвергали обработке ультразвуковым гомогенизатором Sonopuls Hd (Bandelin, Германия) при комнатной температуре в течение 15 минут в режиме непрерывной пульсации на 80 %-ной мощности.

Экспозицию проводили согласно ГОСТ 32636-2020[7], по 6 часов 5 дней в неделю. Ингаляционное поступление вещества моделировали с помощью испытательной камеры для мелких грызунов с интегрированным программным обеспечением TSE Systems GmbH (Германия). Характеристики воздушных потоков в камере: приток воздуха – 10 дм^3/мин, скорость подачи водной суспензии – 0,4 см^3/мин, отток воздуха – 10 дм^3/мин, колебания давления внутри камеры составили 0,4 миллибара, температура – 22-25°С. Экспериментальные дозы химических веществ соответствовали реальным дозам при реальной хронической аэрогенной экспозиции (табл. 4.4).

Таблица 4.4

Экспериментальные дозы химических веществ при ингаляционной экспозиции для каждой исследуемой группы

Вещество в атмосферном воздухе	Суточная доза для детей 3–6 лет, мг/(кг х сутки)	Эквивалентная доза для крысы, мг/(кг х сутки)
Бенз(а)пирен	0,000003	0,00001
Алюминий оксид	0,0006	0,0025
Фторид водорода	0,0021	0,012
Меди оксид	0,0035	0,015
Никеля оксид	0,0017	0,007
Хрома оксид	0,00002	0,00008

Химико-аналитический анализ включал количественное определение алюминия в моче методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в соответствии с МУК 4.1.3589-19[8] на масс-спектрометре Agilent 7500cx (Agilent Technologies, США), фторид-иона в моче – с использованием ионоселективного электрода в соответствии с МУК 4.1.773-99[9] на иономере лабораторном И-160М (ООО «Антех», Беларусь), бенз(а)пирена в крови – в соответствии с

[7] ГОСТ 32636-2020. Межгосударственный стандарт. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Субхроническая ингаляционная токсичность: 90-дневное исследование [Электронный ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/566422811 (дата обращения 07.04.2026).

[8] МУК 4.1.3589-19. Методические указания «Измерение массовой концентрации алюминия в биологических средах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 8 ноября 2019 года).

[9] МУК 4.1.773-99. Методические указания по количественному определению ионов фтора в моче с использованием ионселективного электрода (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 6 июля 1999 года).

МУК 4.1.3040-12[10] на жидкостном хроматографе с флуориметрическим детектором (Agilent Technologies, США), меди, никеля и хрома – в соответствии с МУК 4.1.3230-14[11] на масс-спектрометре Agilent 7500cx.

В качестве критериев оценки полученных результатов применяли референтные уровни [Клиническое руководство, 2003] и показатели сравниваемой группы (натурные исследования – дети группы сравнения, экспериментальные исследования – крысы контрольной группы).

Статистическая обработка результатов проведена с учётом характера распределения массива данных, оценённого с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. При соответствии случайных величин анализируемых показателей нормальному закону распределения использовались параметрические статистические методы с расчётом характеристик: среднее значение (M), ошибка репрезентативности (m), t-критерий Стьюдента при оценке статистической значимости межгрупповых различий ($p \leq 0{,}05$), критерий Фишера ($F > 3{,}96$) при оценке разницы дисперсий и коэффициент детерминации (R^2). Статистический анализ полученных в ходе исследования данных проведён с использованием пакета программ Statistica и самостоятельно разработанного программного обеспечения, совместимого с MS Excel 13 [Гланц С., 1998].

Выявление и обоснование молекулярных маркеров, а также оценка роли трансформированного протеомного профиля в модификации патогенеза соматических заболеваний, ассоциированных с техногенной экспозицией, базировались на применении каскадной модели причинно-следственных связей. Данная модель позволила цифровизировать и верифицировать следующие иерархические зависимости:

– «экспозиция – маркер экспозиции» – описывает процесс кинетики внешней и внутренней доз химических веществ, поступающих с атмосферным воздухом в организм;

– «биомаркер экспозиции – белковый маркер эффекта» – описывает трансформацию белкового профиля при повышенном содержании веществ в организме;

– «белковый маркер эффекта – биохимические маркеры эффекта» – описывает вероятность изменения лабораторных показателей относительно физиологической нормы, отражающего риск развития метаболических нарушений (негативных эффектов).

Факт экспозиции изучаемыми химическими веществами подтвержден с помощью выявления и оценки статистически значимых зависимостей концентрации вещества в биосреде от его дозы при поступлении с атмосферным воз-

[10] МУК 4.1.3040-12. Методические указания по измерению массовой концентрации бенз(а)пирена в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 7 сентября 2012 года).

[11] МУК 4.1.3230-14. Методические указания «Измерение массовых концентраций химических элементов в биосредах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 19 декабря 2014 года).

духом для годового периода осреднения, описываемых линейным уравнением регрессии (4.1).

Выявление и оценку причинно-следственных связей между изменением интенсивности статистически значимых белковых пятен и концентрацией изучаемых химических веществ в биосредах проводили с помощью построения математических моделей, описываемых уравнением линейной регрессии по вышеприведенной формуле (4.2).

В качестве белков-маркеров (маркерных мишеней) обоснованы белковые пятна, удовлетворяющие следующим условиям верификации:

– статистическая значимость: наличие достоверных различий в уровне экспрессии между группами сравнения ($p \leq 0,05$);

– методологическая адекватность: соответствие аналитических моделей фундаментальным биологическим процессам;

– биологическое соответствие: непротиворечивость полученных данных установленным механизмам патогенеза и результатам (например, данные о функции белка, его локализации, роли в патогенезе).

Для прогнозирования возможных негативных эффектов с учетом установленных маркерных белковых мишеней использованы общедоступные биологические базы метаданных. Основная часть информации о полученных белках экстрагирована из баз данных UniProt 9 (http://www.uniprot.org) и Rat Genome Database (https://rgd.mcw.edu/rgdweb/homepage/). Функциональная классификация белков (клеточная локализация, биологический процесс, молекулярная функция) описана с помощью ресурса The Gene Ontology (http://geneontology.org/). Белок-белковые взаимодействия определены посредством ресурса STRING (https://string-db.org/cgi/about). Данные об экспрессии белков в тканях и органах извлечены из биоинформационных платформ Tissue expression database (https://tissues.jensenlab.org/Search) и The Human Protein Atlas (https://www.proteinatlas.org/). Клеточно-молекулярные пути белков охарактеризованы с помощью веб-ресурса KEGG PATHWAY (https://www.kegg.jp/). Описание отношений в системе «фактор экспозиции – маркер экспозиции – белок-мишень – заболевание» проведено с привлечением информационных ресурсов Comparative Toxicogenomics Database (http://ctdbase.org/) (CTD) и DisGeNET (https://www.disgenet.org/dbinfo). Ключевые характеристики идентифицированных белков, включая основные клеточно-молекулярные механизмы трансформации протеомного профиля, индуцированной комбинированным действием изучаемых веществ, уточнены на основе данных отечественных и зарубежных аннотируемых научных источников.

Связь «белок-мишень – вероятность изменения биохимических маркеров эффекта» определена на основании построения моделей методом нелинейного регрессионного анализа. Этот метод позволяет количественно оценить параметры зависимости изменения биохимического показателя (относительно физиологической нормы) от изменения экспрессии белка-мишени, которое фиксируется по критерию интенсивности соответствующего белкового пятна на протеомном профиле:

$$p_i = \frac{1}{1 + e_0^{-(c_{0i} + c_{1i} x3)}} \quad (4.3),$$

где *P* – расчётная вероятность смещения биохимического показателя относительно физиологической нормы;

e – экспонента, показательная функция с основанием, равным иррациональному числу;

c_{0i}, c_{1i} – параметры регрессионной модели, определение которых произведено методом наименьших квадратов с применением пакетов программ по статистическому анализу данных (Statistica, SPSS, SAS и др.);

x_3 – показатель интенсивности j-го белкового пятна, int.

Применение данного аналитического подхода позволяет:

– выявить нелинейные закономерности в отклике биохимических маркеров на вариации уровня экспрессии целевых белков;

– оценить пороги и зоны наиболее выраженного влияния экспрессии белка на биохимические показатели;

– построить прогнозные модели для предсказания вероятности и степени отклонения биомаркеров от нормы при заданных изменениях интенсивности белкового пятна;

– учесть возможные насыщающие эффекты или пороговые реакции, которые не улавливаются линейными моделями.

В результате данный подход позволяет не только верифицировать наличие статистической связи, но и математически формализовать её характер и интенсивность. Это имеет критическое значение для интерпретации дозозависимого биохимического ответа организма и детальной расшифровки механизмов адаптации или срыва гомеостаза в условиях исследуемой экспозиции.

Характеристика особенности комбинированного действия веществ дана на основе анализа, выполненного с применением двух методических подходов, позволяющих дифференцировать типы межкомпонентного взаимодействия (на примере оценки аэрогенного комбинированного действия Al_2O_3, HF и B[a]P).

Первый способ основан на сравнении ожидаемой и наблюдаемой интенсивности белковых пятен при одно- и трёхкомпонентном действии изучаемых веществ с учётом процедуры нормализации показателей [Liu Q. et al., 2018]. Нормализация интенсивности белковых пятен проведена методом процентного изменения, в котором значения контрольной группы использованы как эталонный уровень, что позволило исключить естественный фон или системные ошибки:

$$E_{нормализованное} = \frac{(E_{опытная\ группа} - E_{контрольная\ группа})}{E_{контрольная\ группа}} \times 100\% \quad (4.4),$$

где, $E_{нормализованное}$ – нормализованная интенсивность белкового пятна, %;

$E_{опытная\ группа}$ – интенсивность белкового пятна опытной группы, int.;

$E_{контрольная\ группа}$ – интенсивность белкового пятна контрольной группы, int.

Полученные нормализованные значения использованы для расчёта ожидаемого комбинированного эффекта для трёхкомпонентной смеси:

$$E_{ожидаемое} = E_1 + E_2 + E_3 - E_1 \times E_2 \times E_3 \quad (4.5),$$

где, $E_{ожидаемое}$ – ожидаемая интенсивность белкового пятна, %;

$E_{1,2,3}$ – интенсивность белкового пятна (нормализованная относительно контроля) опытной группы при действии каждого вещества, %.

Полученный ожидаемый эффект сравнивали с фактически установленным эффектом и оценивали разницу их интенсивности:

$$\Delta E = E_{наблюдаемое} - E_{ожидаемое} \quad (4.6),$$

где, ΔE – разница между наблюдаемой и ожидаемой интенсивностью;

$E_{наблюдаемое}$ – наблюдаемая интенсивность белкового пятна с учётом нормализации, %;

$E_{ожидаемое}$ – ожидаемая интенсивность белкового пятна, %.

Полученные результаты интерпретировали с помощью матрицы, представленной в таблице 4.5. Преимущественный тип комбинированного действия веществ оценен на основании анализа доли каждого типа в общей структуре (в процентах, %).

Таблица 4.5

Матрица для интерпретации типа комбинированного действия

Интенсивность белкового пятна, %	**Предполагаемый тип комбинированного действия веществ**
$\Delta E = 0$, но $0 \le E_1 \le 0$ и $0 \le E_2 \le 0$	Аддитивность
$\Delta E > 0$, но $0 \le E_1 \le 0$ и $0 \le E_2 \le 0$	Синергизм
$\Delta E < 0$, но $0 \le E_1 \le 0$ и $0 \le E_2 \le 0$	Антагонизм
$0 < \Delta E < 0$, но $E_1 = 0$ и $E_2 = 0$	Эмерджентность

Второй способ определения особенностей комбинированного действия веществ основан на разработанном подходе к анализу параметризованных причинно-следственных связей экспозиции с изменением экспрессии белков и количественной оценке дополнительной вероятности развития негативных эффектов [Зайцева Н.В. и др., 2023; Пескова Е.В., 2025].

На первом этапе использована модель множественной логистической регрессии, предусматривающая оценку вероятности изменения экспрессии

белка в плазме крови животных опытной группы относительно контроля. При экспозиции одновременно тремя веществами учитывали их бинарные сочетания в различных комбинациях. Расчёт вероятности производили по формуле (4.7):

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{11}x_1x_2 + b_{12}x_2x_3 + b_{13}x_1x_3)}} \quad (4.7),$$

где p – вероятность изменения экспрессии белка опытной группы относительно контроля при одновременном развитии эффектов изолированного и комбинированного действия трёх веществ;

x_1, x_2, x_3 – концентрация каждого контаминанта в биосреде при экспозиции тремя веществами (маркеры экспозиции, подтверждающие факт действия каждого вещества), мг/дм^3;

b_0 – параметр модели, характеризующий уровень вероятности изменения экспрессии белка опытной группы относительно контроля независимо от влияния изучаемых факторов экспозиции (фоновый уровень);

$b_1, b_2, b_3, b_{11}, b_{12}, b_{23}$ – параметры модели, характеризующие скорость нарастания вероятности изменения экспрессии белка опытной группы относительно контроля при единичном увеличении маркера экспозиции при изолированном действии веществ x_1, x_2, x_3, и комбинированном в бинарной смеси x_{12}, x_{13}, x_{23}.

В качестве независимых переменных (предикторов) рассматривали концентрации маркеров экспозиции в биосредах, в качестве зависимых (отклика) – уровни экспрессии белков, доказано патогенетически связанные с экспозицией веществ. Тип комбинированного действия верифицировали с применением матрицы экспертной оценки, базирующейся на анализе знаков и величин коэффициентов регрессии полученных моделей [Зайцева Н.В. и др., 2023].

На следующем этапе осуществляли количественную оценку дополнительной вероятности (Δp) при одновременном воздействии веществ. Расчет основывался на определении разности между вероятностью изменения экспрессии белка при комбинированной экспозиции и теоретической вероятностью, ожидаемой при аддитивном (изолированном) действии компонентов смеси:

$$\Delta p = \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{11}x_1x_2 + b_{12}x_2x_3 + b_{13}x_1x_3)}} - \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3)}} \quad (4.8),$$

где Δp – дополнительная вероятность изменения экспрессии белка в результате эффектов комбинированного действия трёх веществ.

Тип межкомпонентного взаимодействия идентифицировали по вектору отклонения эмпирической вероятности от теоретически ожидаемой в рамках аддитивной модели: положительные значения интерпретировали как синергизм (потенцирование), отрицательные – как антагонизм. Доминирующий паттерн взаимодействия верифицировали на основе анализа долевого вклада каждого эффекта в общую структуру дисперсии (%). Проведенный сравнительный анализ двух методических подходов позволил определить их предиктивную селективность и установить границы аналитической применимости в гигиенических исследованиях.

Комплексная систематизация полученных данных позволила расширить теоретические представления о механизмах молекулярно-клеточной дестабилизации и верифицировать прогностические модели системных нарушений в организме человека при пролонгированной аэрогенной экспозиции оксидов металлов (Al, Cu, Ni, Cr), фторида водорода и бенз(а)пирена. Выявленные закономерности формируют фундаментальную базу для перехода от констатирующей диагностики к предиктивной оценке патогенетических сдвигов на доклиническом уровне.

Молекулярно-клеточные и системные нарушения при воздействии различных комбинаций химических веществ в реальных условиях

По результатам натурных исследований установлено, что в условиях длительной аэрогенной комбинированной экспозиции оксидами алюминия (0,1-1,0 RfC), меди (1,3-3,1 RfC), никеля (0,5-7,8 RfC), хрома (0,2-3,8 RfC), фторидом водорода (0,2-1,0 RfC) и бенз(а)пиреном (1,0-2,15 RfC) в биосредах детей формируются повышенные уровни данных веществ относительно референтных значений (табл. 4.6).

Обобщение полученных результатов выявило значимую аккумуляцию исследуемых веществ в биосредах детей групп наблюдения. Среднегрупповые концентрации до 4,5 раза превышали показатели группы сравнения (p = 0,000–0,041) и до 18 раз – установленные референтные уровни (RfL).

Таблица 4.6

Содержание химических веществ в биосредах экспонированных детей

Группа детей	Вещество	Референтный уровень, мг/дм³	Среднее значение концентрации вещества и его ошибка в крови *(M ± SD)*, мг/дм³		Статистическая значимость различий между группами, $p \leq 0,05$
			группа наблюдения	группа сравнения	
1	Алюминий в моче	0,0065	0,0075±0,0018	0,0040±0,0006	0,0004
	Фторид-ион в моче	0,2	0,711±0,173	0,460±0,137	0,041
	Бенз(а)пирен в крови	0,0	0,000006±0,000001	0,000004±0,000001	0,004
2	Медь в крови	0,9	1,120±0,065	0,896±0,096	0,0001
	Никель в крови	0,001	0,011±0,004	0,003±0,001	0,0003
	Хром в крови	0,001	0,018±0,003	0,004±0,001	0,0001

Математическое моделирование в системе «среднесуточная доза химического вещества (фактор экспозиции) – концентрация вещества в биосредах (маркер экспозиции)» позволило получить адекватные и биологически правдоподобные модели зависимости. Полученные модели подтверждают достоверную детерминированность уровней веществ в биосредах их ингаляционным поступлением из атмосферного воздуха, что характеризуется высокими критериями статистической значимости и аппроксимации (табл. 4.7).

Таблица 4.7

Математические модели, описывающие зависимость содержания химических веществ в биосредах от их содержания в атмосферном воздухе

Вещество в атмосферном воздухе	Вещество в биосреде	Уравнение зависимости	Характеристика модели		
			Коэффициент детерминации (R^2)	Критерий Фишера (F)	Статистическая значимость, $p \leq 0,05$
диАлюминий триоксид (в пересчете на алюминий)	Алюминий в моче	y=0,0016+11,961x	0,17	19,59	0,0001
Фтористые соединения	Фторид-ион в моче	y=0,5157+30,765x	0,04	5,85	0,021
Бенз(а)пирен	Бенз(а)пирен в крови	$y=5E^{-6}+0,5053x$	0,07	4,73	0,037
Медь оксид (в пересчете на медь)	Медь в крови	y=0,75+0,9735x	0,75	27,56	0,0001
Никель и его соединения	Никель в крови	y=0,0011+2,273x	0,67	19,87	0,001
Хром (хром шестивалентный) (в пересчете на хрома (VI) оксид)	Хром в крови	y=0,00196+5,358x	0,66	74,29	0,0001

На основании полученных статистически значимых зависимостей установленные концентрации химических веществ в биосредах обоснованы в качестве маркеров хронической аэрогенной экспозиции: для алюминия в моче – 0,0069 мг/дм^3 и выше, для фторид-иона в моче – 0,56 мг/дм^3, для бенз(а)пирена в крови – 0,000006 мг/дм^3, для меди в крови – 0,97 мг/дм^3, для никеля в крови – 0,003 мг/дм^3, для хрома в крови – 0,002 мг/дм^3.

Аэрогенная экспозиция оксидом алюминия, фторидом водорода и бенз(а)пиреном в реальных условиях

Обобщение результатов картирования протеомных гелей плазмы крови обследуемых детей позволило выявить 24 белковых пятна, из которых 23 статистически значимо различались по интенсивности между группами наблюдения 1 (Al_2O_3 + HF + B[a]P) и сравнения 1 (рис. 4.4).

Рис. 4.4. Интенсивность белковых пятен детей, подвергающихся экспозиции веществ (группа наблюдения) и неподвергающихся экспозиции (группа сравнения)

Масс-спектрометрическая идентификация белковых пятен показала, что выявленные аминокислотные последовательности совпадают с 26 белками библиотечного масс-спектра. Анализ многофакторных моделей, отражающих причинно-следственные связи между вероятностью изменения уровня экспрессии белков и одновременно повышенной концентрацией алюминия и фторид-иона в моче, бенз(а)пирена в крови, позволил выявить две статистически значимые обратные зависимости снижения экспрессии белков *KRT9* и *EPB41L3* (R^2 = 0,23–0,29; 4,05 ≤ F ≤ 4,22; p = 0,013–0,043) и пять прямых зависимостей повышения синтеза белков *HBB, APOA1, KLHL4, TTR* и *VTN* (R^2 = 0,25–0,38; 4,37 ≤ F ≤ 6,44; p = 0,002–0,031).

Связь токсического действия комбинации веществ с выявленными белками прослеживается через несколько ключевых клеточно-молекулярных механизмов, представленных на рисунке 4.5.

Комбинированное воздействие алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена вызывает повреждающее действие на белки через ряд ключевых клеточно-молекулярных механизмов, среди которых можно выделить окислительный стресс, воспаление, цитотоксическое, в первую очередь гепатотоксическое действие.

Окислительный стресс и воспаление являются универсальным ответом организма на действие изучаемых токсикантов, способных индуцировать образование активных форм кислорода. Белок аполипопротеин A-I (ген *APOA1*) при окислительном стрессе подвергается модификациям, теряя свои защитные функции. Белок β-субъединица гемоглобина (ген *HBB*) крайне чувствителен к окислению, является мишенью для ряда токсикантов, способных индуцировать окисление гемоглобина или повреждать мембрану эритроцитов, приводя к их разрушению.

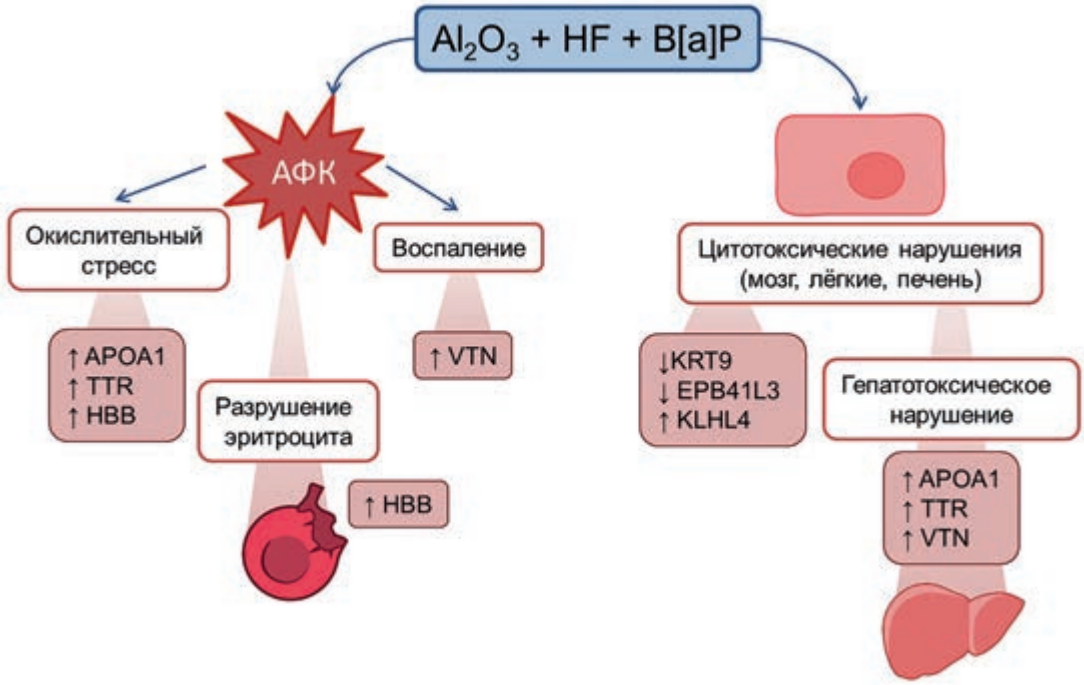


Рис. 4.5. Ключевые клеточно-молекулярные механизмы повреждающего комбинированного действия алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена на белки, выявленные по результатам натурных исследований

Образование АФК под действием изучаемых химических веществ может напрямую повреждать гемоглобин, в состав которого он входит.

Транстиретин (ген *TTR*) при окислительном стрессе агрегирует и теряет свою стабильность. Витронектин (ген *VTN*) модулирует активность системы комплемента и взаимодействует с компонентами воспалительного ответа, ак-

тивируемого токсичными веществами, в том числе алюминием, фторид-ионом и бенз(а)пиреном.

Цитотоксическое действие. Изучаемые химические вещества способны разрушать структуру клеток, оказывая цитотоксический эффект. Синтез белка кератин, цитоскелет I типа 9 (ген *KRT9*) происходит в тканях печени, его экспрессия резко изменяется (снижение или полная потеря) при химическом повреждении. Изменение экспрессии band 4.1-подобный белка 3 (ген *EPB41L3*), синтезирующегося в клетках мозга, печени и лёгких – частый признак воздействия химических веществ, запускающего процесс клеточной трансформации. Кельч-подобный белок 4 (ген *KLHL4*) экспрессируется в тканях мозга и участвует в специфической деградации белков через убиквитин-протеасомную систему, что может приводить к неконтролируемому росту клеток.

Гепатотоксическое действие (частный вариант цитотоксического эффекта, присущего алюминию, фторид-иону и бенз(а)пирену) – это прямое повреждение клеток печени. Белки аполипопротеин A-I (ген *APOA1*) и транстиретин (ген *TTR*) являются классическими маркерами синтетической функции печени. При гепатотоксическом эффекте их продукция изменяется вследствие запуска компенсаторных механизмов антиоксидантной защиты. Белок витронектин (ген *VTN*), синтезируемый в клетках печени, участвует в острой фазе повреждения, в том числе токсического генеза. Синтез витронектина может возрастать как адаптивная реакция в ответ на увеличение образования клеточного детрита и комплексов «белок-токсин», что обеспечивает их клиренс.

Сравнительный анализ биомаркеров негативных эффектов в двух возрастных группах (дети 3–7 лет и взрослые 18–49 лет) позволил подтвердить связь между выявленными клеточно-молекулярными механизмами токсического действия изучаемых химических веществ (реализуемыми посредством индикаторных белков) и возраст-зависимыми изменениями на клеточно-тканевом уровне (фиксируемыми по динамике изменения биохимических показателей) (табл. 4.8).

Таким образом, установлено, что хроническое сочетанное воздействие алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена (в диапазоне концентраций 0,1–2,15 RfC) индуцирует значимые изменения экспрессии таргетных белков: β-субъединицы гемоглобина (*HBB*), аполипопротеина A-I (*APOA1*), кельч-подобного белка 4 (*KLHL4*), транстиретина (*TTR*), витронектина (*VTN*), кератина типа I 9 (*KRT9*) и band 4.1-подобного белка 3 (*EPB41L3*).

Молекулярно-клеточный механизм сочетанной токсичности данных веществ реализуется через каскад патогенетических звеньев, включая окислительный стресс, системное воспаление и цитотоксическую деструкцию тканей-мишеней (печени, головного мозга и легких). При этом ведущим звеном, детерминирующим системные метаболические нарушения, выступает гепатотоксический эффект. Выявленные закономерности служат фундаментальной основой для прогнозирования рисков, верификации диагностических критериев и формирования стратегий адресной профилактики при комплексной аэрогенной химической нагрузке.

Таблица 4.8

Клеточно-молекулярные механизмы трансформации протеомного профиля, индуцированной комбинированным действием изучаемых веществ, и связанные с ними негативные эффекты

Клеточно-молекулярные механизмы	Вид исследования (негативные эффекты)
Прямое повреждение печени	Биохимический анализ: ↑АЛАТ, ↑АСАТ, ↑билирубин общий, ↑билирубин прямой, ↑ЛДГ-4, ↑ЛДГ-5, ↑холестерин общий, ↓ЛПВП, ↑ЛПНП, ↑ЛПОНП, ↑ GLDH, ↑γ-глобулин
Клеточные нарушения	Биохимический анализ: ↓натрий (Na), ↓калий (K), ↓Na/K коэффициент, ↓кальций, ↑ЛДГ, ↑мочевая кислота, ↓общий белок, ↓альбумин, ↑АЛАТ, ↑АСАТ, ↑ GLDH, γ-глобулин
Активация воспаления и окислительного стресса	Биохимический анализ: ↑↓АОА, ↑↓МДА, ↑гидроперекиси липидов, ↓глутатионпероксидаза
Повреждение ДНК и нарушение её репарации, нарушение транскрипции и сплайсинга РНК	Цитогенетический анализ частоты морфологических изменений буккальных эпителиоцитов

Аэрогенная экспозиция оксидами меди, никеля и хрома в реальных условиях

Обобщение результатов картирования протеомных гелей плазмы крови обследуемых детей выявило 47 белковых пятен, из которых 40 статистически значимо различались по интенсивности между группой наблюдения 2 (экспозиция соединениями CuO + NiO + Cr_2O_3) и группой сравнения 2 (рис. 4.6).

Методом масс-спектрометрической идентификации белковых фракций установлено соответствие выявленных аминокислотных последовательностей 34 референсным белкам. Это позволило верифицировать специфические молекулярные мишени одновременного воздействия меди, никеля и хрома в плазме крови обследуемой группы детей.

Математическое моделирование причинно-следственных связей выявило два вектора статистически значимых изменений протеомного профиля при повышении концентрации данных металлов в крови:

– ингибирование экспрессии (16 обратных зависимостей) для белков APOA1, HP, DHRS4L2, VTN, HERC5, GTF2H, JCHAIN, ALB, TNKS, IGKC, A1CF, HBB, PPM1D, SF3A1, NEO1, CLK2 (*R^2 = 0,41–0,75, p = 0,0001*);

– активация синтеза (12 прямых зависимостей) для белков CFAP52, ZNF835, ITGA5, GTF2H1, COLQ, CEP290, CLU, TRMT6, TTR, SGO2, CAPN15, CLIP4 *(R^2 = 0,13–0,36, p = 0,001–0,032*).

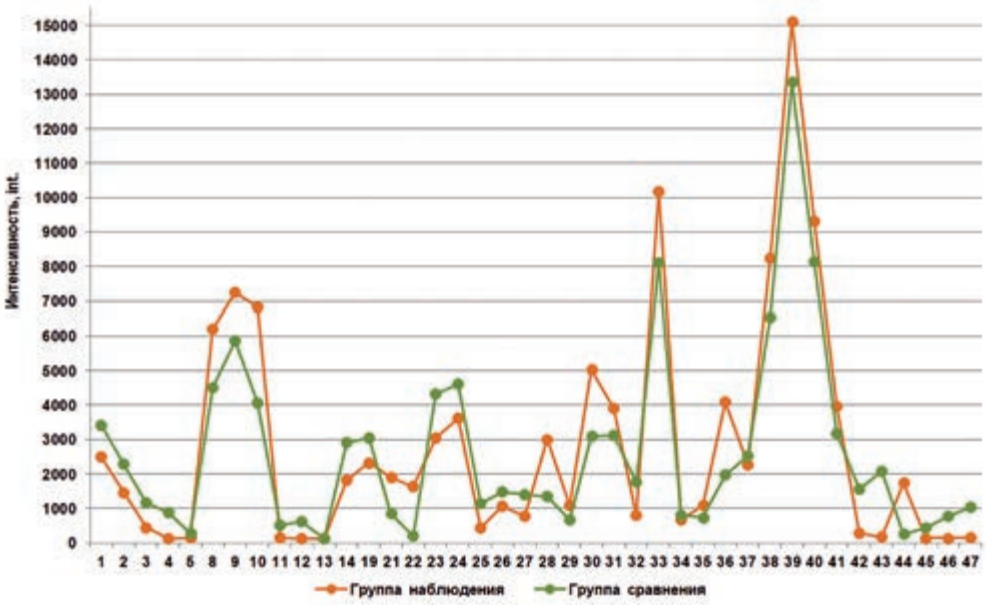


Рис. 4.6. Интенсивность белковых пятен в плазме крови детей, подвергающихся и неподвергающихся экспозиции веществ (группа наблюдения и группа сравнения)

Функциональный анализ показал, что белки с пониженной экспрессией (в частности, APOA1, ALB, HBB) вовлечены в ключевые метаболические процессы: транспорт липидов и нутриентов (APOA1, ALB), антиоксидантную защиту (HP), поддержание структурной целостности эритроцитов и кислородный обмен (HBB), а также в регуляцию клеточного цикла и репарацию ДНК (PPM1D, SF3A1). Супрессия данных протеинов под воздействием оксидов изучаемых металлов может детерминировать развитие дислипидемии, снижение антиоксидантного статуса, формирование гемической гипоксии и накопление геномной нестабильности.

Группа белков с повышенной экспрессией (в частности, TTR, CLU) функционально связана с механизмами адаптивного стрессового ответа и цитопротекции. Так, повышение уровней транстиретина (TTR) и кластерина (CLU) свидетельствует о мобилизации защитных систем организма в ответ на экзогенную интоксикацию. Активация интегрина α5 (ITGA5) указывает на интенсификацию процессов ремоделирования цитоскелета и клеточной адгезии, в то время как повышенный синтез фактора ZNF835 (белок «цинкового пальца») и COLQ (коллаген-подобный домен ацетилхолинэстеразы) отражает модуляцию транскрипционной активности и иммунного ответа соответственно. Следовательно, гиперэкспрессия данных протеинов интерпретируется как компенсаторная реакция биосистемы, направленная на нивелирование токсического стресса, активацию репарационных путей и поддержание клеточной жизнеспособности в условиях комбинированного воздействия металлов.

Связь токсического действия комбинации веществ с выявленными белками прослеживается через несколько ключевых клеточно-молекулярных механизмов, представленных на рисунке 4.7.

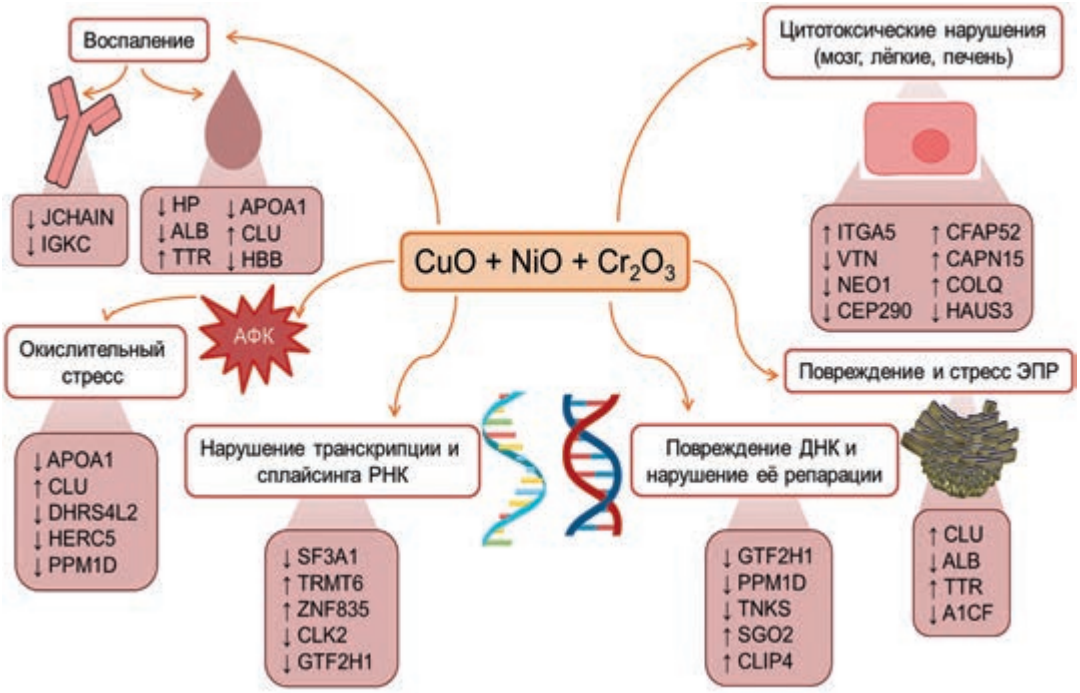


Рис. 4.7. Ключевые клеточно-молекулярные механизмы повреждающего комбинированного действия оксидов никеля, хрома и меди на белки, выявленные по результатам натурных исследований

В качестве доминирующих клеточно-молекулярных механизмов повреждающего сочетанного действия никеля, хрома и меди выступают окислительный стресс, системное воспаление, прямая цитотоксичность, а также цитогенетические аберрации (фрагментация ДНК, нарушение транскрипционных каскадов и сплайсинга РНК) и стресс эндоплазматического ретикулума (ЭПР).

Механизм воспалительной реакции. Экзогенное воздействие изучаемых оксидов металлов инициирует комплекс патохимических реакций, приводящих к деструкции клеточных структур и запуску воспалительного процесса. Ключевыми предикторами системного ответа являются белки острой фазы: аполипопротеин A-I (APOA1), альбумин (ALB), транстиретин (TTR), кластерин (CLU) и гаптоглобин (HP), динамика экспрессии которых коррелирует со степенью тканевого повреждения и выраженностью токсического стресса.

Дополнительным патогенетическим стимулом, потенцирующим провоспалительный сигналинг, служит высвобождение β-субъединицы гемоглобина (HBB). Параллельно с этим изменения в синтезе структурных компонентов антител – J-цепи (JCHAIN) и к-константы (IGKC) иммуноглобулинов – отражают

модуляцию гуморального иммунитета или прямое повреждение пула В-лимфоцитов под воздействием металлов.

Механизм окислительного стресса. Окислительная деструкция на молекулярно-клеточном уровне выступает одним из ведущих патогенетических звеньев токсического действия меди, никеля и хрома. Маркерами интенсификации свободнорадикальных процессов являются изменения в экспрессии антиоксидантного пула белков аполипопротеина A-I (APOA1) и кластерина (CLU), обеспечивающих защиту липидов и клеточных мембран от пероксидации.

Ферментативное звено детоксикации представлено белком семейства SDR – DHRS4L2, участвующим в метаболизме ретинола и нейтрализации вторичных продуктов перекисного окисления липидов (альдегидов). Кроме того, в реакцию на окислительный стресс вовлекаются регуляторные протеины – E3-убиквитинлигаза HERC5, модулирующая клеточный ответ на оксидативную нагрузку, и протеинфосфатаза 1D (PPM1D). Последняя активируется в ответ на повреждение ДНК, индуцированное активными формами кислорода, выполняя роль ключевого регулятора контрольных точек клеточного цикла (cell cycle checkpoints).

Стресс эндоплазматического ретикулума. Одним из ключевых механизмов цитотоксического действия изучаемых металлов является индукция стресса ЭПР, характеризующегося накоплением конформационно дефектных (неправильно свернутых) белков. Поскольку биосинтез и фолдинг основных секреторных протеинов – кластерина (CLU), альбумина (ALB) и транстиретина (TTR) – протекают в просвете ретикулума, выраженная аберрация их экспрессии служит прямым индикатором нарушения протеостаза.

В каскад адаптивных реакций на стресс ЭПР вовлекается также комплементарный фактор A1CF (APOBEC1-stimulating protein), ответственный за посттранскрипционное редактирование РНК. Изменение его активности в условиях токсической нагрузки свидетельствует о глубокой дезорганизации процессов трансляции и модификации белков, что в совокупности с дисфункцией секреторного аппарата клетки замыкает порочный круг молекулярного повреждения.

Механизм прямой цитотоксичности. Цитодеструктивное действие исследуемых металлов реализуется через дезорганизацию структурной целостности клеток и последующую функциональную недостаточность специфических белков. Критическим звеном патогенеза выступает нарушение клеточной адгезии к экстрацеллюлярному матриксу, опосредованное дисфункцией интегрина α-5 (ITGA5), витронектина (VTN) и неогенина (NEO1). Снижение стабильности данных контактов инициирует потерю гистоархитектоники и запускает механизмы программируемой гибели клеток.

Параллельно токсическая нагрузка затрагивает сенсорный аппарат клетки: повреждение цилиарных белков (CFAP52, CEP290) ведет к деградации ресничных структур, что блокирует адекватную рецепцию внешних сигналов. В процессах адаптивного ремоделирования цитоскелета в условиях стресса участвует кальпаин-15 (CAPN15), тогда как аберрация экспрессии коллагено-

подобного домена ацетилхолинэстеразы (COLQ), ответственного за структурную организацию синаптических щелей, служит высокоспецифичным маркером нейротоксичности и синаптической дисфункции.

Систематизированные данные о тканеспецифической экспрессии верифицированных белков-маркеров представлены в таблице 4.9.

Протеомный профиль позволяет локализовать зоны наиболее вероятной цитотоксической деструкции и спрогнозировать органы-мишени, подвергающиеся патологическим изменениям в ответ на хроническое комбинированное воздействие оксидов меди, никеля и хрома. Данное распределение подтверждает мультиорганный характер токсичности исследуемых металлов. Сочетание супрессии транспортных белков (печень) и активации стрессовых протеинов (ЦНС, кровь) формирует устойчивый патологический паттерн, характерный для хронической аэрогенной химической нагрузки.

Таблица 4.9

Тканеспецифическая экспрессия белков-маркеров и показатели зависимости «доза–эффект» при комбинированном воздействии оксидов меди, никеля и хрома

Ключевые белки (гены)	Вектор изменения экспрессии	Характеристика модели		Локализация тканевой экспрессии белка (органы-мишени и системы)	Прогнозируемые клеточно-молекулярные эффекты
		Коэффициент детерминации (R^2)	Статистическая значимость ($p \leq 0,05$)		
1	2	3	4	5	6
ALB, APOA1, HP	↓ (снижение)	0,41–0,75	0,0001	Гепатобилиарная система (печень)	Гепатотоксичность, нарушение транспорта липидов, метаболический стресс
CLU, TTR, A1CF	↑ (повышение)	0,13–0,36	0,001–0,032		Стресс ЭПР, компенсаторная цитопротекция, редактирование РНК
COLQ, TTR, CLU,	↑ (повышение)	0,13–0,28	0,005–0,015	Центральная нервная система (мозг)	Нейротоксичность, синаптическая дисфункция, активация микроглии
NEO1, CEP290	↓ (снижение)	0,45–0,60	0,0001		Нарушение нейрогенеза и цилиарной сигнализации

Окончание таблицы 4.9

1	2	3	4	5	6
HBB, JCHAIN, IGKC	↓ (снижение)	0,52–0,70	0,0001	Гемопоэз и иммунитет	Гемическая гипоксия, вторичный иммунодефицит, анемия
VTN, ITGA5, APOA1,	↓/↑ (дисбаланс)	0,38–0,55	0,0001	Сердечно-сосудистая система	Нарушение гемостаза, адгезии и целостности сосудистого эндотелия
PPM1D, SF3A1, GTF2H	↓ (снижение)	0,62–0,75	0,0001	Генетический аппарат	Геномная нестабильность, дефекты сплайсинга и репарации ДНК

Механизмы цитогенетических нарушений и геномной нестабильности. Комбинированное воздействие исследуемых токсикантов инициирует деструкцию генетического аппарата через прямую фрагментацию ДНК, ингибирование систем репарации и интерференцию с процессами генной экспрессии. Ключевыми молекулярными предикторами этих нарушений выступают дисфункции белков, обеспечивающих структурную и функциональную стабильность генома. К ним относятся:

• дефекты репарационных систем. Субъединица 1 общего транскрипционного фактора IIH (GTF2H1) является критическим компонентом эксцизионной репарации нуклеотидов. Снижение уровня данного белка свидетельствует о прямой деградации способности клетки восстанавливать поврежденные участки ДНК. В процессы репарации также вовлечена танкираза (TNKS) – фермент семейства поли(ADP-рибозил)трансфераз, регулирующий длину теломер и созревание центросом. Ингибирование TNKS лишает клетку важных PARP-зависимых механизмов защиты генома;

• нарушение контрольных точек клеточного цикла. Протеинфосфатаза 1D (PPM1D) выступает центральным регулятором ответа на генотоксический стресс. Изменение её активности нарушает координацию остановки клеточного цикла (cell cycle arrest), что препятствует адекватному восстановлению повреждений перед репликацией. Линкерный белок 4 (CLIP4), несмотря на связь с микротрубочками, в условиях генотоксической нагрузки также интегрируется в систему поддержания стабильности генома;

• хромосомная нестабильность. Белок шугошин 2 (SGO2) обеспечивает протекцию целостности центромер в ходе митоза. Его функциональная недостаточность коррелирует с риском хромосомных аберраций, включая анеуплоидию и транслокации, что является фундаментальным признаком глубокого цитогенетического повреждения под влиянием химических факторов.

Среди механизмов, через которые токсиканты вызывают цитогенетические нарушения, выделяют индукцию окислительного повреждения ДНК, нарушение работы систем репарации ДНК, влияние на стабильность хромосом и центромер, вмешательство в транскрипцию и сплайсинг РНК. Важно отметить, что генотоксические эффекты могут возникать даже при низких дозах токсикантов, а их последствия могут проявляться не только в поражённых клетках, но и в потомстве, если повреждены половые клетки.

Следовательно, хроническая аэрогенная экспозиция оксидов меди, никеля и хрома в диапазоне концентраций 0,2–7,8 RfC индуцирует каскад взаимосвязанных молекулярно-клеточных ответов. Первичная деструкция ДНК, белков, липидов и элементов цитоскелета активирует сенсоры клеточного стресса, что детерминирует глубокие транскрипционные аберрации и нарушения сплайсинга РНК.

Ключевыми молекулярными мишенями на этапе инициации повреждения выступают регуляторные белки GTF2H1, PPM1D, CLIP4, TNKS, SGO2, SF3A1, TRMT6, ZNF835, CLK2, CLU, ALB, TTR и A1CF. В ответ на эти изменения запускаются сигнальные пути, ответственные за остановку клеточного цикла и попытки репарации ДНК. Однако при персистирующем воздействии токсикантов даже в низких дозах накопление генотоксических эффектов создает риски не только для соматических клеток, но и для будущих поколений при поражении герминативных линий.

Некомпенсированные молекулярные дефекты активируют системные патологические реакции – хроническое воспаление и окислительный стресс, объективизированные дисбалансом уровней APOA1, ALB, TTR, CLU, HP, HBB, JCHAIN, IGKC, DHRS4L2 и HERC5. На финальных этапах, при истощении адаптационного резерва, развиваются выраженные цитотоксические нарушения и органная дисфункция (преимущественно в тканях печени, легких и головного мозга). Основные патоморфологические проявления включают:

– дезорганизацию адгезивных контактов и утрату целостности тканей (ITGA5, VTN, NEO1);

деградацию цилиарного аппарата и блокаду межклеточной сигнализации (CFAP52, CEP290);

– деструктивное ремоделирование цитоскелета (CAPN15);

– синаптическую дисфункцию и прямую нейротоксичность (COLQ).

Результатом данного каскада становится активация механизмов апоптоза и некроза, что определяет необратимый характер повреждений органов-мишеней.

Молекулярно-клеточные и системные нарушения при экспозиции многокомпонентных химических смесей в условиях эксперимента

В ходе серии экспериментов на крысах линии Wistar, подвергавшихся ингаляционному воздействию исследуемых химических соединений в изолированном и комбинированном режимах (в дозировках, релевантных реаль-

ной техногенной нагрузке), была верифицирована статистически значимая кумуляция контаминантов в биосредах опытных групп относительно контроля. Полученные данные подтверждают адекватность выбранной модели для воспроизведения системных эффектов хронической экспозиции и последующего анализа протеомного ответа организма на молекулярном уровне (табл. 4.10, 4.11).

Обобщение полученных результатов показало, что среднегрупповая концентрация изучаемых веществ в биосредах крыс опытных групп в 1,2–19,2 раза выше относительно контроля (p = 0,000–0,047).

Таблица 4.10

Исследование содержания алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена в биосредах крыс линии Wistar

Вид ингаляционной экспозиции	Вещество в биосреде	Среднее значение и ошибка (M±m)		Статистическая значимость различий между группами, $p \leq 0,05$
		опытная группа	контрольная группа	
Изолированная экспозиция оксидом алюминия	Алюминий в моче, мг/дм^3	0,057±0,029	0,016±0,013	0,008
Изолированная экспозиция фторидом водорода	Фторид-ион в моче, мг/дм^3	6,800±4,362	0,354±0,171	0,003
Изолированная экспозиция бенз(а)пиреном	Бенз(а)пирен в крови, мкг/дм^3	0,00001±0,0	0,0±0,0	0,008
Комбинированная экспозиция оксидом алюминия, фторидом водорода и бенз(а)пиреном	Алюминий в моче, мг/дм^3	0,019±0,010	0,016±0,013	0,047
	Фторид-ион в моче, мг/дм^3	2,072±0,752	0,354±0,171	0,0001
	Бенз(а)пирен в крови, мкг/дм^3	0,00002±0,000009	0,0±0,0	0,0001

Таблица 4.11

Исследование содержания меди, никеля и хрома в биосредах крыс линии Wistar

Вид ингаляционной экспозиции	Химический показатель в биосреде	Среднее значение химического показателя (M±m)		Статистическая значимость различий между группами, p ≤ 0,05
		опытная группа	контрольная группа	
Изолированная экспозиция оксидом меди	Медь в крови, мг/дм^3	2,323±0,155	1,553±0,170	*0,0001*
Изолированная экспозиция оксидом никеля	Никель в крови, мг/дм^3	0,014±0,005	0,005±0,001	*0,0001*
Изолированная экспозиция оксидом хрома	Хром в крови, мг/дм^3	0,100±0,036	0,020±0,004	*0,0001*
Комбинированная экспозиция оксидами никеля, меди и хрома	Медь в крови, мг/дм^3	2,424±0,089	1,553±0,170	*0,0001*
	Никель в крови, мг/дм^3	0,012±0,002	0,005±0,001	*0,0001*
	Хром в крови, мг/дм^3	0,133±0,038	0,020±0,004	*0,0001*

Концентрации алюминия и фторид-иона в моче крыс при их изолированном действии в 3,0 и 3,3 раза соответственно превысили средние значения данных показателей при комбинированном действии изучаемых веществ. Степень бионакопления бенз(а)пирена, напротив, выше при комбинированном действии, чем при изолированном.

Выявлена более выраженная степень бионакопления в организме хрома при комбинированном воздействии. При этом содержание никеля и меди в крови как при комбинированной, так и при изолированной экспозиции имело сопоставимые значения.

Протеомный профиль плазмы крови при аэрогенной изолированной и комбинированной экспозиции оксидом алюминия, фторидом водорода и бенз(а)пиреном в условиях эксперимента

Обобщение результатов протеомного профилирования на экспериментальной модели позволило верифицировать 39 белковых фракций (пятен), демонстрирующих статистически значимые различия в интенсивности экспрессии между опытными и контрольными группами. Структура выявленных изменений распределилась следующим образом: 15 биомаркеров при воздействии оксида алюминия, 13 – фторида водорода и 11 – бенз(а)пирена.

Математическая верификация причинно-следственных связей в системе «концентрация контаминанта – интенсивность белкового сигнала» подтвердила высокую адекватность 33 прогностических моделей:

– оксид алюминия – 10 значимых зависимостей (R^2 = 0,24–0,84; p = 0,001–0,017);

– фторид водорода – 14 значимых зависимостей (R^2 = 0,44–0,77; p = 0,001–0,037);

– бенз(а)пирен – 9 значимых зависимостей (R^2 = 0,45–0,62; p = 0,007–0,035).

Полученные высокие значения коэффициентов детерминации свидетельствуют о строгой дозозависимой детерминированности протеомного ответа организма крыс на ингаляционную нагрузку каждым из исследуемых токсикантов. В таблице 4.12 представлены результаты компаративного анализа данных, полученных двумя независимыми методами: теоретической оценкой рисков для критических органов и систем человека (согласно Руководству Р 2.1.10.3968-23) и результатами фактической идентификации белковых мишеней в ходе эксперимента. Для функциональной аннотации выявленных белков и подтверждения их патогенетической связи с исследуемыми токсикантами использован международный биоинформационный ресурс Comparative Toxicogenomics Database (CTD). Данное сопоставление позволяет оценить прогностическую ценность расчетных критериев риска и подтвердить их биологическую релевантность на молекулярном уровне.

Обобщение экспериментальных данных показало, что изолированное воздействие оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена инициирует глубокую трансформацию протеомного профиля, детерминирующую развитие патологических эффектов. В иерархии системных нарушений доминирующие позиции (первые три ранга из 13) занимают поражения нервной, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем. Выявленные молекулярные маркеры позволили верифицировать дополнительные критические органы-мишени, не предусмотренные стандартными расчетными критериями оценки риска (согласно Р 2.1.10.3968-23).

При переходе к комбинированной экспозиции указанными ксенобиотиками была установлена статистически значимая зависимость для 27 белков, экспрессия которых коррелирует с сочетанным ростом концентрации алюминия и фторид-иона в моче, а также бенз(а)пирена в крови (R^2 = 0,66–0,92; p = 0,001–0,047). Примечательно, что при комбинированном действии вектор патологических изменений сохраняет преемственность: приоритетными мишенями остаются нервная, сердечно-сосудистая и пищеварительная системы. Это подтверждает гипотезу об аддитивном или потенцирующем характере взаимодействия данных веществ. Полученные результаты послужили доказательной базой для расширения перечня критических органов и систем человека, чувствительных к комбинированному аэрогенному воздействию, что критически важно для уточнения методологии оценки суммарного риска здоровью.

Сопоставительный анализ теоретических прогнозов, выполненных согласно Руководству Р 2.1.10.3968-23, и эмпирических данных об изменении белкового синтеза позволил оценить прогностическую релевантность стандартных критериев оценки риска (табл. 4.12).

Таблица 4.12

Верификация расчетных рисков данными прямого протеомного профилирования

Изолированная ингаляционная экспозиция химическим веществом в эксперименте	Критические органы, системы и процессы при ингаляционном поступлении (Руководство 2.1.10.3968-23)	Белок, экспрессия которого изменяется при воздействии химического вещества	Направление изменения экспрессии белка	Ген выявленного белка	Критические органы, системы и процессы, ассоциированные с белком и геном, кодирующим его экспрессию (БД CTD)
1	2	3	4	5	6
Алюминий оксид	Органы дыхания	Пумилио гомолог 3	Повышение	*Pum3*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, органы пищеварения
		Альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1	Повышение	*Aldh1a7*	Сердечно-сосудистая система, органы пищеварения, нервная система
		Тенеурин-2	Повышение	*Tenm2*	Когнитивные нарушения, нервная система
		Кератин, тип II цитоскелета 5	Повышение	*Krt5*	Заболевания кожи, нервная система
		Фактор элонгации 1-гамма	Повышение	*Eef1g*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система
		Аполипопротеин А-1	Повышение	*Apoa1*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, пищеварительная система, дыхательная система, заболевания кожи, иммунная система
		Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Повышение	*Sec22b*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система, мочевыделительная система
		Транстиретин	Повышение	*Ttr*	Нервная система, метаболические нарушения, пищеварительная система, заболевания кожи, мочевыделительная система, дыхательная система

Продолжение таблицы 4.12

1	2	3	4	5	6
Алюминий оксид	Органы дыхания	Актин-связывающий Rho-активирующий белок	Снижение	*Abra*	Сердечно-сосудистая система
		Нейросекреторный белок VGF	Повышение	*Vgf*	Пищеварительная система, нарушения питания, нервная система
Фтористый водород	Костная система, органы дыхания, зубы	Тектин-2	Повышение	*Tekt2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система
		Нейросекреторный белок VGF	Повышение	*Vgf*	Пищеварительная система, нарушения питания, нервная система
		Белок 9, содержащий ассоциативный домен Ras	Повышение	*Rassf9*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система, пищеварительная система
		Аполипопротеин A-I	Повышение	*Apoa1*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, пищеварительная система, дыхательная система, заболевания кожи, иммунная система
		Фактор фон Виллебранда	Повышение	*Vwf*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, заболевания кожи, заболевания крови и кроветворных органов, пищеварительная система
		Пероксинитритизомераза THAP4	Повышение	*Thap4*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система
		Субъединица коатомера бета	Повышение	*Copb1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система
		Субъединица рецептора гамма-аминомасляной кислоты rho-1	Повышение	*Gabrr1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система
		Ангиотензин-конвертирующий фермент	Повышение	*Ace*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, органы дыхания, мочевыделительная система
		ДНК-полимераза лямбда	Повышение	*Poll*	Эндокринная система, костно-мышечная система, нервная система
		Домен POU, класс 4, фактор транскрипции 2	Повышение	*Pou4f2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система

Продолжение таблицы 4.12

1	2	3	4	5	6
Фтористый водород	Костная система, органы дыхания, зубы	Каппа цепь С области Ig, аллель	Повышение	*Igkc*	Иммунная система, нервная система, пищеварительная система, костно-мышечная система, заболевания крови и кроветворных органов
		Белок переноса везикул SEC22b	Повышение	*Sec22b*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система, мочевыделительная система
		Транстиретин	Повышение	*Ttr*	Нервная система, метаболические нарушения, пищеварительная система, заболевания кожи, мочевыделительная система, дыхательная система
Бенз(а)пирен	Процессы развития	Фактор элонгации 1-гамма	Повышение	*Eef1g*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система
		Тенеурин-2	Повышение	*Tenm2*	Когнитивные нарушения, нервная система
		Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Повышение	*Sec22b*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система, мочевыделительная система
		фактор фон Виллебранда	Повышение	*Vwf*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, заболевания кожи, заболевания крови и кроветворных органов, пищеварительная система
		Аполипопротеин A-I	Повышение	*Apoa1*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, пищеварительная система, дыхательная система, заболевания кожи, иммунная система
		Тектин-2	Снижение	*Tekt2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система
		Гомолог белка SDA1	Снижение	*Sdad1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Транстиретин	Повышение	*Ttr*	Нервная система, метаболические нарушения, пищеварительная система, заболевания кожи, мочевыделительная система, дыхательная система
		Актин-связывающий Rho-активирующий белок	Снижение	*Abra*	Сердечно-сосудистая система

Продолжение таблицы 4.12

1	2	3	4	5	6
Алюминий оксид, фторид водорода, бенз(а)пирен	Отсутствует	Якорный белок А-киназы 8	Повышение	*Akap8*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Натриевый канал и клатриновый линкер 1	Повышение	*Sclt1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Дифосфоинозитол полифосфат фосфогидролаза 1	Повышение	*Nudt3*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Коатомер субъединица дельта	Повышение	*Arcn1*	Нервная система, костно-мышечная система, эндокринная система
		Пептидилпролилизомераза D	Повышение	*Ppid*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Сортировочный белок 1, связанный с рецептором G-белка	Повышение	*Gprasp1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Амфифизин	Повышение	*Amph*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Фактор сплайсинга 9, богатый серином/аргинином	Повышение	*Srsf9*	Иммунная система
		Белок SREK1IP1	Повышение	*Srek1ip1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок 9, содержащий домен рекрутирования каспазы	Повышение	*Card9*	Иммунная система, пищеварительная система, мочевыделительная система, нервная система
		Белок 9, содержащий домен ассоциации Ras	Повышение	*Rassf9*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Пероксисомальная 2,4-диеноил-КоА-редуктаза [(3E)-еноил-КоА-продуцирующая]	Повышение	*Decr2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Нейросекреторный белок VGF	Повышение	*Vgf*	Пищеварительная система, расстройства питания
		Кератин, тип II цитоскелета 6A	Повышение	*Krt6a*	Заболевания кожи

Окончание таблицы 4.12

1	2	3	4	5	6
Алюминий оксид, фторид водорода, бенз(а)пирен	Отсутствует	Динамин-1-подобный белок	Повышение	*Dnm1l*	Нервная система, метаболические нарушения, сердечно-сосудистая система, костно-мышечная система
		Член суперсемейства иммуноглобулинов 10	Повышение	*Igsf10*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Повышение	*Sec22b*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Фактор элонгации 1-гамма	Повышение	*Eef1g*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Тенеурин-2	Повышение	*Tenm2*	Когнитивные нарушения, нервная система
		Аполипопротеин А-1	Повышение	*Apoa1*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, пищеварительная система, дыхательная система, заболевания кожи, иммунная система
		Хантингтин	Повышение	*Htt*	Нервная система, когнитивные нарушения
		фактор фон Виллебранда	Повышение	*Vwf*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, заболевания кожи, заболевания крови и кроветворных органов, пищеварительная система
		Пероксинитрит-изомераза THAP4	Повышение	*Thap4*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система
		Коатомера субъединица бета	Повышение	*Copb1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система
		Субъединица рецептора гамма-аминомасляной кислоты rho-1	Повышение	*Gabrr1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система
		Транстиретин	Повышение	*Ttr*	Нервная система, метаболические нарушения, пищеварительная система, заболевания кожи, мочевыделительная система, дыхательная система
		Нейросекреторный белок VGF	Повышение	*Vgf*	Пищеварительная система, нарушения питания, нервная система
		Гемоглобин субъединица β-2	Повышение	*Hbb*	Заболевания крови и кроветворных органов, нервная система

Установлено, что фактически выявленные протеомные маркеры не только подтверждают поражение детерминированных систем-мишеней (органы дыхания, кроветворная система), но и существенно расширяют спектр критических нарушений. В частности, корреляция между уровнем контаминантов и экспрессией белков, ассоциированных с нервной и пищеварительной системами, указывает на наличие «скрытых» мишеней токсического воздействия, которые не всегда учитываются при традиционном расчете индексов опасности (HI).

Интеграция биоинформационных данных ресурса CTD с результатами масс-спектрометрии позволила доказать, что изменение синтеза специфических белков является первичным звеном реализации патогенетического потенциала смеси металлов и бенз(а)пирена. Следовательно, протеомный профиль выступает в роли «биологического верификатора», позволяющего уточнить и дополнить перечень критических органов, подвергающихся деструкции при сочетанной техногенной нагрузке.

Компаративный анализ протеомных маркеров при изолированной и комбинированной экспозиции позволил верифицировать стабильную группу из 8 белков, демонстрирующих статистически значимые изменения экспрессии, как при изолированном воздействии отдельных компонентов, так и при их комбинированном влиянии (табл. 4.13).

Таблица 4.13

Экспрессия белков, выявленных при изолированном и комбинированном действии Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$ в эксперименте

Наименование белка	Ген, кодирующий белок	Среднегрупповое значение интенсивности белкового пятна и его стандартное отклонение (M ± SD), int.				
		Опытная группа				Контрольная группа
		изолированная экспозиция			комбинированная экспозиция	без экспозиции
		Al_2O_3	HF	$C_{20}H_{12}$	Al_2O_3 + HF + $C_{20}H_{12}$	
Белок 9, содержащий ассоциативный домен Ras	Rassf9	–*	1881±135	–	2753±291	477±73
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Sec22b	2116±111	–	2961±70	2925±314	503±149
Фактор элонгации 1-γ	Eef1g					
Тенеурин-2	Tenm2	1870±90	–	3320±265	2635±143	310±73
Аполипопротеин А-1	Apoa1	3925±283	3086±96	3215±39	2227±333	1436±184
фактор фон Виллебранда	Vwf	–	2843±368	3405+63	3160±183	2054±118
Пероксинитритизомераза THAP4	Thap4	–	2586±78	–	2303±217	1725±62
Транстиретин	Ttr	2671±413	2808±605	2341±84	4097±295	1785±239

Примечание – * данный белок в группе не обнаружен

Идентификация этого инвариантного белкового кластера свидетельствует о наличии общих молекулярных мишеней для оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена. Выделенные белки могут рассматриваться как универсальные биомаркеры, ассоциированные с комбинированным действием оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена, отражающие фундаментальные патогенетические сдвиги, которые сохраняются вне зависимости от режима экспозиции (изолированного или комбинированного). В то же время их устойчивое выявление в условиях комбинации факторов подтверждает аддитивный характер токсического действия, при котором патологическая трансформация протеомного профиля достигает максимальной выраженности.

Индивидуальная характеристика выявленных белков представлена в таблице 4.14.

Таблица 4.14

Функциональная характеристика белков, выявленных одновременно при изолированном и комбинированном действии Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$

Наименование белка	Ген, кодирующий белок	Функциональная характеристика белка
Белок 9, содержащий ассоциативный домен Ras	*Rassf9*	Участвует в передаче сигналов, регулирующих рост клеток, апоптоз и организацию цитоскелета
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	*Sec22b*	Рецептор, регулирующий мембранный трафик между эндоплазматическим ретикулумом и аппаратом Гольджи
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*	Компонент аппарата трансляции, обеспечивающий доставку аминоацил-тРНК-синтетазу к рибосоме
Тенеурин-2	*Tenm2*	Внеклеточный матриксный белок, участвующий в развитии мозга, синаптогенезе и клеточной адгезии
Аполипопротеин А-1	*Apoa1*	Главный компонент ЛПВП, участвует в обратном транспорте холестерина
Фактор фон Виллебранда	*Vwf*	Ключевой белок системы свёртывания крови, который является главным переносчиком фактора свёртывания VIII
Пероксинитритизомераза THAP4	*Thap4*	Фактор транскрипции, функция которого изучена недостаточно
Транстиретин	*Ttr*	Белок-переносчик тироксина и витамина А в крови и спинномозговой жидкости

Связь между токсической нагрузкой многокомпонентной смеси и трансформацией протеомного профиля реализуется через каскад клеточно-молекулярных механизмов, концептуально представленных на рисунке 4.8.

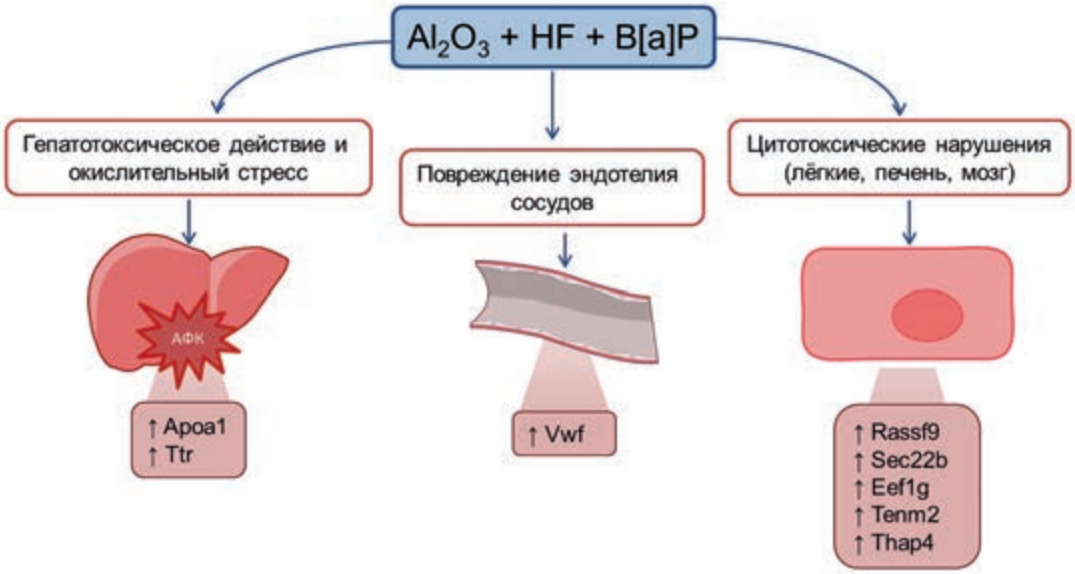


Рис. 4.8. Ключевые клеточно-молекулярные механизмы повреждающего комбинированного действия алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена на белки, выявленные в условиях эксперимента

В качестве доминирующих звеньев повреждающего действия комбинации алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена верифицированы прямая цитотоксичность и, прежде всего, выраженная гепатотоксичность. Патогенетическим триггером данных нарушений выступает инициация окислительного стресса, сопряженного с деструкцией мембранных структур и эндотелиальной дисфункцией. Повреждение сосудистого эндотелия в сочетании с метаболическими сдвигами в гепатоцитах формирует условия для развития системного микроциркуляторного дистресса, что объясняет полиорганный характер выявленных протеомных аберраций.

Механизмы прямой цитотоксичности и маркеры клеточной деструкции. Цитодеструктивное действие исследуемой комбинации химических факторов реализуется через подавление белкового анаболизма и запуск программ клеточной гибели. Ключевыми индикаторами этих процессов в эксперименте выступили:

• ингибирование трансляционного аппарата – снижение экспрессии фактора элонгации 1-γ (EEF1G) свидетельствует о системной супрессии биосинтеза белка, индуцированной токсической нагрузкой;

• маркеры клеточного лизиса и некроза – верификация в плазме крови белка SEC22B является прямым следствием цитолитического повреждения

тканей-мишеней (преимущественно головного мозга и печени). Выход внутриклеточного содержимого в системный кровоток при апоптозе и некрозе позволяет рассматривать SEC22B как специфический маркер деструктивных процессов в паренхиме органов. Аналогичным индикатором массивного распада тканей и патологического ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса служит появление в плазме тенеурина-2 (TENM2);

• регуляция стресс-индуцированного апоптоза – изменение уровней белков семейства Rassf, в частности, RASSF9, отражает активацию защитных сигнальных путей в легких и печени в ответ на экзогенную интоксикацию;

• аберрации транскрипционного контроля – трансформация экспрессии белка с THAP-доменом (THAP4 – пероксинитритизомеразы) указывает на глубокую дезорганизацию регуляции транскрипции и клеточного цикла, что патогенетически сопряжено с повреждающим действием алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена.

В таблице 4.15 систематизированы данные о тканеспецифической локализации верифицированных белков-маркеров, позволяющие локализовать зоны наиболее вероятной цитотоксической деструкции. Представленный профиль экспрессии в органах-мишенях объективизирует топографию клеточных повреждений, ассоциированных с сочетанным воздействием алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена в условиях эксперимента.

Таблица 4.15

Тканеспецифическая экспрессия белков-маркеров, указывающая на локализацию цитотоксического действия комбинации алюминия, фтор-иона и бенз(а)пирена

Наименование белка	Ген, кодирующий белок	Тканеспецифическая экспрессия белка
Белок 9, содержащий ассоциативный домен Ras	*Rassf9*	Лёгкие, почки
Белок переноса везикул SEC22b	*Sec22b*	Мозг, печень
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*	Поджелудочная железа, тимус
Тенеурин-2	*Tenm2*	Мозг, печень
Пероксинитритизомераза THAP4	*Thap4*	Почки

Распределение белков подтверждает мультиорганный характер токсичности, выделяя печень и мозг как наиболее уязвимые органы-мишени из-за деструкции гистогематических барьеров.

Механизмы гепатотоксичности. Гепатотоксический эффект, индуцируемый комбинированным воздействием алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена, реализуется преимущественно через каскад окислительного стресса, что

подтверждается функциональным анализом верифицированных белковых мишеней. Ключевыми биомаркерами нарушения метаболического гомеостаза выступают аполипопротеин А-1 (Apoa1) и транстиретин (Ttr). Будучи белками острой фазы и индикаторами синтетической активности печени, они обладают выраженными антиоксидантными свойствами и обеспечивают защиту клеточных мембран от пероксидации.

Развитие оксидативного стресса под влиянием исследуемых веществ инициирует сложную адаптивную перестройку протеома. Гиперэкспрессия Apoa1 и Ttr в данных условиях интерпретируется как компенсаторная реакция биосистемы, направленная на минимизацию повреждающего действия свободных радикалов и поддержание структурной целостности гепатоцитов. Следовательно, динамика уровней этих белков служит высокочувствительным предиктором раннего токсического поражения печени.

Механизмы повреждения эндотелия и нарушения гемостаза. Деструктивное воздействие исследуемых химических соединений на сосудистое русло реализуется через прямое повреждение эндотелиальных клеток. Ключевым молекулярным индикатором этого процесса выступает резкая гиперэкспрессия и массированный выброс в системный кровоток фактора фон Виллебранда (VWF). Повышение плазменной концентрации VWF служит высокоспецифичным сигналом альтерации сосудистого эндотелия и инициирует каскад нарушений в системе гемостаза. Данный механизм не только подтверждает вазотоксический потенциал комбинации веществ, но и объясняет патогенетическую основу развития микроциркуляторных расстройств и гемодинамических сдвигов, наблюдаемых при хроническом воздействии.

Таким образом, верифицированная группа белков – RASSF9, SEC22B, EEF1G, TENM2, APOA1, VWF, THAP4 и TTR – формирует специфическую протеомную сигнатуру хронического сочетанного ингаляционного воздействия оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена в дозах, релевантных реальной техногенной нагрузке. В качестве фундаментальных клеточно-молекулярных механизмов патогенеза обоснованы: вазотоксическое действие (деструкция эндотелия и активация фактора фон Виллебранда), системная цитотоксичность (цитолитическое повреждение паренхимы легких, головного мозга и печени), гепатотоксический эффект, инициированный окислительным стрессом и нарушением метаболического гомеостаза. Данная сигнатура позволяет объективизировать переход от скрытых молекулярных сдвигов к манифестным органно-тканевым нарушениям, обеспечивая доказательную базу для донозологического биомониторинга в зонах экологического неблагополучия.

Протеомный профиль плазмы крови при аэрогенной экспозиции оксидами меди, никеля и хрома в условиях эксперимента

Анализ и обобщение полученных результатов собственных протеомных исследований на биологической модели позволил выявить 73 белковых пятна, статистически значимо различающихся по интенсивности между группами

опыта и контроля при изолированной экспозиции: оксидом меди – 26 белковых пятен, оксидом никеля – 22 белковых пятна, оксидом хрома – 25 белковых пятен.

Из их числа для 68 (93 %) построены достоверные математические модели, описывающие причинно-следственные связи «доза (концентрация вещества в крови) – эффект (изменение интенсивности белкового пятна)» при изолированной экспозиции веществ: 25 моделей при действии оксида меди (R^2 = 0,38–0,90; p = 0,000–0,033), 21 – оксида никеля (R^2 = 0,45–0,71; p = 0,001–0,017), 22 – оксида хрома (R^2 = 0,26–0,68; p = 0,000–0,042). Количество затронутых белков распределено между металлами относительно равномерно (22–26 пятен на каждый оксид), что говорит о сопоставимой биологической агрессивности выбранных доз.

Использование базы данных CTD (Comparative Toxicogenomics Database) в связке с Р 2.1.10.3968-23 позволяет перекинуть «мостик» от эксперимента на крысах к оценке реальных рисков для здоровья человека, подтверждая биологическое правдоподобие найденных маркеров. Результаты сопоставительного анализа прогнозных оценок нарушений со стороны критических органов и систем по критериям риска здоровью человека (Руководство Р 2.1.10.3968-23) и фактически установленного белка в эксперименте по данным биоинформационного ресурса CTD представлены в таблице 4.16.

Таблица 4.16

Сопоставительный анализ прогнозных оценок нарушений со стороны критических органов и систем по критериям риска здоровью и фактически установленных изменений экспрессии белка, ассоциированных с действием веществ

Изолированная ингаляционная экспозиция химическим веществом в эксперименте	Критические органы и системы при ингаляционном поступлении (Руководство 2.1.10.3968-23)	Белок, экспрессия которого изменяется при воздействии химического вещества	Направление изменения экспрессии белка	Ген, кодирующий белок	Критические органы, системы и процессы, ассоциированные с белком и геном, кодирующим его экспрессию (БД CTD)
1	2	3	4	5	6
Медь оксид	Органы дыхания, системное воздействие	Нейросекреторный белок VGF	Повышение	*Vgf*	Пищеварительная система, нарушения питания, нервная система
		β-1 субъединица гемоглобина	Повышение	*Hbb*	Заболевания крови и кроветворных органов, нервная система
		β-2 субъединица гемоглобина	Повышение	*Hbb*	Заболевания крови и кроветворных органов, нервная система
		АТФ-зависимая РбНК-хеликаза DDX1	Повышение	*Ddx1*	Мочевыделительная система, иммунная система, когнитивные нарушения, нервная система
		Белок теплового шока 90-β	Повышение	*Hsp90ab1*	Мочевыделительная система, иммунная система
		Белковый компонент теломеразы 1	Повышение	*Tep1*	Дыхательная система
		Кератин, цитоскелета II типа 75	Снижение	*Krt75*	Заболевания кожи
		Интерферон-индуцируемый двухцепочечный РНК-зависимый активатор протеинкиназы А	Повышение	*Prkra*	Нервная система, дыхательная система, когнитивные нарушения

Продолжение таблицы 4.16

1	2	3	4	5	6
Медь оксид	Органы дыхания, системное воздействие	Сидерофлексин-3	Повышение	*Sfxn3*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система
		Представитель суперсемейства иммуноглобулина 10	Повышение	*Igsf10*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система, пищеварительная система
		Ретинобластомоподобный белок 2	Снижение	*Rbl2*	Мочевыделительная система, пищеварительная система, иммунная система, эндокринная система, заболевания крови и кроветворных органов, лимфатическая система
		Ангиотензин-превращающий фермент	Снижение	*Ace*	Сердечно-сосудистая система, нервная система, органы дыхания, мочевыделительная система
		Пероксисомальная, 2,4-диеноил-КоА-редуктаза	Повышение	*Decr2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система, пищеварительная система
		Гликогенсинтаза, мышечная	Снижение	*Gys1*	Метаболические нарушения
		Белок 1, родственный цистатину	Повышение	*Andpro*	Нервная система, мочевыделительная система, пищеварительная система, сердечно-сосудистая система
		Адвиллин	Снижение	*Avil*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система, мочевыделительная система
		Фактор комплемента APOBEC1	Снижение	*A1cf*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Актин-связывающий Rho-активирующий белок	Повышение	*Abra*	Сердечно-сосудистая система
		Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly	Повышение	*Clip4*	Нервная система, сердечно-сосудистая система

Продолжение таблицы 4.16

1	2	3	4	5	6
Медь оксид	Органы дыхания, системное воздействие	POU домен, класс 4, транскрипционный фактор	Снижение	*Pou4f2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок SEC22a, транспортирующий везикулы	Снижение	*Sec22a*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок SDA1 гомолог	Снижение	*Sdad1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Активатор транскрипции BRG1	Снижение	*Smarca4*	Нервная система, иммунная система, сердечно-сосудистая система, лимфатическая система, когнитивные нарушения, костно-мышечная система, эндокринная система
		Область C каппа-цепи Ig, аллель A	Снижение	*Igkc*	Иммунная система, нервная система, пищеварительная система, костно-мышечная система, заболевания крови и кроветворных органов
		Альдегиддегидрогеназа цитозоль 1	Повышение	*Aldh1a7*	Сердечно-сосудистая система, нервная система
Никель оксид	Органы дыхания, кровь	Нейросекреторный белок VGF	Повышение	*Vgf*	Пищеварительная система, нарушения питания, нервная система
		β-1 субъединица гемоглобина	Повышение	*Hbb*	Заболевания крови и кроветворных органов, нервная система
		β-2 субъединица гемоглобина	Повышение	*Hbb*	Заболевания крови и кроветворных органов, нервная система
		АТФ-зависимая РНК-геликаза DDX1	Повышение	*Ddx1*	Мочевыделительная система, иммунная система, когнитивные нарушения, нервная система
		Фактор элонгации 1-γ	Повышение	*Eef1g*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система
		Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Повышение	*Sec22b*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система, мочевыделительная система
		Пумилио гомолог 3	Повышение	*Pum3*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, органы пищеварения

Продолжение таблицы 4.16

1	2	3	4	5	6
Никель оксид	Органы дыхания, кровь	Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly	Повышение	*Clip4*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок SEC22a, транспортирующий везикулы	Снижение	*Sec22a*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Гомолог белка SDA1	Снижение	*Sdad1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Активатор транскрипции BRG1	Снижение	*Smarca4*	Нервная система, иммунная система, сердечно-сосудистая система, лимфатическая система, когнитивные нарушения, костно-мышечная система, эндокринная система
		Область C каппа-цепи Ig, аллель A	Снижение	*Igkc*	Иммунная система, нервная система, пищеварительная система, костно-мышечная система, заболевания крови и кроветворных органов
		Белок-носитель стерола 2	Снижение	*Scp2*	Нервная система
		Синаптотагмин 2	Снижение	*Syt2*	Нервная система
		Гликогенсинтаза, мышечная	Снижение	*Gys1*	Метаболические нарушения
		Убиквитин-протеинлигаза E3 RING1	Снижение	*Ring1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Кинезиноподобный белок KIF2B	Снижение	*Kif2b*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Миозин-6	Снижение	*Myh6*	Сердечно-сосудистая система, нервная система
		Кальций-связывающий белок 7	Снижение	*Cabp7*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Ретинобластомоподобный белок 2	Снижение	*Rbl2*	Мочевыделительная система, пищеварительная система, иммунная система, эндокринная система, заболевания крови и кроветворных органов, лимфатическая система
		Фактор комплемента APOBEC1	Снижение	*A1cf*	Нервная система, сердечно-сосудистая система

Продолжение таблицы 4.16

1	2	3	4	5	6
Хром оксид	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ	Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly	Повышение	*Clip4*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Муриноглобулин-2	Повышение	*Mug2*	Нервная система
		Субъединица 4 фактора специфичности расщепления и полиаденилирования	Повышение	*Cpsf4*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		β-1,4-галактозилтрансфераза 4	Повышение	*B4galt4*	Нервная система
		Нуклеопорин NUP35	Повышение	*Nup35*	Дыхательная система, нервная система
		Альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1	Повышение	*Aldh1a7*	Сердечно-сосудистая система, нервная система
		Ретинальный гомеобоксный белок Rx	Повышение	*Rax*	Заболевания кожи, костно-мышечная система, нервная система
		Трансгелин	Повышение	*Tagln*	Пищеварительная система, мочевыделительная система, метаболические нарушения, нервная система
		Циклинзависимая киназа	Повышение	*Cdk1*	Пищеварительная система, иммунная система, лимфатическая система, нервная система
		Ацил-коэнзим А тиоэстераза 2, митохондриальная	Повышение	*Acot2*	Сердечно-сосудистая система
		CMRF35-подобная молекула 8	Повышение	*Cd300a*	Нервная система
		Белок аргинин N-метилтрансфераза 1	Повышение	*Prmt1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Ацетилхолинэстеразы коллагеновый хвостовой пептид	Повышение	*Colq*	Нервная система, пищеварительная система

Продолжение таблицы 4.16

1	2	3	4	5	6
Хром оксид	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ	Простатический стероид, связывающий белок C2	Повышение	*Psbpc2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок C2, содержащий домен холодового шока	Повышение	*Csdc2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Спастин	Повышение	*Spast*	Нервная система, когнитивные нарушения
		АТФ-зависимая РНК-хеликаза DDX25	Повышение	*Ddx25*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок-подобный 2, ассоциированный с микротрубочками иглокожих	Повышение	*Eml2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок 1, содержащий домен семейства эндонуклеаз/ экзонуклеаз/фосфатаз	Снижение	*Eepd1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок AATF	Повышение	*Aatf*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		NGFI-A-связывающий белок 1	Снижение	*Nab1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Репрессор арильных углеводородных рецепторов	Повышение	*Ahrr*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
Оксиды меди, никеля и хрома	Отсутствует	Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly	Повышение	*Clip4*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Муриноглобулин-2	Повышение	*Mug2*	Нервная система
		Фактор элонгации 1-гамма	Повышение	*Eef1g*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система

Продолжение таблицы 4.16

1	2	3	4	5	6
Оксиды меди, никеля и хрома	Отсутствует	Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Повышение	*Sec22b*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система, мочевыделительная система
		β-1,4-галактозилтрансфераза 4	Повышение	*B4galt4*	Нервная система
		Сфинголипид дельта(4)-деструктаза/ C4-монооксигеназа DES 2	Повышение	*Degs2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Ретинальный гомеобоксный белок Rx	Повышение	*Rax*	Заболевания кожи, костно-мышечная система, нервная система
		Кератин, цитоскелет II типа 75	Повышение	*Krt75*	Заболевания кожи
		Сидерофлексин-3	Повышение	*Sfxn3*	Нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система
		Трансгелин	Повышение	*Tagln*	Пищеварительная система, мочевыделительная система, метаболические нарушения, нервная система
		Циклинзависимая киназа	Повышение	*Cdk1*	Пищеварительная система, иммунная система, лимфатическая система, нервная система
		CMRF35-подобная молекула 8	Повышение	*Cd300a*	Нервная система
		Белок аргинин-N-метилтрансфераза 1	Повышение	*Prmt1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Актин-связывающий Rho-активирующий белок	Снижение	*Abra*	Сердечно-сосудистая система
		SPATS2-подобный белок	Снижение	*Spats2l*	Сердечно-сосудистая система

Окончание таблицы 4.16

1	2	3	4	5	6
Оксиды меди, никеля и хрома	Отсутствует	АТФ-зависимая РНК-хеликаза DDX25	Снижение	*Ddx25*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок 1, содержащий домен семейства эндонуклеаз/ экзонуклеаз/фосфатаз	Снижение	*Eepd1*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок-подобный 2, ассоциированный с микротрубочками иглокожих	Снижение	*Eml2*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Область С каппа-цепи Ig, аллель А	Снижение	*Igkc*	Иммунная система, нервная система, пищеварительная система, костно-мышечная система, заболевания крови и кроветворных органов
		Репрессор арильных углеводородных рецепторов	Снижение	*Ahrr*	Нервная система, сердечно-сосудистая система
		Белок-носитель стерола 2	Снижение	*Scp2*	Нервная система
		Гельсолин	Снижение	*Gsn*	Сердечно-сосудистая система, пищеварительная система, метаболические нарушения, нервная система

Обобщение полученных данных показало, что действие металлоксидных соединений меди, никеля и хрома при изолированном действии может приводить к трансформации протеомного профиля и связанному с ней развитию негативных эффектов, проявляющихся в первую очередь в тканях нервной, сердечно-сосудистой и мочевыделительной систем (3 первых ранга из 14). Полученные результаты позволили расширить перечень критических органов и систем у человека при изолированном действии химических веществ, обозначенных по критериям риска здоровью.

Анализ результатов исследования трансформации протеомного профиля плазмы крови крыс при комбинированной экспозиции оксидами никеля, хрома и меди позволил установить 20 белков, экспрессия которых увеличивается при одновременном повышении концентрации меди, никеля и хрома в крови (R^2 = 0,56–0,95; p = 0,001–0,003). Обобщение полученных результатов показало, что оксиды меди, никеля и хрома при комбинированном действии приводят к трансформации протеомного профиля и связанному с ней развитию негативных эффектов, в первую очередь проявляющихся в виде нарушения нервной, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем (3 первых ранга из 10), что согласуется с данными, полученными при экспериментальной изолированной экспозиции изучаемых веществ.

Сопоставительный анализ выявленных белков при изолированном и комбинированном действии изучаемых веществ позволил выделить 23 белка, встречающихся как минимум в одной группе при изолированном действии и при комбинации веществ (табл. 4.17).

Полученные результаты позволяют сделать важный вывод о специфичности и устойчивости биологического отклика, который характеризуется:

– ядро патологии: нервная и сердечно-сосудистая системы остаются «мишенями № 1» как при изолированном, так и при комбинированном воздействии. Это подтверждает их высокую чувствительность к окислительному стрессу и системной интоксикации металлами;

– смена акцентов: в условиях смеси (Cu+Ni+Cr) на третье ранговое место выходит пищеварительная система, потеснив мочевыделительную. Это может указывать на синергетический эффект металлов на печень или метаболические пути, который не так ярко выражен при их раздельном действии;

– математическая сила: коэффициент детерминации для смеси (R^2 до 0,95) выше, чем при изолированном действии. Это свидетельствует о более жесткой, детерминированной связи «доза-эффект» при комбинированном поступлении веществ.

Фактически обоснована необходимость дополнения Руководства при оценке рисков здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания (Р 2.1.10.3968-23), в части расширения списка критических органов на основе прямых протеомных доказательств.

Таблица 4.17

Экспрессия белков, выявленных при изолированном и комбинированном действии CuO, NiO и Cr_2O_3 в эксперименте

Наименование белка	Ген белка	Среднегрупповая интенсивность белкового пятна, (M ± SD), int				
		Опытная группа				Контрольная группа
		Изолированная экспозиция			Комбинированная экспозиция	Без экспозиции
		NiO	CuO	Cr_2O_3	CuO+NiO+Cr_2O_3	
Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly	*Clip4*	1972±197	779±53	3653±178	2824±313	153±15
Область С каппа-цепи Ig, аллель А	*Igkc*	1677±255	1300±408	–*	3561±367	4169±171
Ретинобластомоподобный белок 2	*Rbl2*	1233±153	1163±80	–	316±64	298±49
Муриноглобулин-2	*Mug2*	–	–	4165±350	2185±171	165±22
β-1,4-галактозилтрансфераза 4	*B4galt4*	–	–	11028±475	7516±177	2743±275
Ретинальный гомеобоксный белок Rx	*Rax*	–	–	15013±696	6022±485	3522±282
Трансгелин	*Tagln*	–	–	2492±159	2003±140	774±79
Циклинзависимая киназа	*Cdk1*	–	–	3185±56	2248±161	1946±51
CMRF35-подобная молекула 8	*Cd300a*	–	–	13245±741	9038±249	8006±453
Белок аргинин-N-метилтрансфераза 1	*Prmtl*	–	–	4973±427	2754±342	2097±100
Регулятор развития, связанный с интерфероном 1	*Ifrd1*	–	–	19496±428	20280±392	19835±540
АТФ-зависимая РНК-геликаза DDX25	*Ddx25*	–	–	12121±473	2061±97	9019±294
Белок-подобный 2, ассоциированный с микротрубочками иглокожих	*Eml2*	–	–	6310±307	7313±685	15484±415
Белок 1, содержащий домен семейства эндонуклеаз/экзонуклеаз/фосфатаз	*Eepd1*	–	–	10800±431	10312±378	13137±492
Репрессор арильных углеводородных рецепторов	*Ahrr*	–	–	5882±198	3230±200	4169±171
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*	2071±95	–	–	2092±80	149±15
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	*Sec22b*	2120±127	–	–	4984±352	2785±90
Белок-носитель стерола 2	*Scp2*	145±22	–	–	4496±846	9943±759
Кератин цитоскелета II типа 75	*Krt75*	–	859±129	–	7105±406	5014±695
Сидерофлексин-3	*Sfxn3*	–	2863±102	–	1633±198	164±46

Примечание – * данный белок в группе не обнаружен.

Данные белки оценены в качестве индикаторных, изменение экспрессии которых ассоциировано с комбинированным действием оксидов меди, никеля и хрома. Индивидуальная функциональная характеристика выявленных белков представлена в таблице 4.18.

Таблица 4.18

Функциональная характеристика белков, выявленных одновременно при изолированном и комбинированном действии CuO, NiO и Cr_2O_3

Наименование белка	Ген, кодирующий белок	Функциональная характеристика белка
1	2	3
Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly	*Clip4*	Регулирует динамику микротрубочек
Область С каппа-цепи Ig, аллель A	*Igkc*	Константная область лёгких к-цепей антител. Прямо указывает на вовлечённость И-лимфоцитов и гуморального иммунитета
Ретинобластомоподобный белок 2	*Rbl2*	Регулирует переход из G1 в S фазу, подавляя активность факторов транскрипции E2F
Муриноглобулин-2	*Mug2*	Ингибитор сериновой протеазы
β-1,4-галактозилтрансфераза 4	*B4galt4*	Участвует в синтезе гликопротеинов и гликолипидов
Трансгелин	*Tagln*	Белок, связанный с актином, маркер гладкомышечных клеток. Участвует в клеточной подвижности и структуре цитоскелета
Циклинзависимая киназа	*Cdk1*	Ключевой регулятор перехода G2 фазы в митоз. Фактор клеточного деления
CMRF35-подобная молекула 8	*Cd300a*	Иммунорецептор, который передаёт ингибирующие сигналы в иммунных клетках, предотвращая чрезмерную активацию
Белок аргинин-N-метилтрансфераза 1	*Prmtl*	Предположительно участвует в модификации белков
Регулятор развития, связанный с интерфероном 1	*Ifrd1*	Регулирует транскрипцию в ответ на различные сигналы, включая факторы роста и стресса
АТФ-зависимая РНК-геликаза DDX25	*Ddx25*	РНК-хеликаза, участвующая в процессинге РНК
Белок-подобный 2, ассоциированный с микротрубочками иглокожих	*Eml2*	Ассоциирован с микротрубочками, важен для их стабилизации и организации
Белок 1, содержащий домен семейства эндонуклеаз/экзонуклеаз/фосфатаз	*Eepd1*	Участвует в репарации ДНК

Продолжение таблицы 4.18

1	2	3
Репрессор арильных углеводородных рецепторов	*Ahrr*	Участвует в реакции на ксенобиотики и токсины, регулирует воспаление и иммунный ответ
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*	Компонент аппарата трансляции, обеспечивающий доставку аминоацил-тРНК-синтетазу к рибосоме
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	*Sec22b*	Рецептор, регулирующий мембранный трафик между эндоплазматическим ретикулумом и аппаратом Гольджи. Ключевой белок для перекрёстного представления антигенов дендритными клетками
Белок-носитель стерола 2	*Scp2*	Участвует в метаболизме липидов и стеролов
Кератин цитоскелета II типа 75	*Krt75*	Структурный белок, компонент цитокератиновых филаментов в эпителиальных клетках
Сидерофлексин-3	*Sfxn3*	Участвует в метаболизме железа и митохондриальной функции

Связь механизма токсического действия комбинации веществ с выявленными белками прослеживается через несколько ключевых клеточно-молекулярных механизмов, представленных на рисунке 4.9.

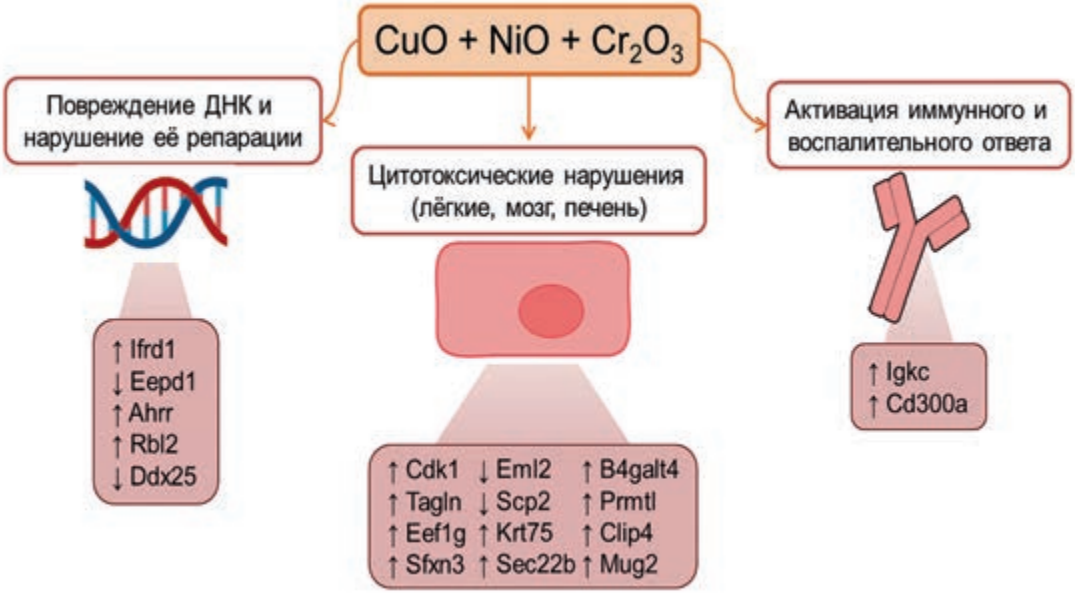


Рис. 4.9. Ключевые клеточно-молекулярные механизмы комбинированного действия оксидов меди, никеля и хрома на белки, выявленные на основании результатов экспериментальных исследований

В качестве ключевых клеточно-молекулярных механизмов повреждающего комбинированного действия оксидов меди, никеля и хрома на белки выделяются цитотоксичность, активация иммунного и воспалительного ответов, повреждение ДНК и её репарации.

Цитотоксическое действие. Подтверждается появлением в плазме внутриклеточных белков, указывающих на некроз и апоптоз специфических тканей: легких (трансгелин Tagln), поджелудочной железы (фактор элонгации 1-γ Eef1g) и мозга (сидерофлексин-3 Sfxn3). Маркером клеточного лизиса служит белок SEC22b, а наличие белков B4galt4, Prmtl, Clip4 и Mug2, чья роль изучена недостаточно, может рассматриваться как неспецифический маркер системной цитотоксичности изучаемых соединений. В таблице 4.19 представлены ткани органов, преимущественно в которых прогнозируются клеточные повреждения, ассоциированные с экспрессией выявленных белков.

Активация иммунного и воспалительного ответа. Подтверждается появлением специфических гуморальных маркеров. К ним относится область С каппа-цепи Ig (ген Igkc), отражающая прямой иммунный ответ на химическую экспозицию. Параллельно фиксируется высвобождение CMRF35-подобной молекулы 8 (ген Cd300a) с мембран иммунокомпетентных клеток, уровень которой служит индикатором интенсивности воспалительной реакции.

Таблица 4.19

Тканеспецифическая экспрессия выявленных белков, указывающая на локализацию цитотоксического действия меди, никеля и хрома

Наименование белка	Ген, кодирующий белок	Тканевая экспрессия белка
Циклинзависимая киназа	*Cdk1*	Тимус
Трансгелин	*Tagln*	Лёгкие
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*	Поджелудочная железа, тимус
Сидерофлексин-3	*Sfxn3*	Мозг
Белок-подобный 2, ассоциированный с микротрубочками иглокожих	*Eml2*	Мозг
Белок-носитель стерола 2	*Scp2*	Почки, печень
Кератин, цитоскелет II типа 75	*Krt75*	Селезёнка, лёгкие
Белок переноса везикул SEC22b	*Sec22b*	Мозг, печень

Повреждение ДНК и нарушение её репарации. Механизмы повреждения ДНК и нарушения её репарации верифицируются по присутствию в плазме белка 1, содержащего домен семейства эндонуклеаз/экзонуклеаз/фосфатаз (ген Eepd1), что прямо указывает на генотоксический эффект. Остановка клеточного цикла как защитная реакция или следствие гибели клеток подтверждается

высвобождением ретинобластомоподобного белка 2 (ген *Rbl2*) и АТФ-зависимой РНК-геликазы DDX25. Важную роль в патогенезе играет репрессор арильных углеводородных рецепторов (ген Ahrr), который подавляет экспрессию генов репарации, усиливая токсическое действие металлов и закрепляя молекулярные повреждения в клетках-мишенях.

Таким образом, обобщение результатов исследования позволяет констатировать, что при изолированной аэрогенной экспозиции оксидами меди, никеля и хрома выявляются 73 значимых белковых пятна, для 68 из которых установлены достоверные зависимости «доза-эффект» (R^2 = 0,26–0,90). Это приводит к трансформации протеомного профиля и развитию негативных эффектов преимущественно в нервной, сердечно-сосудистой и мочевыделительной системах. При комбинированном воздействии данных соединений установлена панель из 20 белков, экспрессия которых коррелирует с сочетанным ростом концентрации металлов в крови (R^2 = 0,56–0,95), при этом в ранговом ряду критических органов мочевыделительную систему сменяет пищеварительная.

В качестве протеомной сигнатуры хронического комбинированного действия оксидов меди, никеля и хрома идентифицированы 19 ключевых белков (Clip4, Igkc, Rbl2, Mug2, B4galt4, Tagln, Cdk1, Cd300a, Prmtl, Ifrd1, Ddx25, Eml2, Eepd1, Ahrr, Eef1g, Sec22b, Scp2, Krt75, Sfxn3). Ключевыми клеточно-молекулярными механизмами патогенеза обоснованы цитотоксичность (прежде всего в тканях мозга, легких и печени), активация иммунного и воспалительного ответов, а также повреждение ДНК и систем её репарации. Цитотоксический эффект подтверждается выходом в плазму специфических внутриклеточных маркеров, таких как трансгелин (легкие), фактор элонгации 1-γ (поджелудочная железа) и сидерофлексин-3 (мозг), а также индикатора клеточного лизиса SEC22b. Иммуновоспалительный ответ верифицируется по динамике Igkc и рецептора Cd300a, в то время как генотоксическое действие и нарушение клеточного цикла подтверждаются экспрессией белков Eepd1, Rbl2, Ddx25 и репрессора Ahrr, подавляющего восстановительные механизмы клетки.

Особенности комбинированного действия химических веществ по критерию изменения интенсивности белковых пятен в протеомном профиле плазмы крови при экспериментальной экспозиции

Оценка особенностей комбинированного действия химических веществ (на примере оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена), выполненная по сопоставлению ожидаемой (простая суммация) и фактически установленной экспрессии (по критерию интенсивности) 8 индикаторных белков, выявила отклонения от аддитивности. Установлено, что в 62,5 % случаев наблюдается антагонизм (преимущественно под влиянием фторида водорода), что свидетельствует о конкуренции компонентов за связь с белками-мишенями. В 37,5 % случаев зафиксирован синергизм, обусловленный сочетанным влиянием всех трех веществ, что указывает на взаимное усиление их токсического эффекта. Эти данные (табл. 4.20, 4.21) подтверждают, что протеомный

профиль плазмы крови при комбинированной экспозиции формируется нелинейно и зависит от доминирования отдельных компонентов смеси.

Таблица 4.20

Интенсивность белкового пятна при изолированном и комбинированном действии Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$

Наименование белка	Ген, кодирующий белок	Среднегрупповое значение интенсивности белкового пятна (M ± SD), int				
		Опытная группа				Контрольная группа
		Изолированная экспозиция			Комбинированная экспозиция	Без экспозиции
		Al_2O_3	HF	$C_{20}H_{12}$	Al_2O_3 + HF + $C_{20}H_{12}$	
Белок 9, содержащий ассоциативный домен Ras	*Rassf9*	–	1881±135	–	2753±291	477±73
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	*Sec22b*	2116±111	–	2961±70	2925±314	503±149
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*					
Тенеурин-2	*Tenm2*	1870±90	–	3320±265	2635±143	310±73
Аполипопротин А-1	*Apoa1*	3925±283	3086±96	3215±39	2227±333	1436±184
Фактор фон Виллебранда	*Vwf*	–	2843±368	3405+63	3160±183	2054±118
Пероксинитритизомераза THAP4	*Thap4*	–	2586±78	–	2303±217	1725±62
Транстиретин	*Ttr*	2671±413	2808±605	2341±84	4097±295	1785±239
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*	2451±46	–	2310±247	1847±80	421±106

Таблица 4.21

Особенности комбинированного действия Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$ по критерию изменения интенсивности белковых пятен в протеомном профиле в эксперименте на биологической модели

Наименование белка	Ген, кодирующий белок	Фактический эффект, нормализованный относительно контроля, %				Ожидаемый эффект, %	Различие фактического и ожидаемого эффектов (ΔE)	Особенность комбинированного действия Al_2O_3, HF, $C_{20}H_{12}$
		Опытная группа						
		Изолированная экспозиция			Комбинированная экспозиция			
		Al_2O_3	HF	$C_{20}H_{12}$	Al_2O_3 + HF + $C_{20}H_{12}$			
Белок 9, содержащий ассоциативный домен Ras	*Rassf9*	0,0	294,3	0,0	477,1	294,3	182,8	синергизм
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	*Sec22b*	320,7	0,0	488,7	481,5	809,3	-327,8	антагонизм
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*							
Тенеурин-2	*Tenm2*	503,2	0,0	971,0	750,0	1474,2	-724,2	антагонизм
Аполипопротин А-1	*Apoa1*	173,3	114,9	123,9	55,1	-2466885,1	2466940,2	синергизм
Фактор фон Виллебранда	*Vwf*	0,0	38,4	65,8	53,8	104,2	-50,3	антагонизм
Пероксинитритизомераза THAP4	*Thap4*	0,0	65,6	0,0	33,5	65,6	-32,1	антагонизм
Транстиретин	*Ttr*	105,7	57,3	31,1	129,5	-188421,4	188550,9	синергизм
Фактор элонгации 1-γ	*Eef1g*	482,2	0,0	448,7	338,7	930,9	-592,2	антагонизм

Анализ установленных клеточно-молекулярных механизмов позволил выделить ряд характерных особенностей комбинированного действия смеси изучаемых веществ на экспрессию белков-мишеней (табл. 4.22). Установлено:

– синергетическим эффектом характеризуются механизмы гепатотоксичности и развития окислительного стресса, что подтверждается изменением уровней белков *Apoa1* и *Ttr*;

– антагонистическим эффектом характеризуется механизм повреждения эндотелия (белок Vwf) и общей цитотоксичности, верифицируемой по экспрессии белков *Eef1g, Sec22b, Rassf9, Tenm2, Thap4.*

Таблица 4.22

Особенности комбинированного действия Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$ на клеточно-молекулярные механизмы по критерию интенсивности белковых пятен

Клеточно-молекулярный механизм	Белки-мишени	Особенность комбинированного действия Al_2O_3, HF, $C_{20}H_{12}$
Гепатотоксическое действие и окислительный стресс	*Apoa1*	Синергизм
	Ttr	Синергизм
Повреждение эндотелия	*Vwf*	Антагонизм
Цитотоксическое действие	*Eef1g*	Антагонизм
	Sec22b	Антагонизм
	Rassf9	Синергизм
	Tenm2	Антагонизм
	Thap4	Антагонизм

Следовательно, протеомный отклик на комбинированную экспозицию носит селективный характер: компоненты смеси взаимно усиливают метаболические нарушения в печени, но конкурируют при прямом повреждающем воздействии на клеточные структуры и сосудистую стенку. Необходимо учитывать, что данный алгоритм оценки предполагает независимое действие веществ друг от друга и мишени их воздействия не связаны между собой, следовательно, не позволяет рассмотреть и оценить одновременно весь комплекс действий (изолированно каждого компонента и их бинарных сочетаний). Результаты определяются фактической дозой и не позволяют спрогнозировать эффект реального взаимодействия при других определённых концентрациях, что вносит достаточные ограничения и снижает точность полученных результатов оценки особенности комбинированного действия смеси веществ при использовании данного подхода. Для более точных выводов и прогнозных оценок необходимо применять более глубокие методы и математические модели.

Оценка особенности комбинированного действия веществ на основе анализа параметризованных причинно-следственных связей и количественной оценки дополнительной вероятности развития негативных эффектов позволяет учесть все ограничения. Результаты оценки выявленных вариантов комбинированного действия изучаемых веществ в бинарных сочетаниях на экспрессию 8 белков, встречающихся как минимум в одной группе при изолированном действии и при комбинации веществ, представлены в таблице 4.23.

Таблица 4.23

Особенности комбинированного действия Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$ в бинарных сочетаниях по критерию изменения экспрессии белков

Наименование белка	Коэффициенты регрессии							Варианты комбинированного действия веществ в бинарных сочетаниях		
	фоновый уровень	Изолированная экспозиция			Комбинированная экспозиция					
		Al_2O_3 (x_1)	HF (x_2)	$C_{20}H_{12}$ (x_3)	Al_2O_3 и HF (x_{12})	Al_2O_3 и $C_{20}H_{12}$ (x_{13})	$C_{20}H_{12}$ и HF (x_{23})	Al_2O_3 и HF	Al_2O_3 и $C_{20}H_{12}$	$C_{20}H_{12}$ и HF
	b_0	b_1	b_2	b_3	b_1b_2	b_1b_3	b_2b_3	b_1b_2	b_1b_3	b_2b_3
Белок 9, содержащий ассоциативный домен Ras	-1,7	-37,2	-1,8	222969,8	175,6	-24227320,0	91080,9	антагонизм*	синергизм по Al_2O_3 и антагонизм по $C_{20}H_{12}$	синергизм по $C_{20}H_{12}$ и антагонизм по HF
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	0,1	-64,2	-2,1	190511,6	171,5	-22195570,0	84767,0	антагонизм*	синергизм по Al_2O_3 и антагонизм по $C_{20}H_{12}$	синергизм по $C_{20}H_{12}$ и антагонизм по HF
Фактор элонгации 1-γ										
Тенеурин-2	-0,6	-10,7	0,0	20412,7	16,7	-3268109,0	32284,8	синергизм	синергизм по Al_2O_3 и антагонизм по $C_{20}H_{12}$	синергизм по $C_{20}H_{12}$ и антагонизм по HF
Аполипопротеин А-1	0,0	30,7	0,3	2259,0	-26,2	-1106712,0	23198,8	антагонизм	антагонизм	антагонизм
Фактор фон Виллебранда	-0,4	-38,2	-1,3	266341,7	127,4	-25117310,0	107115,6	антагонизм*	синергизм по Al_2O_3 и антагонизм по $C_{20}H_{12}$	синергизм по $C_{20}H_{12}$ и антагонизм по HF
Пероксинитритизомераза THAP4	-0,8	11,1	0,3	-15778,7	-26,8	9430732,0	-72384,9	антагонизм	синергизм*	синергизм*
Транстиретин	-3,1	-52,5	0,0	69816,3	17,6	718422,0	-13298,9	синергизм	синергизм*	синергизм
Фактор элонгации 1-γ	0,1	22,5	-0,2	29142,0	6,2	-2909236,0	13778,0	синергизм	антагонизм	антагонизм*

Примечание: * – типы взаимодействий химических веществ с усилением токсического эффекта.

Данный метод рассматривает связь нескольких факторов, показывает силу статистически значимого взаимодействия между ними, предоставляет меру вероятности исхода, что позволяет не только выявлять характер комбинированного действия, но и обеспечивает переход от простой констатации к причинно-следственному моделированию.

В комбинации Al_2O_3+HF действие веществ определено преимущественно как антагонистическое (62,5 % от общего количества вариантов), при этом в большинстве случаев токсический эффект ослаблялся. В смесях Al_2O_3+$C_{20}H_{12}$ и $C_{20}H_{12}$+HF действие приобретает как синергетический, так и антагонистический характер. Количественная оценка особенностей комбинированной экспозиции трёх веществ с учётом дополнительной вероятности изменения экспрессии белков относительно изолированного действия позволила установить в 87,5 % случаев синергетический тип действия оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена (табл. 4.24).

Таблица 4.24

Количественная оценка комбинированного действия Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$ с учётом дополнительной вероятности изменения экспрессии белка

Наименование белка	Направление изменения показателя	Вероятность изменения экспрессии белка			Особенность комбинированного действия трех веществ
		при фоновом уровне	одновременно изолированное и комбинированное действие трех веществ	дополнительная вероятность при комбинированном действии трех веществ (Δp)	
Белок 9, содержащий ассоциативный домен Ras	Повышение	0,122	0,436	0,389	синергизм
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Повышение	0,336	0,511	0,354	синергизм
Фактор элонгации 1-γ					
Тенеурин-2	Повышение	0,341	0,593	0,274	синергизм
Аполипопротеин A-1	Повышение	0,590	0,673	0,047	синергизм
Фактор фон Виллебранда	Повышение	0,317	0,774	0,593	синергизм
Пероксинитритизомераза THAP4	Повышение	0,330	0,341	-0,025	антагонизм
Транстиретин	Повышение	0,025	0,099	0,077	синергизм
Фактор элонгации 1-γ	Повышение	0,583	0,581	0,007	синергизм

Рассмотрение комбинированного действия оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена с учётом клеточно-молекулярных механизмов выявило, что все установленные процессы характеризуются синергетическим эффектом изучаемых веществ на экспрессию выявленных белков (табл. 4.25).

Таблица 4.25

Особенности комбинированного действия Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$ на клеточно-молекулярные механизмы по критерию интенсивности белковых пятен

Клеточно-молекулярный процесс	Белки-мишени	Особенность комбинированного действия Al_2O_3, HF и $C_{20}H_{12}$
Гепатотоксическое действие и окислительный стресс	*Apoa1*	синергизм
	Ttr	синергизм
Повреждение эндотелия	*Vwf*	синергизм
Цитотоксическое действие	*Eef1g*	синергизм
	Sec22b	синергизм
	Rassf9	синергизм
	Tenm2	синергизм
	Thap4	антагонизм

Таким образом, применение оценки особенностей комбинированного действия веществ на основе анализа параметризованных причинно-следственных связей и количественного определения дополнительной вероятности развития негативных эффектов по критерию изменения интенсивности белковых пятен в протеомном профиле плазмы крови позволяет не только констатировать сам факт взаимодействия, но и математически описать, через какие конкретные белки и с какой вероятностью реализуются эти процессы. Это обеспечивает методологический переход от качественного наблюдения к количественному и прогностическому моделированию рисков здоровью человека в условиях аэрогенной химической экспозиции.

Ключевые клеточно-молекулярные механизмы трансформации протеомного профиля, индуцированной комбинированным действием химических веществ, выявленной по результатам натурных и экспериментальных исследований

Обобщение результатов анализа ключевых клеточно-молекулярных механизмов, выявленных в натурных и экспериментальных исследованиях, позволило выделить общие патогенетические пути совместного токсического действия изучаемых веществ, представленные в таблице 4.26.

Установлено, что трансформация протеомного профиля плазмы крови при комбинированной экспозиции реализуется через универсальные молекулярные события. При комбинированном действии алюминия, фторид-иона и бенз(а)пирена инициируются механизмы окислительного стресса, цитотоксичности (преимущественное поражение тканей лёгких, печени и мозга) и гепатотоксичности. В свою очередь, при совместном действии меди, никеля и хрома ключевые клеточно-молекулярные механизмы включают: активацию воспаления и окислительного стресса, повреждения ДНК и её репарации, цитотоксичность, проявляющуюся прежде всего в тканях мозга, лёгких и печени.

Таблица 4.26

Общие ключевые клеточно-молекулярные механизмы совместного токсического действия изучаемых веществ в натурных и экспериментальных исследованиях

Комбинированное действие			
Al_2O_3 + $C_{20}H_{12}$ + HF		**CuO + NiO + Cr_2O_3**	
Реальные условия	**Экспериментальные условия**	**Реальные условия**	**Экспериментальные условия**
Цитотоксичность в тканях печени, мозга и лёгких	Цитотоксичность в тканях печени, мозга и лёгких	Цитотоксичность в тканях печени, мозга и лёгких	Цитотоксичность в тканях печени, мозга и лёгких
Окислительный стресс	Окислительный стресс	Окислительный стресс	Окислительный стресс
Активация воспаления	–	Активация воспаления	Активация иммунного и воспалительного ответов
Гепатотоксичность	Гепатотоксичность	Повреждение ДНК и нарушение её репарации	Повреждение ДНК и нарушение её репарации
–	Повреждение эндотелия	Повреждение и стресс ЭПР	–
–	–	Нарушение транскрипции и сплайсинга РНК	–

Основными общими путями повреждения, вне зависимости от конкретного состава изучаемых смесей, являются три фундаментальных патологических процесса, представленные схематически на рисунке 4.10.

Рис. 4.10. Общие клеточно-молекулярные механизмы повреждающего комбинированного действия оксида алюминия, фторид-иона, бенз(а)пирена и оксидов меди, никеля и хрома

К ним относятся:

– окислительный стресс – универсальный механизм, запускаемый разными химическими веществами и ведущий к деструкции практически всех типов биомолекул;

– активация воспаления – системный ответ организма на повреждения, индуцированные токсикантами;

– цитотоксичность, инициирующая функциональные нарушения органов и систем, проявляющаяся в первую очередь в критических органах-мишенях.

Таким образом, ключевыми клеточно-молекулярными патогенетическими механизмами токсического действия химических веществ, обоснованными по результатам исследования эффектов комбинированной экспозиции смесей Al_2O_3, $C_{20}H_{12}$, HF и CuO, NiO, Cr_2O_3 в реальных и экспериментальных условиях, являются окислительный стресс, воспаление и цитотоксичность. Реализация данных механизмов на клеточно-тканевом уровне позволяет с высокой степенью достоверности прогнозировать развитие негативных эффектов и заболеваний на органно-системном уровне, формируя научно-методическую базу для ранней диагностики заболеваний в условиях экспозиции изучаемых смесей.

Выявление тождественных белков и пептидов в протеомном профиле плазмы крови обследованных детей и экспериментальных животных

Аэрогенная экспозиция оксидом алюминия, фторидом водорода, бенз(а)пиреном. Сравнительный анализ выявленных белков и кодирующих их генов, установленных в экспериментальных и натурных исследованиях при аэрогенной экспозиции оксидом алюминия, фторидом водорода и бенз(а)пиреном, позволил обосновать белки аполипопротеин А-1 и транстиретин в качестве тождественных. Квантификация белковых пятен, в состав которых входят данные белки, выявила статистически значимые различия между показателями детей

группы наблюдения и группы сравнения, что коррелирует с результатами, полученными на биологических моделях (табл. 4.27). Выявление данных белков у обеих групп объектов обосновывает их высокую диагностическую ценность как индикаторов метаболических нарушений и окислительного стресса при одновременном воздействии указанных химических факторов.

Изменение экспрессии данных белков доказанно связано с повышением концентраций Al_2O_3, $C_{20}H_{12}$, HF в биосредах как при экспериментальной изолированной и комбинированной экспозиции (гены *Apoa1* и *Ttr*), так и при реальной комбинированной экспозиции (гены *APOA1* и *TTR*). Экспрессия белка аполипопротеина А-1 увеличивается в 2,2-2,7 раза при экспериментальной изолированной экспозиции (R^2 = 0,56–0,67; p = 0,003–0,012), в 1,6 раза – при экспериментальной комбинированной экспозиции (R^2 = 0,88; p = 0,002) и в 2,0 раза – при реальной аэрогенной экспозиции (R^2 = 0,27; p = 0,019); транстиретина – увеличивается в 1,3-1,6 раза при экспериментальной изолированной экспозиции (R^2 = 0,44–0,53; p = 0,017–0,037), в 2,3 раза – при экспериментальной комбинированной экспозиции (R^2 = 0,85; p = 0,003) и в 1,7 раза – при реальной аэрогенной экспозиции (R^2 = 0,25; p = 0,028).

Таблица 4.27

Статистически значимые белки, доказано связанные с воздействием веществ при экспериментальной изолированной и комбинированной экспозиции и реальной комбинированной экспозиции оксидом алюминия, фторидом водорода и бенз(а)пиреном

Экспериментальные исследования						
Наименование белка	**Ген крысы**	**Среднегрупповая интенсивность белкового пятна (M ± SD), int**				
		Опытная группа				**Контрольная группа**
		Изолированная экспозиция			**Комбинированная экспозиция**	**Без экспозиции**
		Al_2O_3	**HF**	**$C_{20}H_{12}$**	**Al_2O_3 + $C_{20}H_{12}$ + HF**	
Аполипопротеин А-1	*Apoa1*	3925±283	3086±96	3215±39	2227±333	1436±184
Транстиретин	*Ttr*	2671±413	2808±605	2341±84	4097±295	1785±239

Натурные исследования			
Наименование белка	**Ген человека**	**Среднегрупповая интенсивность белкового пятна (M ± SD), int**	
		Группа наблюдения	**Группа сравнения**
Аполипопротеин А-1	*APOA1*	2435±148	1248±14
Транстиретин	*TTR*	3967±189	2344±300

На основе полученных результатов исследования влияния Al_2O_3, $C_{20}H_{12}$, HF на экспрессированные белки и кодирующие их гены построена биоинформационная матрица молекулярно-клеточных событий, позволившая спрогнозировать метаболические нарушения в тканях нервной, сердечно-сосудистой и гепатобилиарной систем (рис. 4.11, 4.12).

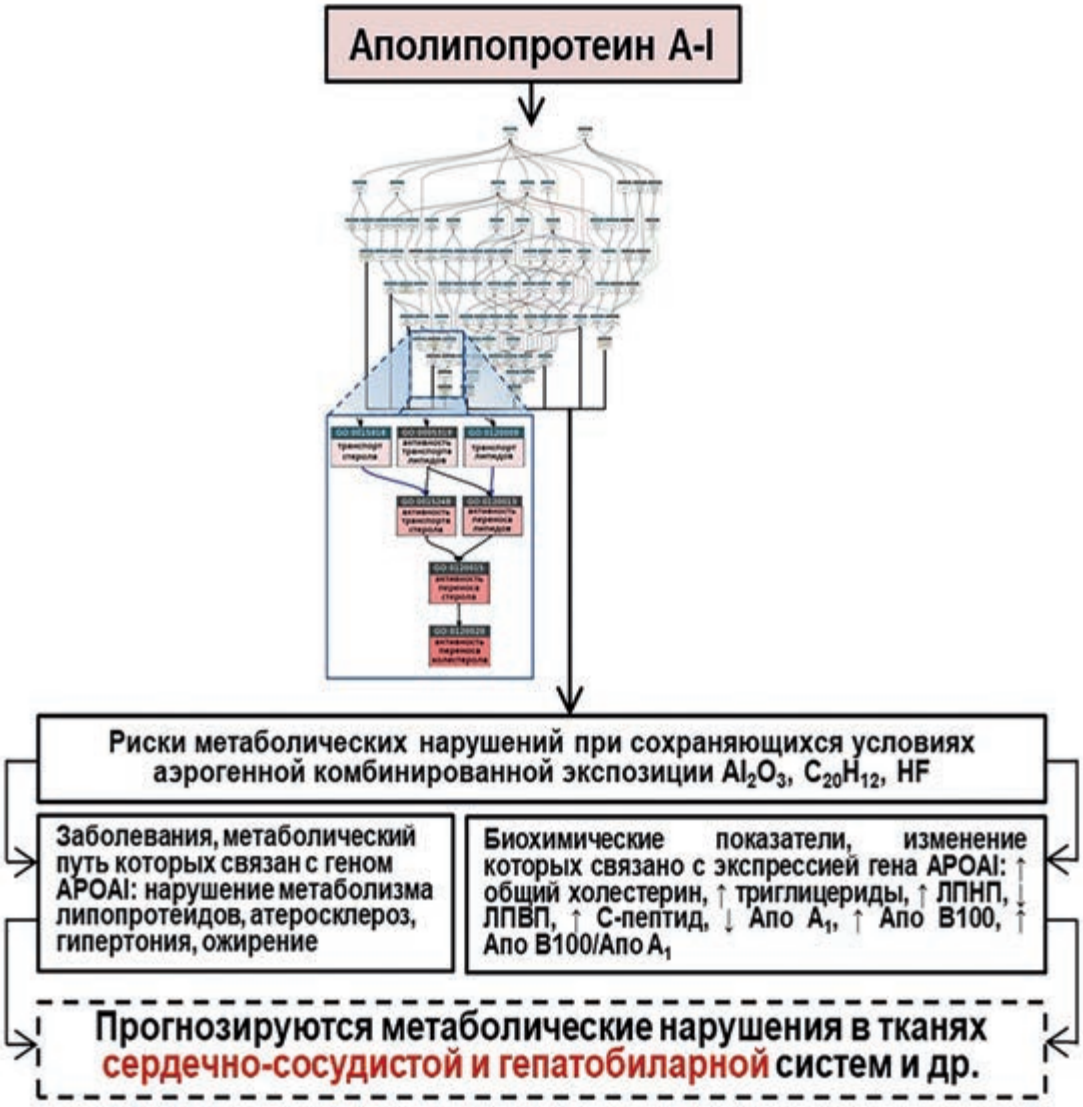


Рис. 4.11. Биоинформационная матрица для распознавания последовательности молекулярно-клеточных событий и негативных эффектов, связанных с экспрессией белка аполипоротеин А-1, при комбинированном воздействии оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена с атмосферным воздухом

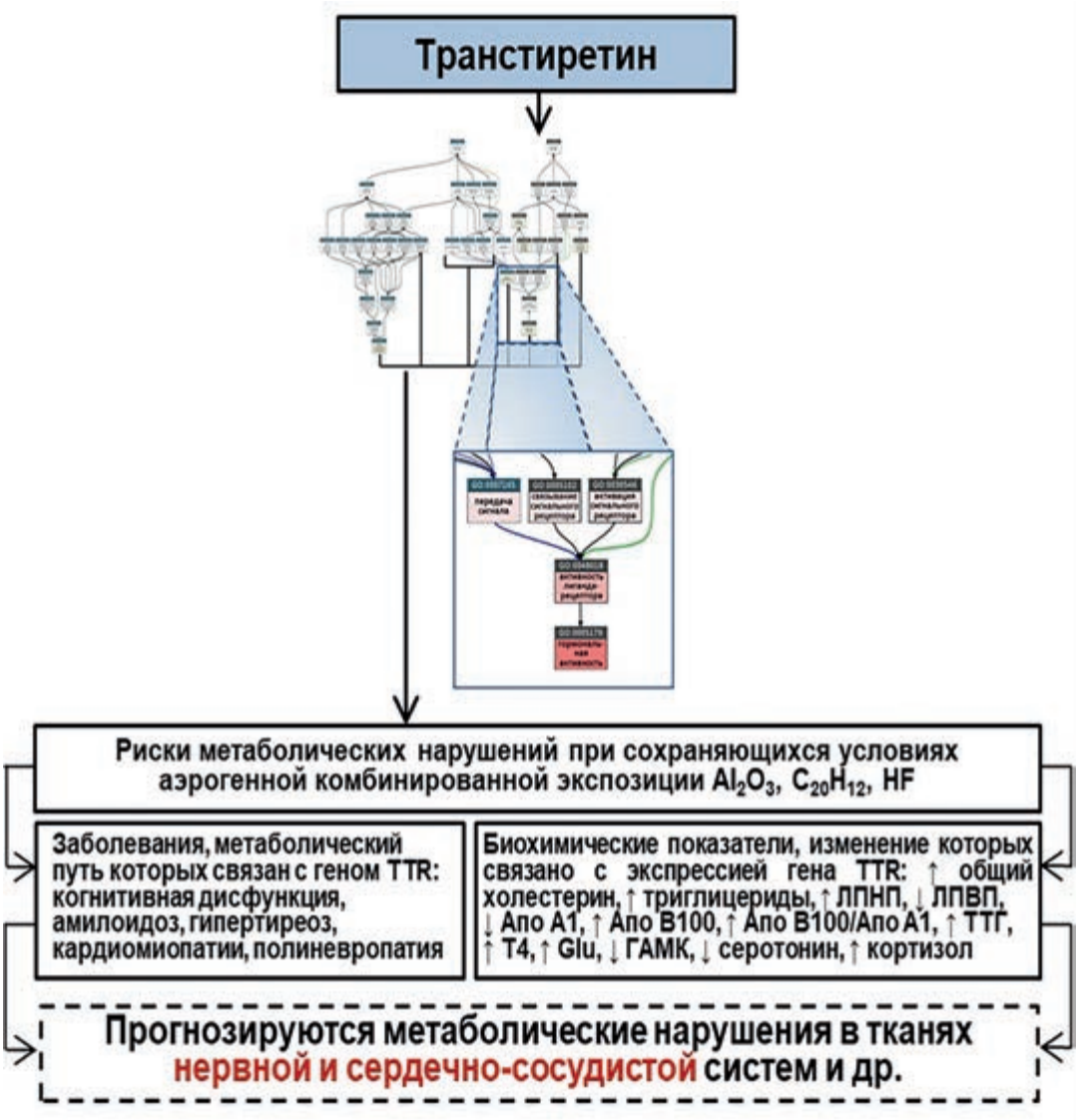


Рис. 4.12. Биоинформационная матрица для распознавания последовательности молекулярно-клеточных событий и негативных эффектов, связанных с экспрессией белка транстиретин, при комбинированном воздействии оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена с атмосферным воздухом

Таким образом, обобщение результатов экспериментальных и натурных исследований позволило выделить ключевые белки-мишени – аполипопротеин A-I, транстиретин. При длительном аэрогенном комбинированном действии оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена изменяется их экспрессия. Выявленные негативные эффекты, такие как окислительные процессы,

дисметаболизм липидов и воспаление, патогенетически связаны с риском развития широкого спектра патологий. Изменения аполипопротеина A-I (ген *APOA1*) ассоциированы с формированием атеросклероза, гипертонии и ожирения. Трансформация транстиретина (ген *TTR*) указывает на риски когнитивной дисфункции, амилоидоза и гипертиреоза. Одновременное взаимодействие этих факторов и белков-мишеней лежит в основе нарушения метаболизма липопротеидов и запуска нейродегенеративных процессов, что подтверждает системный характер повреждающего действия изученных химических смесей.

Аэрогенная экспозиция оксидами меди, никеля и хрома. Сравнительный анализ выявленных белков и кодирующих их экспрессию генов, установленных в экспериментальных и натурных исследованиях при действии оксидов меди, никеля и хрома, позволил обосновать линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly, в качестве тождественного. Квантификация белковых пятен, в состав которых входит данный белок, выявила статистически значимые различия между группой наблюдения (опытной) и сравнения (контроля). Изменение интенсивности данного белка доказанно связано одновременно с концентрацией меди, никеля и хрома в крови как при экспериментальной изолированной и комбинированной экспозиции (ген крысы *Clip4*), так и при реальной комбинированной экспозиции (ген человека *CLIP4*). Экспрессия данного белка (по критерию интенсивности) увеличивается в 5,1-23,9 раза при экспериментальной экспозиции (R^2 = 0,66–0,95; p = 0,000–0,001) и в 7,0 раза при реальной аэрогенной экспозиции (R^2 = 0,73; p = 0,0001) оксидами меди, никеля и хрома (табл. 4.28).

Таблица 4.28

Статистически значимые белки, доказано связанные с фактором экспериментальной изолированной и комбинированной экспозиции и реальной комбинированной экспозиции оксидов меди, никеля и хрома

<table>
<tr><th colspan="7">Экспериментальные исследования</th></tr>
<tr><th rowspan="4">Наименование белка</th><th rowspan="4">Ген крысы</th><th colspan="5">Среднегрупповая интенсивность белкового пятна (M ± SD), int</th></tr>
<tr><th colspan="4">Опытная группа</th><th rowspan="3">Контрольная группа</th></tr>
<tr><th colspan="3">Изолированная экспозиция</th><th>Комбинированная экспозиция</th></tr>
<tr><th>CuO</th><th>NiO</th><th>Cr_2O_3</th><th>CuO + NiO + Cr_2O_3</th><th>Без экспозиции</th></tr>
<tr><td>Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly</td><td>Clip4</td><td>779±53</td><td>1972±197</td><td>3656±178</td><td>2824±313</td><td>153±15</td></tr>
<tr><th colspan="7">Натурные исследования</th></tr>
<tr><th rowspan="2">Наименование белка</th><th rowspan="2">Ген человека</th><th colspan="5">Среднегрупповая интенсивность белкового пятна (M ± SD), int</th></tr>
<tr><th colspan="3">Группа наблюдения</th><th colspan="2">Группы сравнения</th></tr>
<tr><td>Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly</td><td>CLIP4</td><td colspan="3">1750±74</td><td colspan="2">249±71</td></tr>
</table>

Столь значительная кратность увеличения экспрессии и высокие коэффициенты детерминации позволяют обосновать линкерный белок 4 как высокочувствительный и специфичный индикатор комбинированного воздействия соединений меди, никеля и хрома, отражающий глубокую трансформацию протеомного профиля. Полученные результаты позволили предположить, что повышенная экспрессия линкерного белка 4, содержащего домен CAP-Gly, в условиях длительной аэрогенной комбинированной экспозиции оксидами меди, никеля и хрома может приводить к развитию негативных эффектов в виде изменений когнитивных функций, нефротических нарушений, воспалительных и дистрофических процессов в слизистой оболочке желудка (рис. 4.13).

Рис. 4.13. Биоинформационная матрица для распознавания последовательности молекулярно-клеточных событий и негативных эффектов, связанных с экспрессией линкерного белка 4, содержащего домен CAP-Gly, при комбинированном воздействии оксидов меди, никеля и хрома с атмосферным воздухом

Специфическим белком-мишенью при длительном аэрогенном комбинированном действии оксидов меди, никеля и хрома является линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly (ген *CLIP4*). Прогнозируемыми негативными эффектами, ассоциированными с экспрессией маркерного белка, являются изменения со стороны нервной системы (когнитивная дисфункция), почек (нефротические нарушения и повреждение паренхимы почек), желудка (воспалительно-дистрофические изменения слизистой оболочки).

Результаты исследования биохимических показателей негативных эффектов у детей и взрослых, ассоциированных с клеточно-молекулярными механизмами токсического действия химических веществ и установленными белками-мишенями

Аэрогенная экспозиция оксидом алюминия, фторидом водорода, бенз(а)пиреном

Результаты комплексного исследования позволяют верифицировать установленные клеточно-молекулярные механизмы через конкретные биохимические сдвиги у обследуемых групп населения. Трансформация протеомного профиля, вызванная сочетанным воздействием химических факторов, находит свое отражение в изменении уровня специфических белков-мишеней и ассоциированных с ними патологических процессов.

Результаты сопоставительного анализа биохимических показателей негативных эффектов у детей и взрослых, проживающих в условиях длительной аэрогенной экспозиции оксидом алюминия, фторидом водорода и бенз(а)пиреном, подтверждают реализацию ранее обоснованных клеточно-молекулярных механизмов (цитотоксичность, гепатотоксичность, окислительный стресс), представлены на рисунке 4.14.

Характеристика изменений биохимических показателей негативных эффектов на основе обоснованных клеточно-молекулярных механизмов токсического действия химических веществ

Характеристика биохимических сдвигов, выявленных в ходе исследования, позволяет проследить четкую иерархию от молекулярного повреждения до системного ответа организма. В основе этих изменений лежат три ключевых патогенетических пути.

Цитотоксическое действие и электролитный дисбаланс. У детей группы наблюдения зафиксировано статистически значимое снижение уровня натрия в сыворотке крови ($p = 0{,}006$), при этом дефицит электролита встречается в 1,3 раза чаще (66,7 %), чем в контроле. У взрослых негативный эффект проявляется в 1,4 раза более частой регистрации гипокалиемии (43,9 %, $p = 0{,}008$), что подтверждает нарушение мембранной проницаемости и клеточного гомеостаза под действием токсикантов.

Гепатотоксическое действие. У детей группы наблюдения относительно аналогичных показателей группы сравнения установлена активация цитолитических процессов, проявляющаяся в статистически значимом росте активности АЛАТ и значимом (в 1,8 раза) повышении «печеночных» изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-5 в сыворотке крови (p = 0,007–0,047). Нарушение моторно-эвакуационной функции желчевыводящих путей подтверждено снижением уровня общего билирубина в 1,2 раза (p = 0,012). Дисметаболизм липидов характеризуется ростом уровня триглицеридов (p = 0,008) на фоне снижения защитных ЛПВП (p = 0,025) в сыворотке крови, что согласуется с ранее выявленной трансформацией экспрессии аполипопротеина A-I.

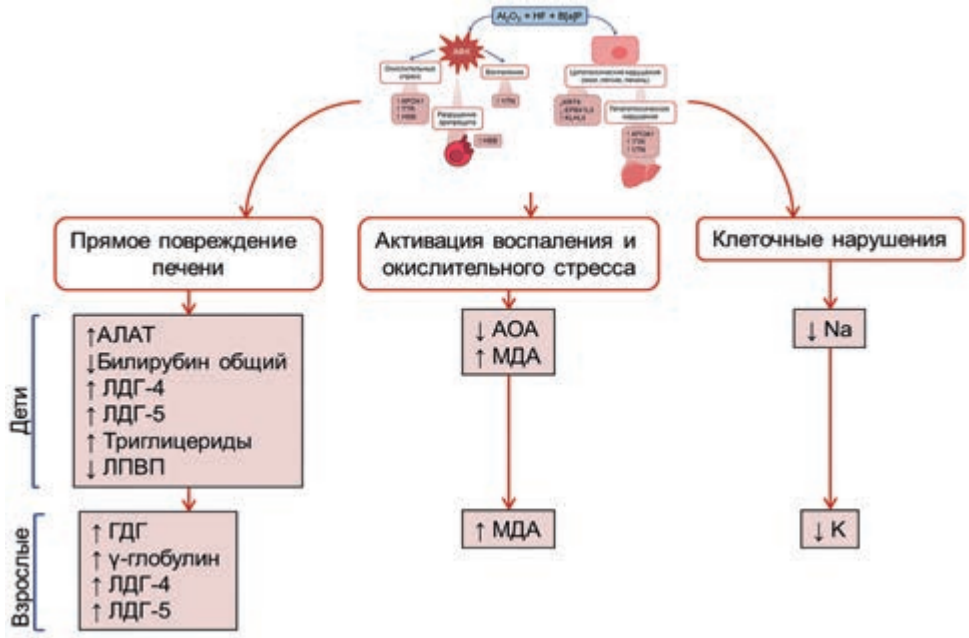


Рис. 4.14. Биохимические показатели негативных эффектов у детей и взрослых, ассоциированные с клеточно-молекулярными механизмами токсического действия алюминия, фтора, бенз(а)пирена и установленными белками-мишенями

У взрослых группы наблюдения относительно аналогичных показателей сравнения верифицировано глубокое поражение паренхимы печени, выражающееся в повышении активности специфического фермента GLDH в 1,4 раза (p = 0,045) (отклонения выявлены у 75,6 % обследованных) и резком росте изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-5 (в 1,8 и 2,9 раза соответственно, p = 0,0001–0,003). Сопутствующая гипергаммаглобулинемия (p = 0,013) указывает на активацию хронического воспалительного процесса.

Активация окислительного стресса. Исследование показателей оксидантно-антиоксидантных процессов позволило выявить выраженный дисбаланс в оксидантно-антиоксидантной системе, свидетельствующий об активации

окислительного стресса. У детей группы наблюдения относительно показателей сравнения установлено статистически значимое снижение антиоксидантной активности (уровня АОА) в 1,2 раза (p = 0,0001), при этом дефицит защитной системы встречается у 76,8 % обследованных, что в 2,2 раза превышает показатель группы сравнения (p = 0,0001). Одновременно наблюдается повышение уровня МДА в плазме крови в 1,2 раза (p = 0,0001); доля проб с повышенным значением данного маркера составила 50,8 % против 27,2 % в контрольной группе (кратность превышения – 1,8 раза, p = 0,0001). Аналогичная тенденция прослеживается и у взрослых группы наблюдения: зафиксировано статистически значимое усиление процессов окисления, выраженное в росте уровней МДА и гидроперекисей липидов в плазме крови до 1,2 раза (p = 0,002–0,008).

Характеристика причинно-следственных связей изменений экспрессии белков-мишеней и биохимических показателей негативных эффектов на основе реализации каскадного моделирования

Моделирование зависимостей изменений биохимических показателей с увеличением экспрессии белков (по критерию интенсивности белкового пятна) позволило выявить и параметризировать достоверные, адекватные и биологически правдоподобные модели. Установлено, что рост экспрессии аполипопротеина А-1 инициирует нарушения клеточно-молекулярных взаимодействий, провоцируя негативные эффекты со стороны обмена веществ и системы кровообращения. Это проявляется повышением уровней общего холестерина, С-пептида, МДА и гидроперекисей липидов, а также снижением концентрации калия и натрия в сыворотке крови (R^2 = 0,32–0,90; p = 0,0001–0,018).

Параллельно выявлено, что увеличение экспрессии транстиретина статистически значимо коррелирует с патологическими процессами в ряде систем: в обмене веществ (рост холестерина и С-пептида; R^2 = 0,69–0,97; p = 0,0001–0,016); эндокринной системе (повышение ТТГ в плазме крови и йода в моче; R^2 = 0,58–0,67; p = 0,0001–0,003); нервной системе (рост нейронспецифической энолазы в плазме крови; R^2 = 0,89; p = 0,003) и системе кровообращения (повышение холестерина общего при дефиците калия и натрия в сыворотке крови; R^2 = 0,43–0,97; p = 0,0001–0,013).

Таким образом, обобщение результатов исследования биохимических маркеров у детей и взрослых, проживающих в условиях хронического комбинированного аэрогенного воздействия оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена, позволило выделить комплекс показателей, подтверждающих ключевые механизмы их токсического действия (цитотоксичность, гепатотоксичность, окислительный стресс). Установлено, что негативные эффекты инициируются в детском возрасте и прогрессируют в последующие периоды.

На основе выявленных белков-мишеней аполипопротеина А-1 (ген APOA1) и транстиретина (ген TTR) определены биомаркеры прогнозируемых патологий: повышение уровней С-пептида, МДА, гидроперекисей липидов, общего холестерина, ТТГ и нейронспецифической энолазы на фоне снижения калия и натрия. При сохраняющейся экспозиции указанными поллютантами данные изменения проявляются в форме атеросклероза, гипертонии, ожирения, амилоидоза, ги-

пертиреоза, нарушений метаболизма липопротеидов и нейродегенеративных процессов. Полученные фактические данные полностью подтверждают прогнозные оценки, выполненные на этапе биоинформационного анализа.

Аэрогенная экспозиция оксидами меди, никеля и хрома

Результаты сопоставительного анализа биохимических показателей негативных эффектов у детей и взрослых (между группами наблюдения и сравнения), проживающих в условиях длительной аэрогенной экспозиции оксидами никеля, меди и хрома, позволили обосновать клеточно-молекулярные механизмы их токсического действия. Ключевым процессом является активация окислительного стресса, проявляющаяся в выраженном дисбалансе оксидантно-антиоксидантной системы (рис. 4.15). Установлено статистически значимое снижение антиоксидантной защиты на фоне роста концентрации продуктов перекисного окисления липидов, что подтверждает системный характер повреждающего воздействия изучаемых металлов на клеточном уровне.

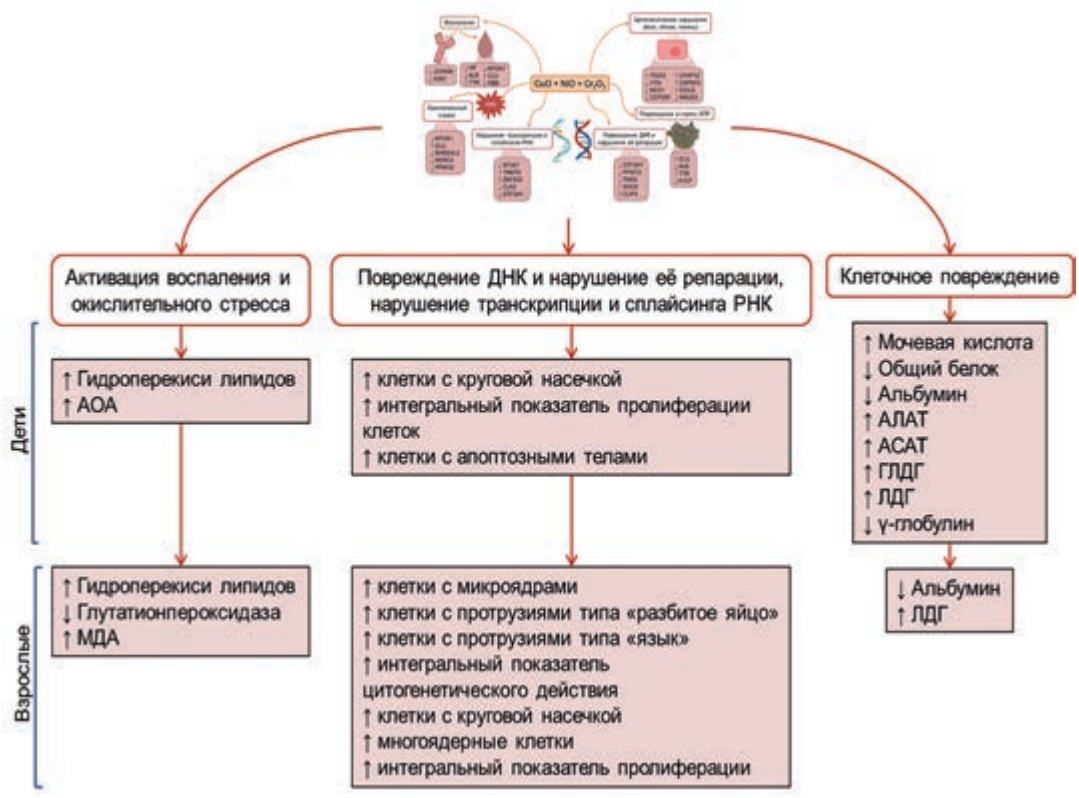


Рис. 4.15. Биохимические показатели негативных эффектов у детей и взрослых, ассоциированные с клеточно-молекулярными механизмами токсического действия оксидов меди, никеля, хрома и установленными белками-мишенями

Характеристика изменений биохимических показателей негативных эффектов на основе обоснованных клеточно-молекулярных механизмов токсического действия химических веществ

Активация окислительного стресса. Анализ показателей окислительных процессов подтвердил активацию окислительного стресса у обследованных лиц. У детей группы наблюдения уровень гидроперекисей липидов в сыворотке крови в 1,2 раза превысил показатели группы сравнения (p = 0,003), при этом частота регистрации повышенных значений составила 13,6 % случаев при отсутствии таковых у детей в группе сравнения (p = 0,048). Выявлено статистически значимое повышение среднего уровня АОА в плазме крови, рост частоты регистрации его высоких значений до 22,5 % (p = 0,0001) при 18,0 % случаев в группе сравнения (кратность различий 1,3 раза, p = 0,009), что может свидетельствовать о напряжении компенсаторных механизмов.

У взрослых группы наблюдения дисбаланс выражен сильнее: уровни гидроперекисей липидов и МДА превысили показатели группы сравнения до 1,4 раза (p = 0,001–0,002). Повышенное содержание МДА зафиксировано в 53,5 % проб, что в 1,3 раза чаще, чем в контроле (p = 0,001). На фоне интенсификации окисления установлено статистически значимое снижение уровня глутатионпероксидазы в 1,2 раза (p = 0,002), что указывает на истощение антиоксидантной защиты при хроническом воздействии поллютантов.

Цитотоксическое действие. У детей группы наблюдения выявлено статистически значимое повышение уровня мочевой кислоты в сыворотке крови относительно группы сравнения (p = 0,0001), при этом повышенные значения зафиксированы в 3,7 % случаев (в группе сравнения отсутствуют (p = 0,010)). На фоне снижения уровней общего белка и альбумина (p = 0,001–0,005) установлено повышение активности АЛАТ и АСАТ до 1,2 раза (p = 0,0001–0,001). Частота регистрации избыточной активности АСАТ составила 6,5 %, что в 1,9 раза выше контрольных значений (p = 0,024). Обращает на себя внимание повышенный в 1,2 раза уровень ГДГ и ЛДГ в сыворотке крови (p = 0,002-0,036) и статистически значимое снижение уровня γ-глобулина в сыворотке крови детей группы наблюдения относительно аналогичного показателя у детей группы сравнения (p = 0,044). Данные изменения указывают на развитие цитолитических процессов и возможное угнетение белково-синтетической функции печени.

У взрослых группы наблюдения относительно группы сравнения снижен уровень альбумина в сыворотке крови (p = 0,0001), при этом дефицит показателя выявлен в 6,9 % случаев (в группе сравнения не обнаружен, p = 0,001). Обращает на себя внимание статистически значимое повышение активности ЛДГ в 1,2 раза в сыворотке крови относительно аналогичного показателя в группе сравнения (p = 0,010). Данные изменения, в сочетании с результатами детской группы, подтверждают системный характер цитолитических нарушений и снижение белково-синтетической функции печени при воздействии изучаемых веществ.

Повреждение ДНК и нарушение её репарации. Оценка цитогенетической и пролиферативной активности выявила признаки повреждения ДНК и нарушения её репарации. У детей группы наблюдения регистрируется статистически

значимое повышение частоты клеток с круговой насечкой, а также рост интегрального показателя пролиферации клеток буккальных эпителиоцитов относительно аналогичных показателей у детей в группе сравнения (p = 0,002–0,035). Обращает на себя внимание статистически значимое повышение частоты клеток с апоптозными телами у детей группы наблюдения относительно данного показателя в группе сравнения (p = 0,0001).

У взрослых группы наблюдения установлено статистически значимое повышение в 1,4 раза частоты клеток с микроядрами, протрузиями типа «разбитое яйцо», «язык», а также интегрального показателя цитогенетического действия относительно аналогичных показателей группы сравнения 2 (p = 0,0001–0,047). Обращает на себя внимание повышение в 1,6–2,0 раза частоты клеток с круговой насечкой и многоядерных клеток соответственно, а также рост в 1,7 раза интегрального показателя пролиферации в буккальных эпителиоцитах относительно данных показателей в группе сравнения (p = 0,003–0,028), что свидетельствует об инициации механизмов программируемой клеточной гибели в ответ на генотоксическое воздействие.

Характеристика причинно-следственных связей изменений экспрессии белков-мишеней и биохимических показателей негативных эффектов на основе реализации каскадного моделирования

Моделирование зависимостей изменений биохимических показателей с увеличением экспрессии линкерного белка 4, содержащего домен CAP-Gly (ген CLIP4), позволило выявить и параметризировать 10 достоверных, адекватных и биологически правдоподобных моделей. Установлено, что увеличение экспрессии линкерного белка CLIP4, содержащего домен CAP-Gly, инициирует нарушение молекулярно-клеточных событий, провоцирующее развитие негативных эффектов (по критерию отклонения от физиологической нормы индикаторных лабораторных показателей) в нескольких системах:

– мочевыделительная система – повышение уровня МДА, АОА, холестерина общего и ЛПНП (R^2 = 0,47–0,87; p = 0,000–0,017);

– органы пищеварения – повышение уровня GLDH, холестерина общего, МДА, АОА (R^2 = 0,47–0,87; p = 0,000–0,017);

– нервная система – повышение уровня МДА и АОА (R^2 = 0,47–0,87; p = 0,000–0,017).

Следовательно, экспрессия CLIP4 выступает значимым фактором развития метаболических и цитолитических нарушений.

Таким образом, обобщение результатов исследования биохимических маркеров у детей и взрослых позволило выделить комплекс показателей, подтверждающих ключевые клеточно-молекулярные механизмы токсического действия меди, никеля и хрома (активация окислительного стресса, повреждение ДНК и её репарации, цитотоксичность). Установлено, что развитие негативных эффектов инициируется в детском возрасте и прогрессирует в последующие возрастные периоды. В качестве биомаркеров прогнозируемых негативных эффектов – нефротических нарушений, воспалительно-дистрофических изменений слизистой желудка, когнитивных нарушений, ассоциированных с

повышенной экспрессией линкерного белка 4, содержащего домен CAP-Gly (ген CLIP4), определены повышенные уровни МДА, АОА, GLDH (ГДГ), общего холестерина и ЛПНП. Полученные фактические данные при комбинированной аэрогенной экспозиции оксидами меди, никеля и хрома полностью подтверждают прогнозные оценки, выполненные на этапе биоинформационного анализа.

Сопоставительный анализ прогнозируемых негативных эффектов, установленных на основе изменения протеомного профиля плазмы крови при воздействии химических веществ, с заболеваемостью разных возрастных категорий населения

Аэрогенная экспозиция оксидом алюминия, фторидом водорода, бенз(а)пиреном

Обобщение результатов биоинформационного анализа показало, что изменение экспрессии аполипопротеина А-1 и транстиретина ассоциировано с развитием негативных эффектов, характеризующих нарушения сердечно-сосудистой (атеросклероз, гипертония), нервной (когнитивные нарушения), гепатобилиарной (ожирение), эндокринной (гипертиреоз) систем, а также сопряженных с ними метаболических расстройств (нарушение метаболизма липидного и белкового обменов).

Сравнительный анализ фактического состояния здоровья населения территории наблюдения выявил высокую сопоставимость прогнозируемых с фактически установленными заболеваниями. На групповом уровне подтверждены поражения критических органов и систем: эндокринной (код по МКБ-10: E00-E90), нервной (G00-G99), системы кровообращения (I00-I99) и органов пищеварения (K00-K93). Установлено, что в условиях длительного аэрогенного воздействия оксида алюминия, фторида водорода и бенз(а)пирена уровень и спектр болезней эндокринной и нервной систем закономерно нарастает с возрастом в 1,1–1,4 раза (p = 0,000–0,005) (табл. 4.29).

Таблица 4.29

Фактическая заболеваемость разных возрастных категорий населения при углублённом обследовании

Класс болезней	Частота регистрации заболеваний в группе, %		Статистическая значимость различий, $p \leq 0,05$
	дети 3–7 лет (n=268)	взрослые (n=137)	
E00-E90 Болезни эндокринной системы	63,0	75,4	0,0001
G00-G99 Болезни нервной системы	46,9	63,4	0,0001
I00-I99 Болезни системы кровообращения	45,2	45,4	0,005
K00-K93 Болезни органов пищеварения	88,6	53,9	0,0001

Сравнительный анализ первичной заболеваемости (по данным государственного статистического наблюдения) на популяционном уровне подтвердил сопоставимость прогнозируемых негативных эффектов с реально регистрируемой патологией. У населения, проживающего в условиях длительного аэрогенного воздействия изучаемых химических веществ, зафиксировано преобладание болезней по ключевым классам: эндокринной системы, расстройств питания и нарушения обмена веществ (E00–E90), нервной системы (G00–G99), системы кровообращения (I00–I99) и органов пищеварения (K00–K93). Характерной особенностью является закономерное возрастание уровня и расширение спектра данных заболеваний по мере увеличения возраста, что свидетельствует о кумулятивном характере токсического влияния поллютантов (табл. 4.30).

Таблица 4.30

Первичная заболеваемость населения за 2015-2020 гг.

Класс болезней по МКБ–10	Первичная заболеваемость в среднем за 2015-2020 гг., сл. на 1000 человек					
	Территория наблюдения			Территория сравнения		
	дети до 14 лет	дети 15–17 лет	взрослые	дети до 14 лет	дети 15–17 лет	взрослые
1	2	3	4	5	6	7
E00-E90 Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ	25,7*	29,4*	12,4	19,8	15,9	13,8
G00-G99 Болезни нервной системы	73,8*	43,7*	11,1*	21,7	21,1	5,3
I00-I99 Болезни системы кровообращения	36,2*	48,6*	41,2*	9,4	19,9	19,7
K00-K93 Болезни органов пищеварения	101,6*	67,5*	31,9*	51,3	26,1	24,4

Примечание: * – статистическая значимость различий по среднему, $p \leq 0,05$

Об этом свидетельствует регистрируемый уровень заболеваемости населения территории наблюдения, статистически значимо превышающий соответствующие показатели у населения территории сравнения:

– у детей до 14 лет – в 1,3–3,9 раза (по классу болезней эндокринной, нервной, сердечно-сосудистой систем, органов пищеварения);

– у подростков 15-17 лет – в 1,8–2,4 раза (по классу болезней эндокринной, нервной, сердечно-сосудистой систем, органов пищеварения);

– у взрослых от 18 лет и старше – в 1,3–2,1 раза (по классу болезней нервной и сердечно-сосудистой систем, органов пищеварения).

Таким образом, обобщение результатов сопоставительного анализа фактической (групповой уровень) и первичной (популяционный уровень) заболеваемости подтверждает прогнозные оценки увеличения вероятности развития заболеваний системы кровообращения, эндокринной, нервной, пищеварительной систем. Установлено, что данные заболевания ассоциированы с увеличением экспрессии белков аполипопротеин А-1 и транстиретин. При этом риск их возникновения закономерно нарастает с возрастом при сохраняющихся условиях длительной аэрогенной комбинированной экспозиции оксидом алюминия, фторидом водорода и бенз(а)пиреном.

Аэрогенная экспозиция оксидами меди, никеля и хрома

Анализ данных биоинформационного анализа подтвердил, что изменение синтеза линкерного белка 4, содержащего домен CAP-Gly (ген CLIP4), ассоциировано с развитием заболеваний, характеризующих нарушения мочевыделительной (нефротические нарушения) и нервной (нарушения когнитивных функций) систем, органов пищеварения (воспалительные и дистрофические изменения слизистой оболочки желудка).

Сравнительный анализ фактического состояния здоровья населения при углублённом обследовании (групповой уровень) выявил высокую сопоставимость прогнозных оценок с реальной заболеваемостью. Установлено, что в условиях длительного аэрогенного воздействия оксидов меди, никеля и хрома наблюдается существенное нарастание уровня и расширение спектра патологий с возрастом – показатели увеличиваются в 1,4–8,2 раза (p = 0,000–0,001) (табл. 4.31).

Таблица 4.31

Фактическая заболеваемость разных возрастных категорий населения при углублённом обследовании

Класс болезней	Частота регистрации заболеваний в группе, %		Статистическая значимость различий, $p \leq 0,05$
	Дети 3–6 лет (n=368)	Взрослые 22–48 лет (n=233)	
N00-N99 Болезни мочеполовой системы	1,36	11,2	0,0001
K00-K92 Болезни органов пищеварения	55,9	79,4	0,0001
G00-G98 Болезни нервной системы	34,8	67,8	0,0001

Сравнительный анализ показателей первичной заболеваемости на популяционном уровне (по данным государственного статистического наблюдения) подтвердил сопоставимость прогнозируемых эффектов с реально регистрируемой патологией. У населения, проживающего в условиях длительной аэрогенной экспозиции оксидами меди, никеля и хрома, зафиксировано преобладание болезней по ключевым классам: мочеполовой системы (N00–N99), органов пищеварения (K00–K92) и нервной системы (G00–G98). Характерной особенностью является закономерное возрастание уровня и расширение

спектра данных заболеваний по мере увеличения возраста, что подтверждает кумулятивный характер токсического воздействия металлов (табл. 4.32).

Таблица 4.32

Первичная заболеваемость населения за 2014-2018 гг.

Класс болезней, МКБ-10	Первичная заболеваемость, в среднем за 2014-2018 гг., сл. на 1000 человек					
	Территория наблюдения			Территория сравнения		
	дети до 14 лет	дети 15-17 лет	взрослые	дети до 14 лет	дети 15-17 лет	взрослые, 22-48 лет
N00-N99 Болезни мочеполовой системы	45,05*	67,48*	216,37	6,00	16,18	17,75
K00-K92 Болезни органов пищеварения	65,45	38,48*	190,02*	15,16	13,07	21,08
G00-G98 Болезни нервной системы	43,11*	24,61	25,11*	17,56	16,19	125,89

Примечание: – * статистическая значимость различий по среднему, $p \leq 0,05$

Об этом свидетельствует регистрируемый уровень заболеваемости населения территории наблюдения, статистически значимо превышающий соответствующие показатели у населения территории сравнения:

– у детей до 14 лет – в 2,5–7,5 раза (по классу болезней мочеполовой и нервной систем);

– у подростков 15-17 лет – в 2,9–4,2 раза (по классу болезней мочеполовой системы и органов пищеварения);

– у взрослых от 18 лет и старше – в 1,6–3,1 раза (по классу болезней мочеполовой и нервной систем, органов пищеварения).

Таким образом, обобщение результатов сопоставительного анализа фактической (групповой уровень) и первичной (популяционный уровень) заболеваемости подтверждают прогнозные оценки увеличения вероятности развития заболеваний мочеполовой, пищеварительной и нервной систем, ассоциированных с увеличением экспрессии линкерного белка 4, содержащего домен CAP-Gly, с возрастом при длительной аэрогенной комбинированной экспозиции оксидами меди, никеля и хрома.

Оцифрованная версия итерационного прогноза риска развития заболеваний, ассоциированных с трансформацией белкового профиля, при комбинированной экспозиции химических веществ

Результаты итерационного прогноза риска развития негативных эффектов (заболеваний) позволили обосновать молекулярные маркеры (белки-мишени) и клеточно-молекулярные механизмы вовлечения трансформированного протеомного профиля в модификацию патогенеза неинфекционных заболеваний, ассоциированных с комбинированным воздействием химических веществ, представлены на рисунках 4.16, 4.17.

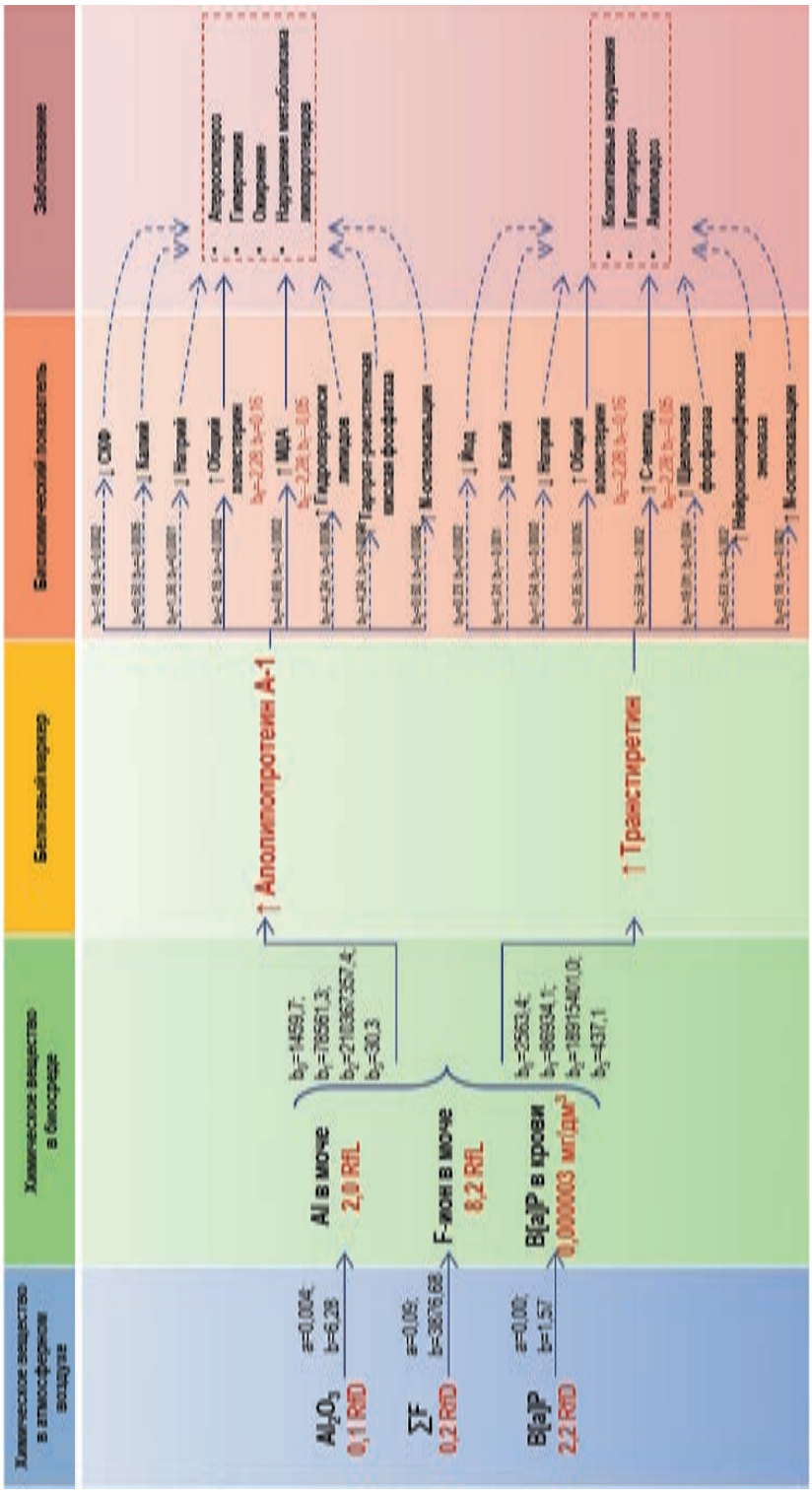


Рис. 4.16. Детализированная оцифрованная версия итерационного прогноза риска развития негативных эффектов (заболеваний), патогенетически связанных с изменением экспрессии белков аполипопротеин А-1 и транстиретин, при комбинированном воздействии Al_2O_3, $C_{20}H_{12}$, HF

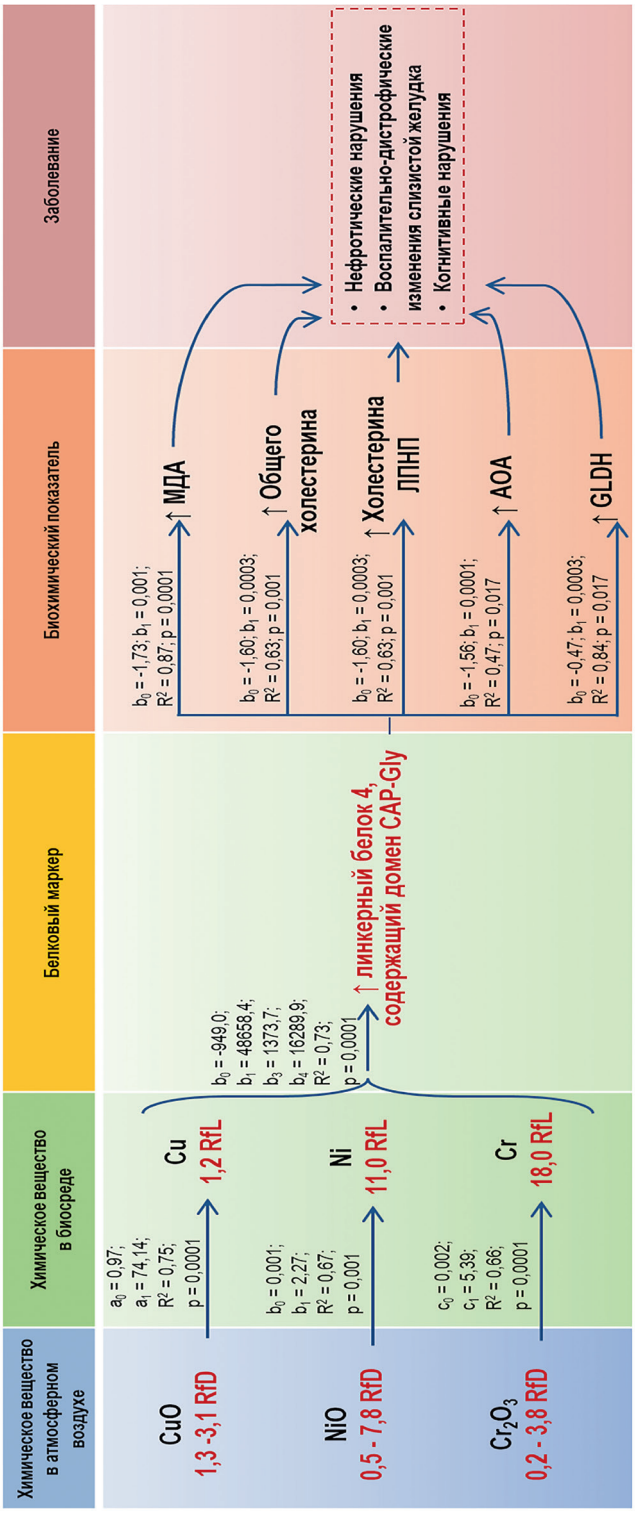


Рис. 4.17. Детализированная оцифрованная версия итерационного прогноза риска развития негативных эффектов, патогенетически связанных с изменением экспрессии линкерного белка 4, содержащего ассоциативный домен CAP-Gly, при комбинированном воздействии CuO, NiO и Cr_2O_3

Спрогнозирована вероятность развития негативных эффектов (заболеваний), ассоциированных с увеличением экспрессии выявленных белков-мишеней – аполипопротеина А-1 и транстиретина, проявляющихся в виде атеросклероза, гипертонии, ожирения, амилоидоза, гипертиреоза, нарушений метаболизма липопротеидов и нейродегенеративных процессов.

Определен риск (вероятность) негативных эффектов (заболеваний), ассоциированных с увеличением экспрессии линкерного белка 4 (домен CAP-Gly), в виде нефротических и когнитивных нарушений, воспалительно-дистрофических изменений слизистой оболочки желудка.

Таким образом, результаты реализации алгоритма итерационного прогноза подтверждают его эффективность как инструмента, повышающего надежность управленческих решений в области гигиены. Применение данного метода при воздействии оксидов алюминия, меди, никеля, хрома, фторида водорода и бенз(а)пирена позволяет минимизировать риски и вред здоровью населения. Это открывает новые возможности для профилактики нарушений в детском возрасте и направлено на улучшение качества и продолжительности жизни в условиях неблагоприятного воздействия химических факторов среды обитания.

Список литературы к главе 4

Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; под ред. Н.Е. Бузикашвили, Д.В. Самойлова. М.: Практика, 1998. 459 с. ISBN: 5-89816-009-4.

Зайцева, Н.В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современный инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, О.В. Долгих // Гигиена и санитария. 2020; 99(1): 6–12. DOI: 10.33029/0016-9900-2020-99-1-6-12.

Зайцева, Н.В. Оценка особенности комбинированного действия ряда химических веществ на основе анализа параметризованных причинно-следственных связей маркёров экспозиции и негативных эффектов и количественной оценки дополнительного риска для здоровья / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Ю.В. Кольдибекова и др. // Гигиена и санитария. 2023; 102(10): 1132–1142. DOI: 10.47470/0016-9900-2023-102-10-1132-1142.

Зайцева, Н.В. Прогноз вероятных негативных эффектов, инициированных трансформацией протеомного профиля плазмы крови человека при комбинированном воздействии химических веществ / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Е.В. Пескова // Гигиена и санитария. 2024; 103(5): 407–-415. DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-5-407-415.

Зайцева, Н.В. Клеточно-молекулярные и системные биомаркеры в гигиене / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Ю.В. Кольдибекова. Пермь, 2025. 744 с. ISBN: 978-5-6054514-0-2.

Землянова, М.А. Протеомное профилирование плазмы крови при хронической экспериментальной экспозиции оксидом алюминия как инструмент про-

гноза негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека // М.А. Землянова, Е.В. Пескова, М.С. Степанков // Гигиена и санитария. 2023; 102(10): 1125–1131. DOI: 10.47470/0016-9900-2023-102-10-1125-1131.

Клиническое руководство по лабораторным тестам; под ред. проф. Н.У. Тица. М.: ЮНИМЕД–пресс, 2003. 960 с. ISBN 5-89429-004-X.

Патент № 137550. Схема «Алгоритм обоснования омик-маркеров и генов, кодирующих их экспрессию, для прогнозирования негативных эффектов, ассоциированных с комбинированным воздействием маркеров экспозиции»: Патент на промышленный образец; № 2023501389; заявл. 23.03.2023; опубл. 14.07.2023 / М.А. Землянова, Е.В Пескова, Ю.В. Кольдибекова.

Патент № 148805. Схема «Алгоритм итерационного прогноза риска и вреда здоровью при действии химических веществ»: Патент на промышленный образец; № 2025503272; заявл. 10.06.2025; опубл. 18.08.2025 / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Е.В Пескова, Ю.В. Кольдибекова, Д.А. Кирьянов, В.М. Чигвинцев.

Пескова, Е.В. Изменение протеомного профиля плазмы крови крыс в условиях ингаляционного поступления фтора в эксперименте / Пескова Е.В., Степанков М.С. // Анализ риска здоровью – 2023: Совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью RISE-2023: Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 2 т.; под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2023. Т. 2: 96–102.

Пескова, Е.В. Особенности протеомного профиля плазмы крови в условиях ингаляционной экспозиции бенз(а)пиреном в эксперименте для прогнозирования негативных эффектов у человека / Е.В. Пескова // Анализ риска здоровью – 2024: Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 2-х т. / под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2024a Т. 2: 219–225.

Пескова, Е.В. Особенности протеомного профиля плазмы крови экспериментальных животных при ингаляционной экспозиции оксидом алюминия / Е.В. Пескова // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: Сборник статей 82-ой Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов; под ред. С.В. Поройского. Волгоград: ВолгГМУ, 2024b: 457–458.

Пескова, Е.В. Оценка изменений белкового состава плазмы крови при воздействии химических веществ в эксперименте для прогноза развития нарушений здоровья человека / Е.В. Пескова, Н.И. Булатова // Гигиена, экология и риски здоровью в современных условиях: Материалы всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов с международным участием; под ред. Н.Е. Комлевой, Д.М. Макаревской. Саратов: Саратовский источник, 2025: 331–334.

Пескова, Е.В. Оценка изменений протеомного профиля плазмы крови крыс при действии химических веществ для прогноза и профилактики

риск-индуцированных нарушений здоровья человека / Е.В. Пескова, М.С. Степанков // Здоровый образ жизни и профилактическая медицина: Сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов. Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2025: 205–208.

Пескова, Е.В. Протеомное профилирование плазмы крови экспериментальных животных как инструмент прогноза негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека (на примере бенз(а)пирена) / Е.В. Пескова, М.С. Степанков // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2024; 18(1): 50–56. DOI: 10.24412/2075-4094-2024-1-2-2.

Пескова, Е.В. Функциональная классификация белков плазмы крови крыс в условиях ингаляционного поступления фтора в эксперименте / Е.В. Пескова // Гигиена, окружающая среда и риски здоровью в современных условиях: Материалы Всероссийской научно-практической интернет-конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора с международным участием. Саратов: Амирит, 2023: 227–230.

Пескова, Е.В. Функциональная классификация белков плазмы крови крыс в условиях ингаляционного поступления оксида никеля / Е.В. Пескова // Гигиена, экология и риски здоровью в современных условиях: Материалы всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов с международным участием; под ред. Н.Е. Комлевой, Ю.С. Гусева. Саратов: Саратовский источник, 2024с: 170–172.

Пескова, Е.В. Экспериментальная оценка комбинированного действия химических веществ на основе квантификации белков плазмы крови / Е.В. Пескова // Гигиена и санитария. 2025; 104(5): 648–654. DOI: 10.47470/0016-9900-2025-104-5-648-654.

Р 2.1.10.3968-23. Руководство по оценке риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания: Р 2.1.10.3968-23. М.: Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации, 2023. 221 с.

Соседова, Л.М. Роль биомоделирования в системе химической безопасности человека / Л.М. Соседова, Т.М. Филиппова // Экология человека. 2017; 24(7): 46–52. DOI: 10.33396/1728-0869-2017-7-46-52.

Степанков, М.С. Оценка особенностей бионакопления и токсического действия наночастиц оксида меди (II) на органы дыхания при ингаляционном поступлении в организм в сравнении с микроразмерным химическим аналогом для задач профилактики / М.С. Степанков // Анализ риска здоровью. 2023; 4: 124–133. DOI: 10.21668/health.risk/2023.4.12.

Шекунова, Е.В. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос доз / Е.В. Шекунова, М.А. Ковалева, М.Н. Макарова [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2020; 10(1): 19–28. DOI: 10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28.

Alberts, B. Model organisms and human health / B. Alberts // Science. 2010; 330(6012): 1724. DOI: 10.1126/science.1201826.

Al-Numair, N.S. The structural effects of mutations can aid in differential phenotype prediction of beta-myosin heavy chain (Myosin-7) missense variants / N.S. Al-Numair, L. Lopes, P. Syrris [et al.] // Bioinformatics. 2016; 32(19): 2947–2955. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw362.

Anderson, N.L. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects / N.L. Anderson, N.G. Anderson // Mol Cell Proteomics. 2002; 1(11): 845–867. DOI: 10.1074/mcp.r200007-mcp200.

Arai, A. STARS, a striated muscle activator of Rho signaling and serum response factor-dependent transcription / A. Arai, J.A. Spencer, E.N. Olson // J Biol Chem. 2002; 277(27): 24453–24459. DOI: 10.1074/jbc.M202216200.

Bhat, G.J. Heme is a positive regulator of cytochrome P-450 gene transcription / G.J. Bhat, G. Padmanaban // Arch Biochem Biophys. 1988; 264(2): 584–590. DOI: 10.1016/0003-9861(88)90324-4.

Bhat, K.M. Microtubule-associated proteins as targets in cancer chemotherapy / K.M. Bhat, V. Setaluri // Clin Cancer Res. 2007; 13(10): 2849–2854. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-3040.

Blennow, K. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease / K. Blennow, H. Hampel, M. Weiner, H. Zetterberg // Nat Rev Neurol. 2010; 6(3): 131–144. DOI: 10.1038/nrneurol.2010.4.

Bo, C. Comparative proteomic analysis of silica-induced pulmonary fibrosis in rats based on tandem mass tag (TMT) quantitation technology / C. Bo, X. Geng, J. Zhang [et al.] // PLoS One. 2020; 15(10): e0241310. DOI: 10.1371/journal.pone.0241310.

Bogdanović, M. Histopathological changes in rat liver after a single high dose of aluminium / M. Bogdanović, A.B. Janeva, P. Bulat // Arh Hig Rada Toksikol. 2008; 59(2): 97–101. DOI: 10.2478/10004-1254-59-2008-1859.

Bonkowsky, H.L. Human hepatic delta-aminolevulinate synthase: requirement of an exogenous system for succinyl-coenzyme A generation to demonstrate increased activity in cirrhotic and anticonvulsant-treated subjects / H.L. Bonkowsky, J.S. Pomeroy // Clini Sci Mol Med. 1977; 52: 509–521.

Bonventre, J.V. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity / J.V. Bonventre, V.S. Vaidya, R. Schmouder [et al.] // Nat Biotechnol. 2010; 28(5): 436–440. DOI: 10.1038/nbt0510-436.

Califf, R.M. Biomarker definitions and their applications / R.M. Califf // Exp Biol Med (Maywood). 2018; 243(3): 213–221. DOI: 10.1177/1535370217750088.

Chowdhury, R. Environmental toxic metal contaminants and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis / R. Chowdhury, A. Ramond, L.M. O'Keeffe [et al.] // BMJ. 2018; 362: k3310. DOI: 10.1136/bmj.k3310.

Corzett, T.H. Statistical analysis of variation in the human plasma proteome / T.H. Corzett, I.K. Fodor, M.W. Choi [et al.] // J Biomed Biotechnol. 2010; 2010: 258494. DOI: 10.1155/2010/258494.

Cote, I. The Next Generation of Risk Assessment Multi-Year Study-Highlights of Findings, Applications to Risk Assessment, and Future Directions / I. Cote, M.E. Andersen, G.T. Ankley [et al.] // Environ Health Perspect. 2016; 124(11): 1671–1682. DOI: 10.1289/EHP233.

Crichton, R.R. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells / R.R. Crichton, S. Wilmet, R. Legssyer, R.J. Ward // J Inorg Biochem. 2002; 91(1): 9–18. DOI: 10.1016/s0162-0134(02)00461-0.

Dayon, L. Proteomics of human biological fluids for biomarker discoveries: technical advances and recent applications / L. Dayon, O. Cominetti, M. Affolter // Expert Rev Proteomics. 2022; 19(2): 131–151. DOI: 10.1080/14789450.2022.2070477.

Dec, K. The Influence of Fluorine on the Disturbances of Homeostasis in the Central Nervous System / K. Dec, A. Łukomska, D. Maciejewska [et al.] // Biol Trace Elem Res. 2017; 177(2): 224–234. DOI: 10.1007/s12011-016-0871-4.

Del Campo, M. Facilitating the Validation of Novel Protein Biomarkers for Dementia: An Optimal Workflow for the Development of Sandwich Immunoassays / M. Del Campo, W. Jongbloed, H.A. Twaalfhoven [et al.] // Front Neurol. 2015; 6: 202. DOI: 10.3389/fneur.2015.00202.

Dionizio, A.S. Chronic treatment with fluoride affects the jejunum: insights from proteomics and enteric innervation analysis / A.S. Dionizio, C.G.S. Melo, I.T. Sabino-Arias [et al.] // Sci Rep. 2018; 8(1): 3180. DOI: 10.1038/s41598-018-21533-4.

Dong, T. Sputum and salivary protein biomarkers and point-of-care biosensors for the management of COPD / T. Dong, S. Santos, Z. Yang [et al.] // Analyst. 2020; 145: 1583–1604 DOI: 10.1039/C9AN01704F.

Edison, A.S. The Time Is Right to Focus on Model Organism Metabolomes / A.S. Edison, R.D. Hall, C. Junot [et al.] // Metabolites. 2016; 6(1): 8. DOI: 10.3390/metabo6010008.

Farzan, S.F. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbons and measures of oxidative stress, inflammation and renal function in adolescents: NHANES 2003-2008 / S.F. Farzan, Y. Chen, H. Trachtman, L. Trasande // Environ Res. 2016; 144(Pt A): 149–157. DOI: 10.1016/j.envres.2015.11.012.

Fath, T. Tropomodulins and tropomyosins – organizers of cellular microcompartments / T. Fath // Biomol Concepts. 2013; 4(1): 89–101. DOI: 10.1515/bmc-2012-0037.

Federico, A. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis / A. Federico, F. Morgillo, C. Tuccillo [et al.] // Int J Cancer. 2007; 121(11): 2381–2386. DOI: 10.1002/ijc.23192.

Fowler, B.A. Biomarkers in toxicology and risk assessment / B.A. Fowler // Exp Suppl. 2012; 101: 459–470. DOI: 10.1007/978-3-7643-8340-4_16.

Fuchs, T.C. Evaluation of novel acute urinary rat kidney toxicity biomarker for subacute toxicity studies in preclinical trials / T.C. Fuchs, K. Frick, B. Emde [et al.] // Toxicol Pathol. 2012; 40(7): 1031–1048. DOI: 10.1177/0192623312444618.

Fujii, A. The novel driver gene ASAP2 is a potential druggable target in pancreatic cancer / A. Fujii, T. Masuda, M. Iwata [et al.] // Cancer Sci. 2021; 112(4): 1655–1668. DOI: 10.1111/cas.14858.

Ghasemi, A. The laboratory rat: Age and body weight matter / A. Ghasemi, S. Jeddi, K. Kashfi // EXCLI J. 2021; 20: 1431–1445. DOI: 10.17179/excli2021-4072.

Gibbs, R.A. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution / R.A. Gibbs, G.M. Weinstock, M.L. Metzker [et al.] // Nature. 2004; 428(6982): 493–521. DOI: 10.1038/nature02426.

Gómez-Baena, G. The major urinary protein system in the rat / G. Gómez-Baena, S.D. Armstrong, M.M. [et al.] // Phelan, Biochem Soc Trans. 2014; 42(4): 886–892. DOI: 10.1042/BST20140083.

Goschorska, M. Effect of sodium fluoride on catalase activity in THP-1 macrophages / M. Goschorska, I. Gutowska, M. Olszewska [et al.] // Fluoride. 2015; 48: 274–282.

Grimbert, S. Decreased mitochondrial oxidation of fatty acids in pregnant mice: possible relevance to development of acute fatty liver of pregnancy / S. Grimbert, B. Fromenty, C. Fisch [et al.] // Hepatology. 1993; 17(4): 628–637. DOI: 10.1002/hep.1840170417.

Guo, X. Two predominant MUPs, OBP3 and MUP13, are male pheromones in rats / X. Guo, H. Guo, L. Zhao [et al.] // Front Zool. 2018; 15: 6. DOI: 10.1186/s12983-018-0254-0.

Halley, P. Regulation of the apolipoprotein gene cluster by a long noncoding RNA / P. Halley, B.M. Kadakkuzha, M.A. Faghihi [et al.] // Cell Rep. 2014; 6(1): 222–230. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.12.015.

Harris, W.R. Equilibrium model for speciation of aluminum in serum / W.R. Harris // Clin Chem. 1992; 38(9): 1809–1818.

Hernández, J. Prostate-specific antigen: a review of the validation of the most commonly used cancer biomarker / J. Hernández, I.M. Thompson // Cancer. 2004; 101(5): 894–904. DOI: 10.1002/cncr.20480.

Huang, Q. Comparative proteomic analysis reveals heart toxicity induced by chronic arsenic exposure in rats / Q. Huang, G. Xi, A. Alamdar [et al.] // Environ Pollut. 2017; 229: 210–218. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.05.077.

Huang, X. Up-Regulated MISP Is Associated With Poor Prognosis and Immune Infiltration in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma / X. Huang, L. Zhao, Y. Jin [et al.] // Front Oncol. 2022; 12: 827051. DOI: 10.3389/fonc.2022.827051.

Janda, E. Molecular Pharmacology of NRH: Quinone Oxidoreductase 2: A Detoxifying Enzyme Acting as an Undercover Toxifying Enzyme / E. Janda, F. Nepveu, B. Calamini [et al.] // Mol Pharmacol. 2020; 98(5): 620–633. DOI: 10.1124/molpharm.120.000105.

Jones, A.M. The HUPO initiative on Model Organism Proteomes, iMOP / A.M. Jones, R. Aebersold, C.H. Ahrens [et al.] // Proteomics. 2012; 12(3): 340–345. DOI: 10.1002/pmic.201290014.

Kaindl, A.M. Acute and long-term proteome changes induced by oxidative stress in the developing brain / A.M. Kaindl, M. Sifringer, C. Zabel [et al.] // Cell Death Differ. 2006; 13(7): 1097–1109. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401796.

Kasabova, M. Regulation of TGF-β1-driven differentiation of human lung fibroblasts: emerging roles of cathepsin B and cystatin C / M. Kasabova, A. Joulin-Giet, F. Lecaille [et al.] // J Biol Chem. 2014; 289(23): 16239–16251. DOI: 10.1074/jbc.M113.542407.

Kawada, N. Characterization of a stellate cell activation-associated protein (STAP) with peroxidase activity found in rat hepatic stellate cells / N. Kawada, D.B. Kristensen, K. Asahina [et al.] // J Biol Chem. 2001; 276(27): 25318–25323. DOI: 10.1074/jbc.M102630200.

Khan, M.S. Serpin Inhibition Mechanism: A Delicate Balance between Native Metastable State and Polymerization / M.S. Khan, P. Singh, A. Azhar [et al.] // J Amino Acids. 2011; 2011: 606797. DOI: 10.4061/2011/606797.

Koh, Y.H. Aldehyde reductase gene expression by lipid peroxidation end products, MDA and HNE / Y.H. Koh, Y.S. Park, M. Takahashi [et al.] // Free Radic Res. 2000; 33(6): 739–746. DOI: 10.1080/10715760000301261.

Kolmeder, C.A. Metaproteomics of our microbiome – developing insight in function and activity in man and model systems / C.A. Kolmeder, W.M. de Vos // J Proteomics. 2014; 97: 3–16. DOI: 10.1016/j.jprot.2013.05.018.

Koonin, E.V. Sequence – Evolution – Function: Computational Approaches in Comparative Genomics / E.V. Koonin, M.Y. Galperin. Boston: Kluwer Academic, 2003. DOI: 10.1007/978-1-4757-3783-7.

Lewis, J.E. Neuroendocrine Role for VGF / J.E. Lewis, J.M. Brameld, P.H. Jethwa // Front Endocrinol (Lausanne). 2015; 6: 3. DOI: 10.3389/fendo.2015.00003.

Lim, J.Y. Nephrotoxicity evaluation and proteomic analysis in kidneys of rats exposed to thioacetamide / J.Y. Lim, W.W. Jung, W. Kim [et al.] // Sci Rep. 2022; 12(1): 6837. DOI: 10.1038/s41598-022-11011-3.

Lin, Y. Computer-aided biomarker discovery for precision medicine: data resources, models and applications / Y. Lin, F. Qian, L. Shen [et al.] // Brief Bioinform. 2019; 20(3): 952–975. DOI: 10.1093/bib/bbx158.

Liu, Q. Evaluation of drug combination effect using a Bliss independence dose-response surface model / Q. Liu, X. Yin, L.R. Languino, D.C. Altieri // Stat Biopharm Res. 2018; 10(2): 112–122. DOI: 10.1080/19466315.2018.1437071.

Low, T.Y. A proteomic analysis of thioacetamide-induced hepatotoxicity and cirrhosis in rat livers / T.Y. Low, C.K. Leow, M. Salto-Tellez, M.C. Chung // Proteomics. 2004; 4(12): 3960–3974. DOI: 10.1002/pmic.200400852.

Mangaraj, M. Apolipoprotein A-I: A Molecule of Diverse Function / M. Mangaraj, R. Nanda, S. Panda // Indian J Clin Biochem. 2016; 31(3): 253–259. DOI: 10.1007/s12291-015-0513-1.

Marek, I. Alpha8 Integrin (Itga8) Signalling Attenuates Chronic Renal Interstitial Fibrosis by Reducing Fibroblast Activation, Not by Interfering with Regulation of Cell Turnover / I. Marek, T. Lichtneger, N. Cordasic [et al.] // PLoS One. 2016; 11(3): e0150471. DOI: 10.1371/journal.pone.0150471.

Mavrina, E. Multi-Omics Interdisciplinary Research Integration to Accelerate Dementia Biomarker Development (MIRIADE) / E. Mavrina, L. Kimble, K. Waury [et al.] // Front Neurol. 2022; 13: 890638. DOI: 10.3389/fneur.2022.890638.

Nath, A.K. Proteomic-based detection of a protein cluster dysregulated during cardiovascular development identifies biomarkers of congenital heart defects / A.K. Nath, M. Krauthammer, P. Li // PLoS One. 2009; 4(1): e4221. DOI: 10.1371/journal.pone.0004221.

Orlowski, G.M. Multiple Cathepsins Promote Pro-IL-1β Synthesis and NLRP3-Mediated IL-1β Activation / G.M. Orlowski, J.D. Colbert, S. Sharma [et al.] // J Immunol. 2015; 195(4): 1685–1697. DOI: 10.4049/jimmunol.1500509.

Rebuzzini, P. Arsenic trioxide alters the differentiation of mouse embryonic stem cell into cardiomyocytes / P. Rebuzzini, E. Cebral, L. Fassina [et al.] // Sci Rep. 2015; 5: 14993. DOI: 10.1038/srep14993.

Richardson, J.R. Neurotoxicity of pesticides / J.R. Richardson, V. Fitsanakis, R.H.S. Westerink, A.G. Kanthasamy // Acta Neuropathol. 2019; 138(3): 343–362. DOI: 10.1007/s00401-019-02033-9.

Rifai, N. Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility / N. Rifai, M.A. Gillette, S.A. Carr // Nat Biotechnol. 2006; 24(8): 971–983. DOI: 10.1038/nbt1235.

Rittner, H.L. Aldose reductase functions as a detoxification system for lipid peroxidation products in vasculitis / H.L. Rittner, V. Hafner, P.A. Klimiuk [et al.] // J Clin Invest. 1999; 103(7): 1007–1013. DOI: 10.1172/JCI4711.

Shields, H.J. Beneficial and Detrimental Effects of Reactive Oxygen Species on Lifespan: A Comprehensive Review of Comparative and Experimental Studies / H.J. Shields, A. Traa, J.M. Van Raamsdonk // Front Cell Dev Biol. 2021; 9: 628157. DOI: 10.3389/fcell.2021.628157.

Shimokawa, T. Distribution of prosaposin in rat lymphatic tissues / T. Shimokawa, H. Nabeka, K. Yamamiya [et al.] // Cell Tissue Res. 2013; 352(3): 685–693. DOI: 10.1007/s00441-013-1575-0.

Storch, J. Structural and functional analysis of fatty acid-binding proteins / J. Storch, L. McDermott // J Lipid Res. 2009; 50 Suppl(Suppl): S126–131. DOI: 10.1194/jlr.R800084-JLR200.

Sumi, D. Arsenite retards the cardiac differentiation of rat cardiac myoblast H9c2 cells / D. Sumi, K. Abe, S. Himeno // Biochem Biophys Res Commun. 2013; 436(2): 175–179. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.05.069.

Thygesen, K. Third universal definition of myocardial infarction / K. Thygesen, J.S. Alpert, A.S. Jaffe [et al.] // Eur Heart J. 2012; 33(20): 2551–2567. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs184.

Toivola, D.M. Keratin overexpression levels correlate with the extent of spontaneous pancreatic injury / D.M. Toivola, I. Nakamichi, P. Strnad [et al.] // Am J Pathol. 2008; 172(4): 882–892. DOI: 10.2353/ajpath.2008.070830.

Tong, J.H. Association of Circulating Apolipoprotein AI Levels in Patients With Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis / J.H. Tong, S.Q. Gong, Y.S. Zhang [et al.] // Front Aging Neurosci. 2022; 14: 899175. DOI: 10.3389/fnagi.2022.899175.

Verma, N. Review on proteomic analyses of benzo[a]pyrene toxicity / N. Verma, M. Pink, A.W. Rettenmeier, S. Schmitz-Spanke // Proteomics. 2012; 12(11): 1731–1755. DOI: 10.1002/pmic.201100466.

Volkert, G. Contribution of the α8 integrin chain to the expression of extracellular matrix components / G. Volkert, A. Jahn, C. Dinkel [et al.] // Cell Commun Adhes. 2014; 21(2): 89–98. DOI: 10.3109/15419061.2013.876012.

Von Essen, M. Talin and vinculin are downregulated in atherosclerotic plaque; Tampere Vascular Study / M. von Essen, R. Rahikainen, N. Oksala [et al.] // Atherosclerosis. 2016; 255: 43–53. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.031.

Wade, R.H. Microtubules: an overview / R.H. Wade // Methods Mol Med. 2007; 137: 1–16. DOI: 10.2119/molecular%20medicine-2006-00038.

Wallace, M.A. Striated muscle activator of Rho signaling is required for myotube survival but does not influence basal protein synthesis or degradation / M.A. Wallace, A.P. Russell // Am J Physiol Cell Physiol. 2013; 305(4): C414–426. DOI: 10.1152/ajpcell.00421.2012.

Wang, H. iTRAQ-based proteomic technology revealed protein perturbations in intestinal mucosa from manganese exposure in rat models / H. Wang, S. Wang, D. Cui [et al.] // RSC Adv. 2017; 7: 31745–31758 DOI: 10.1039/C7RA03358C.

Wang, J. Quantitative proteomic analysis of okadaic acid treated mouse small intestines reveals differentially expressed proteins involved in diarrhetic shellfish poisoning / J. Wang, Y.Y. Wang, L. Lin [et al.] // J Proteomics. 2012; 75(7): 2038–2052. DOI: 10.1016/j.jprot.2012.01.010.

Wang, R. Temporal Proteomic and Lipidomic Profiles of Cerulein-Induced Acute Pancreatitis Reveal Novel Insights for Metabolic Alterations in the Disease Pathogenesis / R. Wang, Y. Wang, Y. Tao [et al.] // ACS Omega. 2023; 8(13): 12310–12326. DOI: 10.1021/acsomega.3c00019.

Wang, W. Quantitative proteomics reveals TMOD1-related proteins associated with water balance regulation / W. Wang, D. Xu, L. Zhong [et al.] // PLoS One. 2019; 14(7): e0219932. DOI: 10.1371/journal.pone.0219932.

Wang, Y. Hepatic alpha 2 mu-globulin localizes to the cytosol of rat proximal tubule cells / Y. Wang, M.A. Shia, T.G. Christensen, S.C. Borkan // Kidney Int. 2000; 57(3): 1015–1026. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2000.00929.x.

Waury, K. Bioinformatics tools and data resources for assay development of fluid protein biomarkers / K. Waury, E.A.J. Willemse, E. Vanmechelen [et al.] // Biomark Res. 2022; 10(1): 83. DOI: 10.1186/s40364-022-00425-w.

Woudenberg-Vrenken, T.E. The role of transient receptor potential channels in kidney disease / T.E. Woudenberg-Vrenken, R.J. Bindels, J.G. Hoenderop // Nat Rev Nephrol. 2009; 5(8): 441–449. DOI: 10.1038/nrneph.2009.100.

Wyman, A.E. Update on metal-induced occupational lung disease / A.E. Wyman, S.E. Hines // Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2018; 18(2): 73–79. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000420.

Yamagami, K. Pirfenidone exhibits cardioprotective effects by regulating myocardial fibrosis and vascular permeability in pressure-overloaded hearts / K. Yamagami, T. Oka, Q. Wang [et al.] // Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2015; 309(3): H512–522. DOI: 10.1152/ajpheart.00137.2015.

Yipel, M. Potentiation of Toxicology with Proteomics: Toxicoproteomics / M. Yipel, A. İlhan // International Journal of Veterinary and Animal Research (IJVAR). 2022; 5(1): 36–39. DOI: 10.5281/zenodo.6345210.

Zaika, O. TRPV4 dysfunction promotes renal cystogenesis in autosomal recessive polycystic kidney disease / O. Zaika, M. Mamenko, J. Berrout [et al.] // J Am Soc Nephrol. 2013; 24(4): 604–616. DOI: 10.1681/ASN.2012050442.

Zanoni, I. CD14 controls the LPS-induced endocytosis of Toll-like receptor 4 / I. Zanoni, R. Ostuni, L.R. Marek [et al.] // Cell. 2011; 147(4): 868–880. DOI: 10.1016/j.cell.2011.09.051.

Zeindl-Eberhart, E. Identification of tumor-associated protein variants during rat hepatocarcinogenesis / E. Zeindl-Eberhart, P.R. Jungblut, A. Otto, H.M. Rabes // Aldose reductase. J Biol Chem. 1994; 269(20): 14589–14594.

Zeindl-Eberhart, E. Proteome analysis of rat hepatomas: carcinogen-dependent tumor-associated protein variants / E. Zeindl-Eberhart, S. Klugbauer, N. Dimitrijevic [et al.] // Electrophoresis. 2001; 22(14): 3009–3018. DOI: 10.1002/1522-2683(200108)22:14<3009::AID-ELPS3009>3.0.CO;2-V.

Zhang, X. Resveratrol inhibits angiotensin II-induced ERK1/2 activation by downregulating quinone reductase 2 in rat vascular smooth muscle cells / X. Zhang, Y. Wang, W. Yang [et al.] //J Biomed Res. 2012a; 26(2): 103–109. DOI: 10.1016/S1674-8301(12)60019-0.

Zhang, X.W. Downregulation of quinone reductase 2 attenuates vascular smooth muscle cells proliferation and neointimal formation in balloon injured rat carotid artery / X.W. Zhang, Y. Wang, J.B. Cai [et al.] // Cell Physiol Biochem. 2012b; 29(3-4): 453–462. DOI: 10.1159/000338499.

Zheng, D. Comparison of the ventricle muscle proteome between patients with rheumatic heart disease and controls with mitral valve prolapse: HSP 60 may be a specific protein in RHD / D. Zheng, L. Xu, L. Sun [et al.] // Biomed Res Int. 2014; 2014: 151726. DOI: 10.1155/2014/151726.

Zhou, M. Proteomics for Biomarker Discovery [Электронный ресурс] / M. Zhou, D.V. Timothy. New York: Humana Press, 2013. URL: https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-62703-360-2 (дата обращения 12.12.2025).

Zhou, X. Recent advances in on-site mass spectrometry analysis for clinical applications / X. Zhou, W. Zhang, Z. Ouyang // Trends Analyt Chem. 2022; 149: 116548. DOI: 10.1016/j.trac.2022.116548.

ГЛАВА 5

ПЕРСПЕКТИВЫ И ВЫЗОВЫ ПРОТЕОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В УСЛОВИЯХ ХИМИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ

5.1. Интеграция протеомного анализа с различными направлениями биологии и медицины

Протеомика является междисциплинарным фундаментом современной биологии и медицины, тесно взаимодействуя с такими направлениями, как геномика, метаболомика, фармакопротеомика и эпигенетика. В отличие от традиционной токсикологии, фиксирующей лишь конечные фенотипические изменения (болезнь или летальность), «омиксные» методы позволяют изучать процессы на молекулярном и клеточном уровнях.

Интеграция данных о генах, мРНК, белках и метаболитах дает возможность:

– выявлять скрытые взаимосвязи и механизмы взаимодействия внутри биологических систем;

– формировать базу для вычислительных моделей, оценивающих количественную степень клеточных ответов;

– разрабатывать многомасштабные модели, связывающие первичное химическое воздействие с реакциями на уровне конкретных тканей и органов.

Такой системный подход превращает протеомику в ключевой инструмент для прогнозирования рисков и глубокого понимания патогенеза заболеваний.

«Омиксные» технологии уже более десяти лет применяются для идентификации, классификации и приоритизации химических соединений. В современной токсикологии такие исследования выходят за рамки простого анализа экспрессии генов или списков метаболитов, интегрируя полученные данные с изменениями на более высоких уровнях биологической организации [Connon R.E. et al., 2012].

Ключевые возможности омик включают:

– связывание механизмов с патологией: сопоставление молекулярных реакций с изменениями в воспроизводстве, темпах роста и жизнеспособности организма [Van Aggelen G. et al., 2010; Garcia-Reyero N. et al., 2011];

– оценку параметров воздействия: изучение влияния соединений в зависимости от дозы, времени экспозиции и вида;

– поиск биомаркеров: выявление новых индикаторов токсичности и детальное выяснение молекулярных путей и механизмов действия ксенобиотиков [Waters M.D., Fostel J.M., 2004].

Геномика исследует структурно-функциональную организацию геномов, их эволюционную динамику, включая архитектуру генов, регуляторные элементы

и механизмы генно-средового взаимодействия. Выявление генетических вариаций и мутаций, ассоциированных с патологиями, позволяет идентифицировать белковые мишени и верифицировать этиопатогенез заболеваний. В отличие от статичной генетической информации, предоставляемой геномикой, протеомика отражает динамику экспрессии и посттрансляционной регуляции белков в ответ на экзогенные и эндогенные стимулы. Поскольку белки являются непосредственными эффекторами клеточных процессов и первичными мишенями воздействия, данная дивергенция фундаментальна для предиктивной диагностики, профилактики и реализации стратегий персонализированной медицины.

Интеграция геномных и протеомных данных является фундаментом для оценки индивидуальной чувствительности к воздействию химических токсикантов, позволяя адаптировать стратегии минимизации рисков под уникальный молекулярный профиль организма. Такой подход критически важен при воздействии техногенных химических факторов, когда методы прецизионной токсикологии нацелены на выявление специфических генетических полиморфизмов и паттернов белковой экспрессии, определяющих биотрансформацию соединений. Достижения в этих областях открывают возможности для предиктивной диагностики детерминированных нарушений, обеспечивая верификацию рисков на доклинической стадии. Синергия генетического тестирования и анализа протеомных биомаркеров позволяет разрабатывать таргетированные меры профилактики метаболических и системных сбоев, вызванных химической нагрузкой, а также осуществлять динамический мониторинг состояния здоровья и эффективности детоксикационных мероприятий в режиме реального времени [Jain K.K., 2021].

В отличие от генома, протеом и метаболом динамичны и гораздо ближе к фенотипу заболевания. Они образуют мощный аналитический тандем, позволяющий получить целостную картину функционирования биологической системы. Если протеомика отвечает на вопрос «что может произойти?», идентифицируя и количественно оценивая белки, включая ключевые ферменты, то метаболомика показывает, «что происходит на самом деле?», измеряя конечные продукты клеточных процессов – небольшие молекулы метаболитов. Их совместное применение раскрывает прямые причинно-следственные связи: изменение в активности фермента (протеомика) напрямую коррелирует с колебаниями концентраций субстратов и продуктов соответствующей биохимической реакции (метаболомика). Такой интегративный подход незаменим для полного картирования метаболических путей, выявления ключевых точек их регуляции, понимания механизмов действия лекарств и открытия биомаркеров заболеваний, где нарушение на протеомном уровне немедленно находит отражение в метаболическом профиле [Wishart D.S. et al., 2018].

Протеомика и липидомика формируют комплементарный аналитический базис, верифицируя тесный функциональный синергизм протеома и липидома. В то время как протеомный анализ обеспечивает идентификацию и квантификацию белковых ансамблей, липидомика реализует полномасштабный

профилинг липидных фракций. Их интеграция позволяет реконструировать механизмы взаимной регуляции: липиды выступают не только в роли структурного матрикса биомембран, но и в качестве эссенциальных сигнальных молекул, модулирующих каталитическую активность, внутриклеточную локализацию и конформационную стабильность белков. Совместная экспликация данных выявляет специфические липид-белковые комплексы, детерминирующие трансдукцию сигналов, архитектонику мембранных доменов и биогенез органелл, что недоступно при изолированном изучении данных классов молекул. Данный мультиомиксный подход инвариантен для исследования этиопатогенеза воспаления, апоптоза и нейродегенеративных процессов, где деструкция липидного гомеостаза непосредственно индуцирует функциональную дисфункцию белков-эффекторов.

Протеомика занимает центральное положение в современной биомедицине и методологии поиска биомаркеров, решая фундаментальную задачу детекции молекулярных предикторов физиологического статуса, патогенеза или ответа организма. В отличие от геномики, верифицирующей генетическую предрасположенность, протеомика генерирует динамические данные об актуальных биологических процессах, поскольку белки являются непосредственными функциональными эффекторами клетки. Это позволяет селективно фокусироваться на протеинах, чья экспрессия статистически значимо коррелирует с развитием патологического процесса.

Критическим этапом исследования является верификация и валидация узкого пула наиболее перспективных кандидатов. На данной стадии поисковые стратегии (discovery-based) замещаются таргетными протеомными методами, обеспечивающими высокую прецизионность, специфичность и чувствительность при квантификации целевых белков. Этот этап исключает вероятность статистических артефактов и позволяет объективно оценить диагностическую значимость биомаркера.

Финальной целью идентификации таргетных белков является трансляция фундаментальных открытий в клиническую практику в формате валидированных диагностических или прогностических тест-систем. Биомаркеры, успешно прошедшие верификацию, служат основой для разработки иммуноферментного анализа (ИФА) и иных аналитических платформ, адаптированных для рутинного использования в лабораторной диагностике. Современная парадигма смещается от поиска единичных предикторов к формированию мультибелковых панелей, адекватно отражающих комплексную архитектуру патологических процессов. Следовательно, протеомика не только поставляет инновационный инструментарий для ранней диагностики и мониторинга, но и обеспечивает глубокую детерминацию молекулярных механизмов патогенеза, что является прекурсором реализации стратегий персонализированной медицины [Пальцев М.А., 2020; Шляхто Е.В., 2022]

Специфическими отраслями протеомного анализа являются фармако-, токсико-, иммуно- и нейропротеомика. Каждое из этих направлений фокусируется на профилировании белковых ансамблей в контексте узкоспециализиро-

ванных биологических процессов [Clayton T.A. et al., 2009; Джайн К.К., Шарипов К.О., 2020; Шарипов К.О., Гомазков О.А., 2021; Перфилова В.Н., 2024]:

– фармакопротеомика детерминирует молекулярные мишени, биохимические пути и компенсаторные механизмы действия лекарственных средств, что лежит в основе поиска и валидации биомаркеров, позволяя прогнозировать индивидуальную эффективность и подбирать персонализированные стратегии профилактики;

– токсикопротеомика верифицирует паттерны белкового ответа на воздействие ксенобиотиков и токсикантов, служит незаменимым инструментом для оценки рисков, безопасности новых соединений и установления биомаркеров экспозиции;

– иммунопротеомика исследует антигенные детерминанты и динамику иммунного протеома, открывая тем самым новые горизонты для персонализированной медицины;

– нейропротеомика направлена на экспликацию молекулярной архитектуры нервной системы, что позволяет не только идентифицировать ключевые белки, участвующие в синаптической передаче, нейропластичности и формировании нейронных сетей, но и детально охарактеризовать их количественные изменения и белок-белковые взаимодействия, лежащие в основе этиопатогенеза нейродегенеративных состояний.

Дифференциация этих дисциплин обеспечивает прецизионный подход к изучению сложных регуляторных сетей в соответствующих областях биомедицинской науки.

Протеомика в биологии развития эксплицирует динамику молекулярных паттернов, детерминирующих процессы эмбриогенеза и клеточной дифференцировки. Системный профилинг протеома на различных этапах онтогенеза и в дериватах зародышевых листков обеспечивает идентификацию ключевых регуляторов морфогенеза, верификацию их посттрансляционных модификаций (ПТМ), пространственной компартментализации и темпоральной изменчивости. Данный подход верифицирует комплексные белковые сети, координирующие пролиферацию, миграцию и специализацию клеток, а также раскрывает механизмы интеграции сигнальных каскадов и факторов роста в гисто- и органогенезе. Исследование протеомной динамики на модельных организмах и органоидах расширяет возможности этиологической расшифровки врожденных аномалий развития и проектирования биоинженерных конструктов для регенеративной медицины.

В противовес этому, протеомика старения фокусируется на молекулярном базисе возраст-ассоциированных изменений, обеспечивая глобальный анализ протеомных сдвигов в клетках и тканях на протяжении жизненного цикла. Этот вектор исследований выявляет специфические белковые сигнатуры старения, включая деградацию систем протеостаза, снижение активности митохондриального ферментативного аппарата, аккумуляцию окисленных и аберрантно свернутых протеинов, а также трансформацию профиля ПТМ. Анализ тканеспецифичных протеомных перестроек позволяет не только верифицировать

биомаркеры биологического возраста, но и дешифровать фундаментальные механизмы потери клеточного гомеостаза, метаболической дисфункции и системного воспаления (inflammaging), что открывает перспективы для разработки геропротекторных интервенций, направленных на увеличение периода здорового долголетия.

Интеграция нутригеномики и протеомики детерминирует новые векторы в экспликации молекулярных механизмов взаимодействия нутриентов с биологическими системами, обеспечивая системный анализ модуляции белковых сетей и клеточных функций компонентами рациона. Применение протеомных подходов позволяет верифицировать влияние специфических диетарных факторов на экспрессионный профиль и паттерны посттрансляционных модификаций (ПТМ) белков, регулирующих метаболический гомеостаз, воспалительный ответ и внутриклеточную сигнализацию. Данный интегративный анализ выявляет индивидуальные протеомные сигнатуры алиментарного ответа, что служит научным базисом для проектирования персонализированных нутрициологических стратегий профилактики заболеваний и дешифровки молекулярной этиологии алиментарно-зависимых патологий в контексте взаимосвязи рациона и здоровья.

Интеграция протеомики и эпигенетики формирует методологическую платформу для системного изучения регуляции геномной активности, где протеомный анализ верифицирует компонентный состав эпигенетических комплексов и их функциональную динамику. Данный подход сфокусирован на структурно-функциональной характеристике гистонов, их посттрансляционных модификаций (ПТМ) и идентификации белков, детерминирующих эпигенетический ландшафт хроматина. Подобная экспликация раскрывает механизмы влияния эпигенетических трансформаций и белковой экспрессии на архитектуру хроматина и доступность генетических локусов, что определяет клеточную идентичность и дифференцировку. Это критически важно для дешифровки процессов клеточного перепрограммирования и молекулярной этиологии заболеваний, связанных с эпигенетической дисрегуляцией.

Проведенный анализ верифицирует статус протеомики не только как самостоятельной дисциплины, но и как универсального интегративного инструмента, связывающего иерархические уровни биологической организации. Обеспечивая системную детерминацию и квантификацию ключевых белковых ансамблей, протеомика становится центральным звеном современной биомедицины, формируя конвергентные связи с фундаментальными (структурная биология, биология развития, эпигенетика) и прикладными (фармакология, нутрициология, поиск биомаркеров) областями наук о жизни. Данная методология обеспечивает:

– экспликацию связи генотипа с фенотипом, демонстрируя механизмы реализации генетической информации и влияние экзогенных факторов (нутриенты, ксенобиотики, фармакологические агенты) на молекулярно-клеточном уровне;

– синтез мультиомиксных данных, формируя когерентную биологическую картину, где протеомные профили обретают полную функциональную интер-

претацию в синергии с метаболомикой (метаболический статус), липидомикой (мембранные взаимодействия) и геномикой (первоисточник информации);

– методологический базис персонализированной медицины, позволяя идентифицировать индивидуальные протеомные сигнатуры и специфические мишени при широком спектре патологий.

Таким образом, протеомика выступает фундаментальным интегративным звеном в концептуализации моделей биологических систем, обеспечивая методологический базис для решения приоритетных задач современной биологии и трансляционной медицины.

5.2. Протеомный анализ как прикладной инструмент в гигиенических исследованиях

Современная гигиена переживает методологическую трансформацию, обусловленную интеграцией технологий «омиксных» наук, среди которых протеомные исследования занимают фундаментальное место. В отличие от традиционных гигиенических подходов, ориентированных на верификацию манифестных клинико-биохимических изменений, протеомный анализ позволяет эксплицировать молекулярные триггеры на уровне белков-эффекторов.

Практическая имплементация данного метода открывает новые горизонты для донозологической диагностики, прогностического моделирования и прецизионной оценки рисков, обеспечивая глубокую детерминацию механизмов воздействия факторов окружающей и производственной среды.

В данной главе фокус смещается на изучение протеомного ответа организма на воздействие иных детерминант: факторов производственной среды, алиментарной нагрузки и климатических условий.

Факторы производственной среды представляют собой комплекс физических, химических, биологических и психофизиологических детерминант, которые выступают в роли мощных регуляторных стимулов, оказывающих системное модифицирующее воздействие на протеомный профиль человека. Ключевые вредные производственные факторы – промышленные аэрозоли, токсичные вещества (растворители, тяжелые металлы и др.), шум, вибрация и хронический психоэмоциональный стресс – выступают в роли мощных регуляторных стимулов. Данные агенты инициируют каскады молекулярных ответов, индуцируя изменения генной экспрессии, паттернов посттрансляционных модификаций и функциональной активности белков. В частности, адаптивный ответ организма проявляется в гиперэкспрессии белков теплового шока (HSP), белков острой фазы воспаления, а также в модуляции активности ферментов биотрансформации и систем репарации ДНК.

Пролонгированная экспозиция неблагоприятных условий труда детерминирует стойкие протеомные сдвиги, которые утрачивают адаптивный характер и формируют патогенетический базис профессиональных и производственно обусловленных заболеваний. Так, у работников, подвергающихся воздействию

диоксида кремния, в протеоме сыворотки крови и легочной ткани верифицируется аккумуляция белков, ассоциированных с фиброгенезом [Горблянский Ю.Ю. и др., 2023]. При контакте с ароматическими углеводородами фиксируются специфические маркеры оксидативного стресса и цитолиза как предикторов производственно обусловленного атеросклероза [Метельская В.А., 2022]. Данные изменения носят селективный характер и служат основой для идентификации валидных биомаркеров профессионального риска и ранней диагностики патологий.

В конкретных исследованиях оценка негативных эффектов у работников предприятия горнорудной промышленности, подвергающихся воздействию металлов с воздухом рабочей зоны, выполнена на основе исследования белков-мишеней. Подземные горные работы характеризуются воздействием ряда специфических вредных и опасных факторов, включая воздействие пыли, химический и фракционный состав которой зависит от типа добываемой руды [Ушаков К.З. и др., 2002; Измеров Н.Ф., 2005]. Исследования показали, что дисперсионный состав пыли характеризуется присутствием частиц различного размера, в том числе ультрамелких (0,1–10 мкм). Такие частицы могут оказывать прямое отрицательное воздействие на критические органы и системы после перемещения частиц из легких в системный кровоток [Naota M. et al., 2009]. Способность частиц к перемещению обусловлена тем, что они приобретают слой абсорбированных белков с образованием уникальной короны, которая позволяет им преодолевать аэрогематический (воздушно-кровяной) барьер [Qiu J. et al., 2024]. После попадания в кровоток частицы достигают чувствительных рецепторов, расположенных в критических органах и системах, таких как печень, селезенка, сердце, почки, лимфатические узлы и головной мозг, а затем инициируют нарушения метаболических процессов на клеточно-молекулярном уровне [Liu X. et al., 2021; Qi Y. et al., 2022].

Методами химико-аналитического, протеомного, статистического и биоинформационного анализа проведена оценка воздействия металлов с воздухом рабочей зоны на работников подземной добычи медно-никелевых руд. Показано, что среднесменная экспозиция металлами на уровне до 0,2 мг/м^3 (до 4 ПДК) обуславливает повышение концентрации кобальта, хрома, никеля, меди и марганца в супернатанте крови работников группы наблюдения в 1,4–2,6 раза относительно аналогичных показателей группы сравнения [Зайцева Н.В. и др., 2025].

Идентификация в крови экспонированных работников твердых мелкодисперсных частиц, в том числе в ультрамелкой фракции (0,1-10 мкм), не обнаруженных в крови работников группы сравнения, и количественное определение в них кобальта, марганца, никеля, хрома, меди в концентрациях от 0,0003 до 0,006 мг/дм^3 свидетельствуют о преодолении частицами при контаминации с воздухом рабочей зоны многослойного альвеолярно-капиллярного барьера и поступлении их из альвеол легких в кровь (рис. 5.1).

Количественный анализ протеомных карт супернатанта крови выявил 46 белковых пятен, демонстрирующих различия интенсивности между группами

наблюдения и сравнения. Сравнительный анализ интенсивности указанных пятен позволил выявить значимые различия для 33 из них. Установлено увеличение синтеза в 1,1–26,3 раза для 15 белковых пятен (p = 0,000–0,021) и снижение в 1,2–38,8 раза для 18 пятен (p = 0,0001–0,033). Масс-спектрометрическая идентификация показала, что обнаруженные аминокислотные последовательности совпадают с 80 белками из банка библиотеки масс-спектральных данных ProteinPilot. Для 15 из 33 выявленных белковых пятен получены модели зависимости вероятности изменения интенсивности при одновременном повышении концентрации всех элементов (кобальта, хрома, никеля, меди и марганца) в супернатанте крови. Это позволило обосновать входящие в состав этих белковых пятен белки как индикаторные.

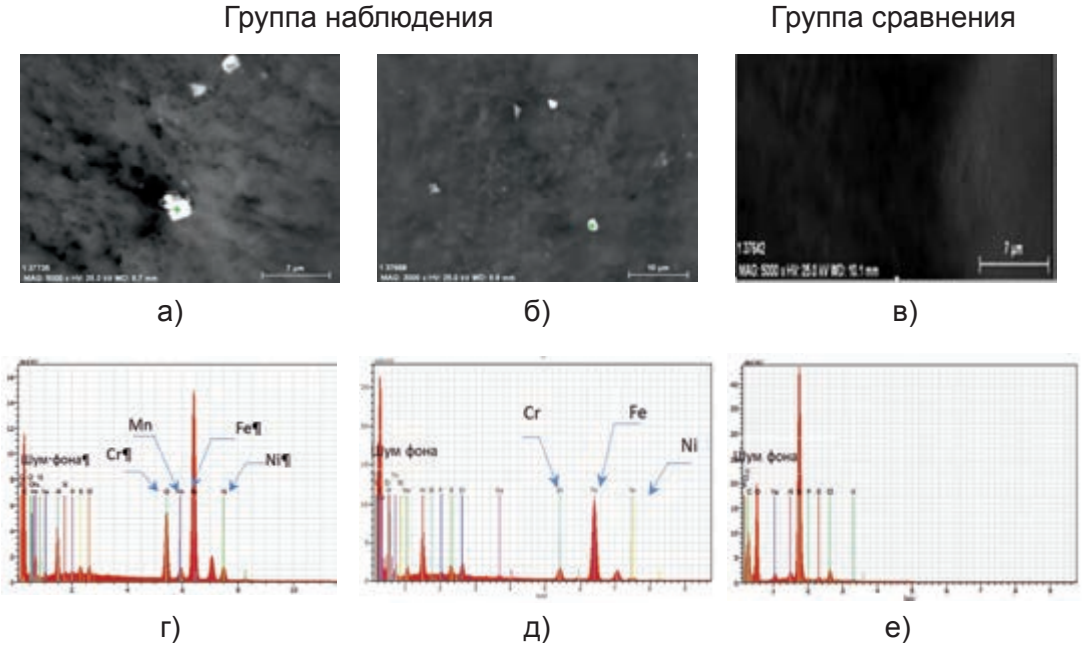


Рис. 5.1. Примеры твердых мелкодисперсных, в том числе ультратонких частиц, идентифицированных в крови работников подземной добычи при аэрогенной контаминации с воздухом рабочей зоны и группы сравнения:
а), б), в) изображение, полученное методом электронной микроскопии; г), д), е) химический состав частиц, полученный методом рентгеноспектрального анализа

Посредством биоинформационного анализа установлены гены, кодирующие выявленные индикаторные белки и ассоциированные с ними заболевания. Показано, что изменение экспрессии этих генов играет определенную роль в патогенезе негативных эффектов у работников с повышенным содержанием

изучаемых металлов в супернатанте, в первую очередь эффектов со стороны нервной (гены *MAP3K9, HLA-A, LDLR, LAMP2, AKT2, FNDC3B, FRRS1L, SPTBN4*) и сердечно-сосудистой (гены *MAP3K9, HLA-A, LDLR, LAMP2, HRH1*) систем, органов пищеварения (гены *LDLR, LAMP2, AKT2*). Инициация этих изменений определяет нарушения на молекулярно-клеточном уровне, показателем которых является изменение экспрессии выявленных белков-мишеней.

Установлена реализация профессиональных рисков здоровью работников в виде развития множественности негативных эффектов (ответов), адекватных органам и клеточно-молекулярным мишеням длительного воздействия изучаемых компонентов химической экспозиции с воздухом рабочей зоны (от 0,1 ПДКс.с. до 4 ПДКс.с.), обуславливающих контаминацию биосред. Об этом свидетельствует повышенная относительно группы сравнения (в 2,6 раза) частота выявления болезней опорно-двигательного аппарата в виде дорсопатии, радикулопатии и полиартроза (p = 0,0001–0,011). Подтверждена трансформацией белок-белковых взаимодействий (повышение экспрессии *MAP3K9, AKT2, SPTBN4*) тенденция к нарушению остеогенеза в сторону резорбции костной ткани (повышение тартрат-резистентной кислой фосфатазы в 1,2 раза, p = 0,004). Что обусловлено повышенным содержанием в крови марганца, хрома, кобальта (-0,56 ≤ b0 ≤ -7,11; 18,3 ≤ b1 ≤ 400,09; p = 0,0001).

Повышенная относительно группы сравнения (в 7,9 раза) частота выявления болезней нервной системы в виде полинейропатии (p = 0,0001) подтверждена трансформацией белок-белковых взаимодействий на молекулярно-клеточном уровне (повышение экспрессии белков *MAP3K9, HLA-A, LDLR, LAMP2, AKT2, FNDC3B, FRRS1L, SPTBN4*), дисбалансом нейромедиаторов (снижение адреналина, норадреналина и дофамина в сыворотке крови до 1,9 раза, p = 0,0001) и оксидантно-антиоксидантных процессов (повышение МДА и снижение общей антиоксидантной активности до 1,2 раза; p = 0,001–0,0045), обусловленных повышенным содержанием в крови хрома, марганца, меди и никеля (-0,14 ≤ b0 ≤-0,95; 1,42 ≤ b1 ≤ 81,55; p = 0,0001–0,002). Установлена повышенная относительно группы сравнения (в 3,7–4,2 раза) частота выявления нарушений обмена веществ, преимущественно в виде ожирения и избыточности питания (p = 0,031–0,032), болезней системы кровообращения в виде гипертензивной болезни (не выявлена в группе сравнения, p = 0,035). Это обусловлено выявленной трансформацией белок-белковых взаимодействий на молекулярно-клеточном уровне (повышение экспрессии белков *SPTBN4, MAP3K9, HLA-A, LDLR, LAMP2, HRH1*), дисбалансом метаболизма липидов (снижение уровня холестерина ЛПВП и липопротеина(а) до 2,1 раза, повышение индекса атерогенности и уровня VEGF до 1,5 раза, p = 0,0001–0,039), ассоциированных с повышенным содержанием в крови марганца, никеля и кобальта (-0,01 ≤ b0 ≤ -2,41; 36,96 ≤ b1 ≤ 303,04; p = 0,0001). Выявление болезней органов дыхания в 2 раза чаще (p = 0,032), преимущественно в виде бронхиальной астмы и аллергического ринита (не установлены в группе сравнения, p = 0,043–0,045), подтверждено развитием общей (повышение уров-

ня IgE общего, эозинофильно-лимфоцитарного индекса в крови до 1,3 раза, p = 0,029–0,049) и специфической сенсибилизации к марганцу, никелю, хрому, чувствительности к меди и кобальту (повышение уровня IgE и IgG специфических к данным металлам до 1,4 раза, p = 0,025–0,043), что обусловлено повышенным содержанием в крови марганца, меди, никеля, хрома, кобальта (-0,82 ≤ b0 ≤-4,57; 1,49 ≤ b1≤ 301,95; p = 0,0001–0,028).

Выявленные особенности уточняют элементы патогенетического механизма формирования негативных эффектов, модифицированного длительной комбинированной экспозицией меди, никеля, хрома, марганца и кобальта и характеризующегося индуцированием экспрессии белков, окислительной активностью, прямым цитотоксическим и иммунотоксическим действием на клеточно-молекулярные мишени. Идентифицированные белки-мишени участвуют в патогенезе окислительного стресса, метаболических и нейродегенеративных нарушений, что может играть ключевую роль в повышении частоты производственно-обусловленных заболеваний, связанных с воздействием металлов с воздухом рабочей зоны, у работников подземной добычи медно-никелевых руд (рис. 5.2).

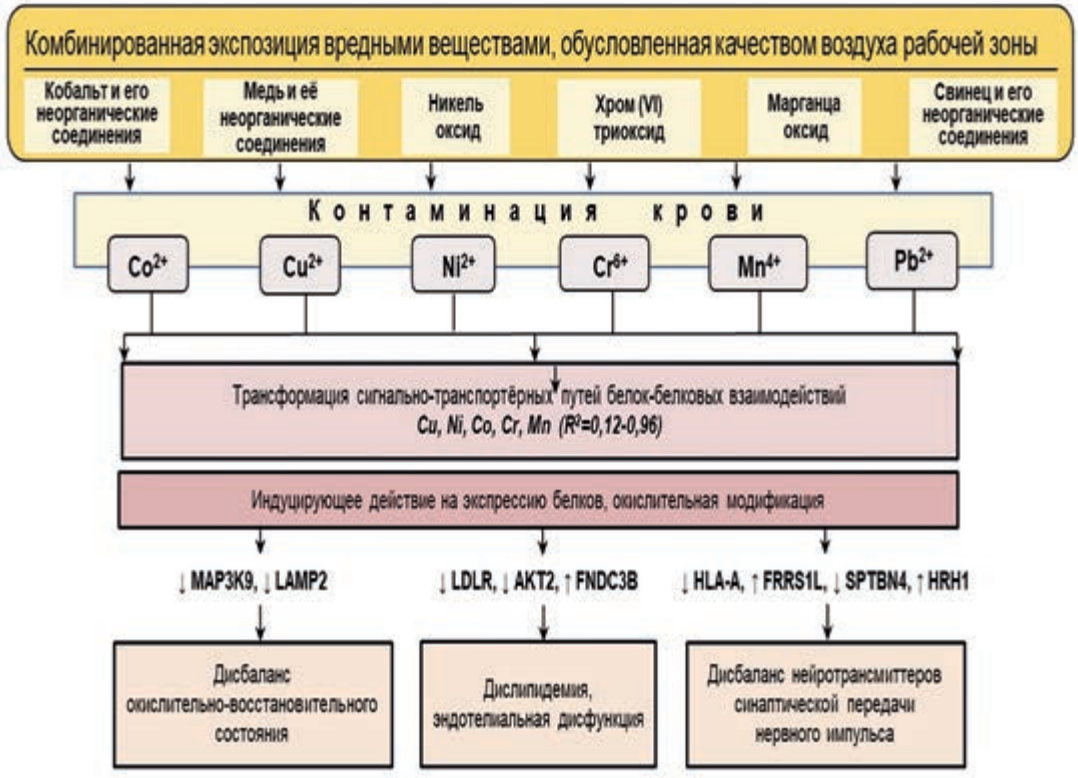


Рис. 5.2. Схема патогенетического механизма негативных эффектов у работников подземной добычи медно-никелевых руд

Исследование изменений экспрессии белков и пептидов необходимо для понимания физиологических процессов и нарушений баланса гомеостаза [Зайцева Н.В. и др., 2020]. Выявленные изменения белкового состава биосред (плазмы, сыворотки, мочи и т.д.) помогают изучить реакции молекулярно-динамического равновесия организма и механизмы возникновения и развития негативных эффектов при действии вредных и опасных факторов производственной среды, в том числе химических [Anderson N.L., Anderson N.G., 2002; Corzett T.H. et al., 2010]. Полученные результаты подчеркивают важность интеграции протеомного анализа в оценку воздействия металлов на работников подземной добычи медно-никелевых руд для раннего выявления изменений ключевых молекулярных точек и оценки механизмов развития неблагоприятных исходов с целью разработки мер ранней профилактики производственно-обусловленных заболеваний.

Алиментарный фактор выступает одним из наиболее мощных и динамичных экзогенных регуляторов протеомного профиля человека, оказывая модулирующее воздействие как на системном, так и на тканеспецифичном уровнях. Пищевые компоненты – макронутриенты (белки, липиды, углеводы), микроэлементы, витамины и биологически активные соединения (например, полифенолы) – функционируют в качестве сигнальных молекул и субстратов для биосинтеза и модификации белков [Armirotti A., Damonte G., 2010; Тутельян В.А. и др., 2020]. Они детерминируют экспрессию генов, процессы трансляции и паттерны посттрансляционных модификаций, включая фосфорилирование и гликирование [Васильев А.В., Шаранова Н.Э., 2013; Кирбаева Н.В. и др., 2014]. В частности, избыточная алиментарная нагрузка насыщенными жирными кислотами индуцирует протеомные сдвиги в гепатоцитах и сыворотке крови, характеризующиеся ростом концентрации белков воспалительного каскада (включая С-реактивный белок) и ферментов липогенеза [Салль Т.С. и др., 2021]. Напротив, омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты модулируют протеом в направлении противовоспалительного и кардиопротекторного статуса [Карамнова Н.С. и др., 2020].

Пролонгированный характер питания детерминирует устойчивые протеомные трансформации, выступающие патогенетическим базисом либо сохранения гомеостаза, либо инициации метаболических деструкций. Так, при ожирении и сахарном диабете 2-го типа верифицируется специфический протеомный паттерн: трансформация секреторного профиля адипоцитов (модуляция уровней лептина, адипонектина), рост концентрации белков острой фазы воспаления и активация молекулярных маркеров эндотелиальной дисфункции [Шевченко Е.А. и др., 2022]. Напротив, сбалансированный рацион с ограничением калорийности и превалированием растительных нутриентов ассоциирован с протективными сдвигами, включая оптимизацию протеомных сетей, ответственных за антиоксидантную защиту, репарацию ДНК и процессы аутофагии.

Развитие методических подходов к оптимизации питания в целях увеличения потенциала ожидаемой продолжительности жизни и периода здорового

долголетия базируется на анализе биоинформационных сигналов регуляторных систем организма человека [Зайцева Н.В. и др., 2024с]. Данный подход предполагает использование высокотехнологичного мониторинга протеомных и метаболомных маркеров для верификации индивидуального ответа на нутриентную нагрузку. На клеточно-молекулярном и органном уровнях детальная верификация механизмов дисрегуляции выполнена на модели избыточного потребления жиров и углеводов в условиях сочетанной техногенной контаминации биосред. Доказательная база сформирована по результатам углубленного обследования репрезентативной выборки (2430 человек: дети 4–7 лет и взрослые 21–48 лет из 5 регионов РФ). Комплексный диагностический протокол включал формирование протеомно-метаболомных карт плазмы крови (300 карт, более 6000 белковых пятен), анализ 30 биохимических показателей (79 200 определений) и верификацию содержания 18 ксенобиотиков в крови и моче, включая тяжелые металлы (Al, Cu, Mn, Ni, Cr, V, Co, Mo, As, Hg), фтор-ион и приоритетные органические поллютанты (бенз(а)пирен, фенол, ароматические углеводороды, акролеин – 5 200 определений). Результаты сопоставлены с данными клинико-функциональных исследований (свыше 1 500 верифицированных диагнозов по МКБ-10). Статистически значимые изменения экспрессии квантифицированных белков, ассоциированные с контаминацией биосред, были детерминированы и подтверждены в ходе серии натурных экспериментов на крысах линии Вистар (300 особей) при моделировании изолированной и комбинированной экспозиции факторов. Детализация закономерностей и молекулярных механизмов дисрегуляции жирового обмена в гепатоцитах при комбинированной экспозиции ксенобиотиками (натурное моделирование в дозах: Al_2O_3 и HF – 0,1 RfD, бенз(а)пирен – 2,2 RfD) позволила установить, что инициаторным звеном патогенеза является гиперэкспрессия аполипопротеина A1 (ApoA1) и транстиретина (TTR) [Зайцева Н.В. и др., 2024a]. Вследствие лиганд-рецепторного взаимодействия реализуется специфическое расщепление ApoA1, индуцированное окислительной модификацией токсикантами и протеолитической активностью TTR (рис. 5.3).

Данные конформационные изменения детерминируют каскад функциональных нарушений: блокируется сигналинг к биосинтезу липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), ингибируется лизосомальный эндоцитоз липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и активируется секреция проатерогенного липопротеина(а). Компенсаторный ответ организма проявляется в интенсификации синтеза билирубина как эндогенного антиоксиданта в ответ на индукцию оксидативного стресса. Расчетные прогностические модели показывают, что изолированная модуляция экспрессии всего двух белков-маркеров (ApoA1 и TTR) и сопряженные с ней метаболические сдвиги коррелируют с потерей ожидаемой продолжительности жизни (ОПЖ) в интервале 1,8 месяца. Верифицированные интегральные потери здоровья манифестируют в виде патогенетически значимых состояний: гипертонической болезни, ожирения и неалкогольной жировой болезни печени (стеатогепатоза).

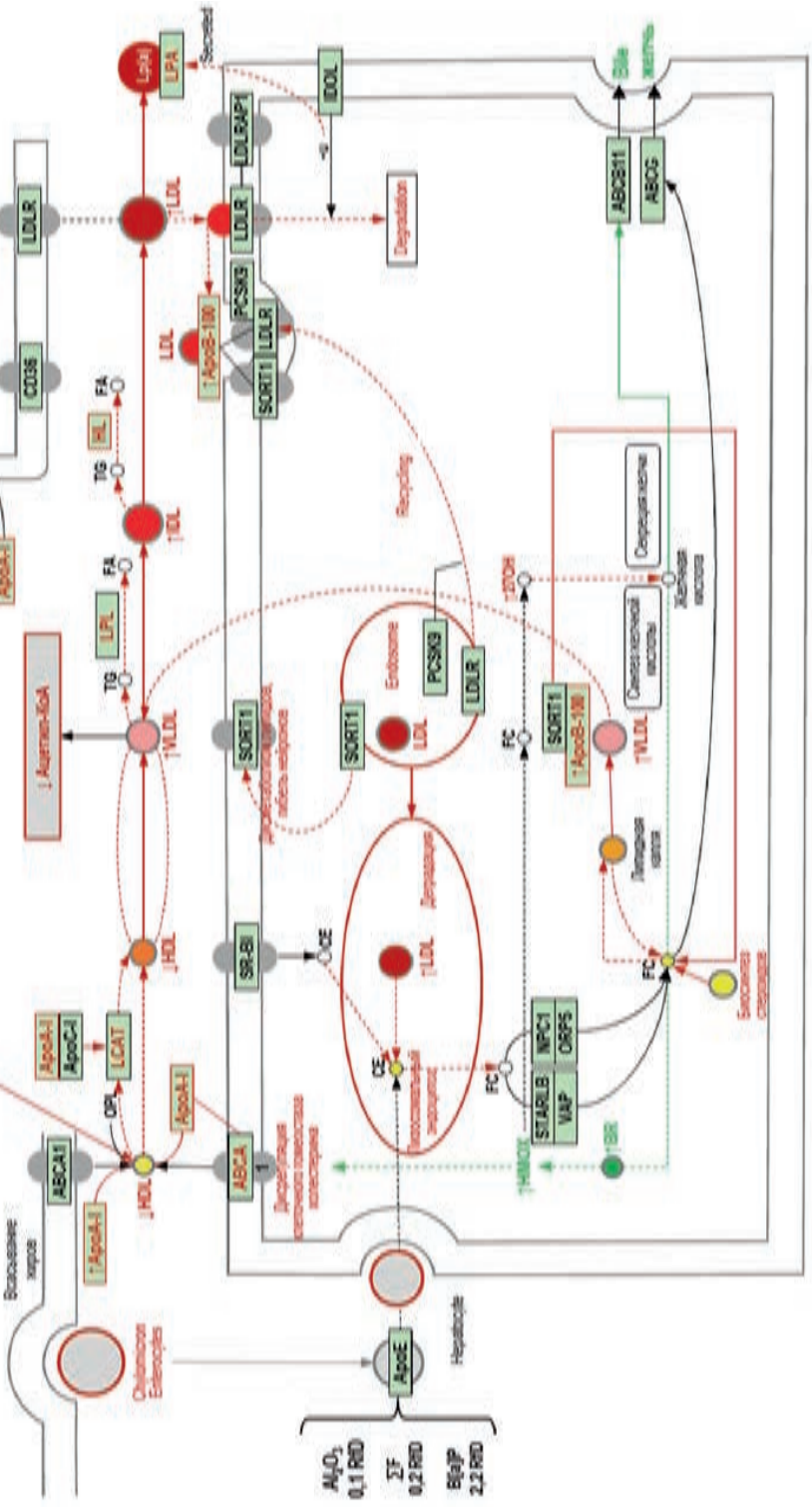


Рис. 5.3. Схема основных путей сигнальной трансдукции молекулярных событий при повышенной экспрессии аполипопротеина А1, обусловленной воздействием Al_2O_3, HF, B[a]P

Получены количественные оценки процессов кумуляции метаболических нарушений при дисрегуляции сигнальных путей, индуцированной избыточным содержанием липидов и углеводов в рационе. Моделирование метаболизма глюкозы с последующим синтезом жирных кислот и триглицеридов при участии молекул ацетил-КоА продемонстрировало, что нарушения, вызванные алиментарной гипергликемией и гиперинсулинемией, детерминируют сбои в каскадах сигнальной трансдукции. Ключевым эффекторным звеном выступает ацетил-КоА, интенсивность синтеза которого снижается, что провоцирует дисбаланс процессов ресинтеза глицерина, триглицеридов, жирных кислот и глюконеогенеза. Следствием данных метаболических сдвигов является ингибирование образования аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) как универсального донатора клеточной энергии в дыхательной цепи переноса электронов (рис. 5.4).

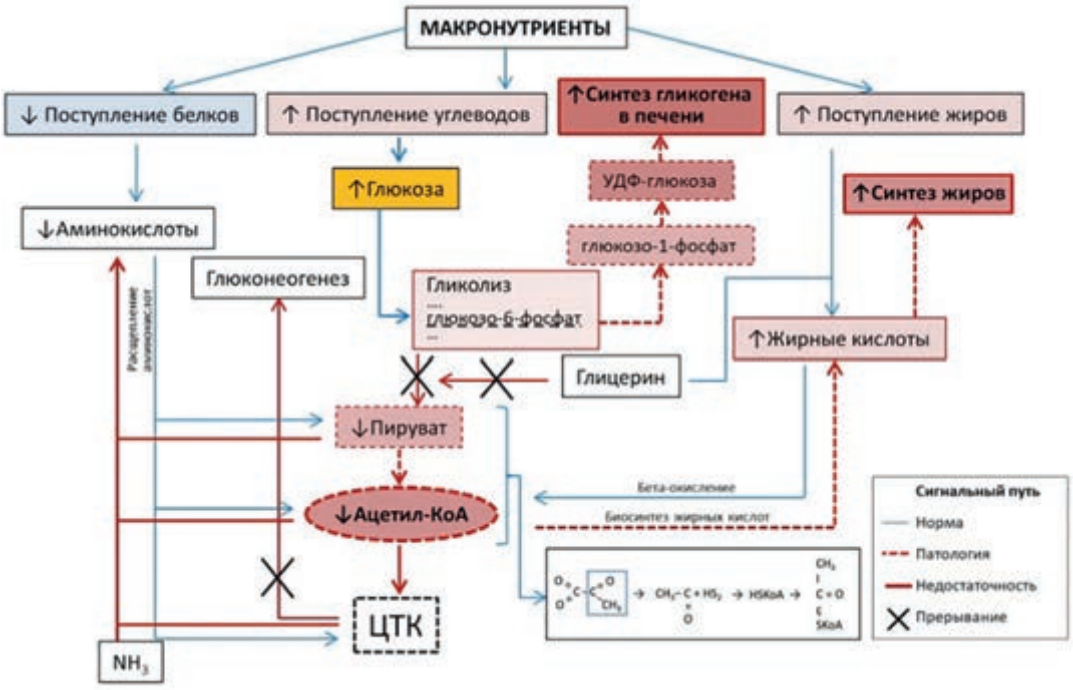


Рис. 5.4. Упрощенная схема дисрегуляции молекулярных событий при избыточном поступлении углеводов и жиров

Нарушение сигнально-транспортерных путей, регулирующих обмен глюкозы и жирных кислот, приводит к развитию негативных эффектов, подтверждением которых является установленное отклонение от физиологической нормы их основных биомаркеров (глюкозы, инсулина, триглицеридов, липопротеинов низкой плотности и др.) (рис. 5.5). Накопление в клетках гликогена и жиров может инициировать формирование избыточной массы тела и ожирения.

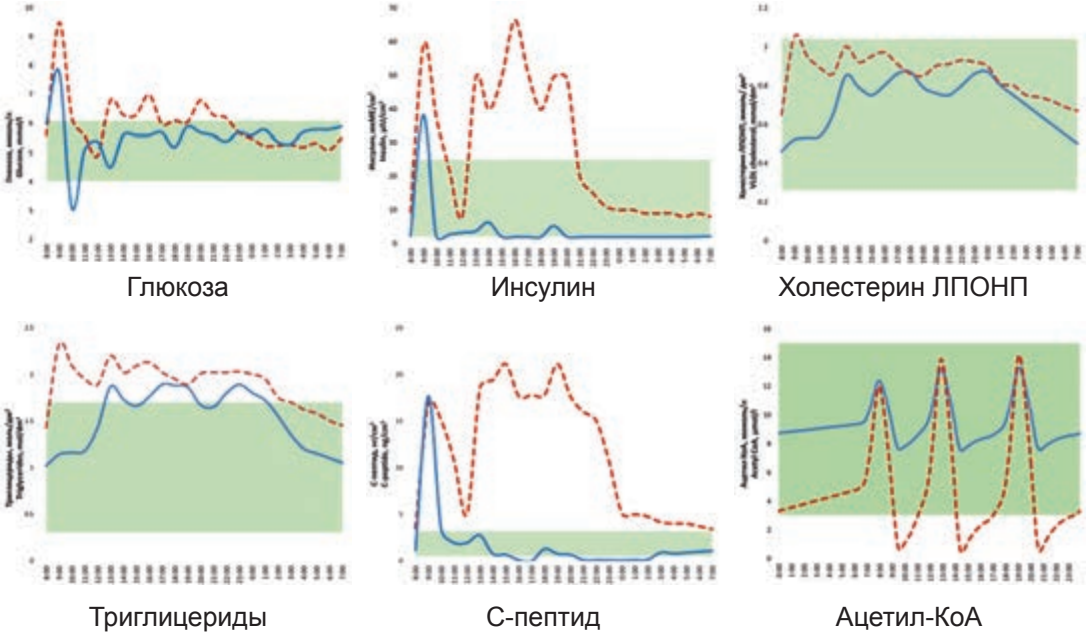


Рис. 5.5. Суточная динамика биомаркеров метаболизма глюкозы и холестерина при нарушении (красная линия) и без нарушения (синяя линия) углеводно-жирового обмена относительно физиологической нормы

На основе верифицированных патогенетических механизмов и идентифицированных эффекторных звеньев дисрегуляции сигнально-транспортных путей разработаны алгоритмы нутрициологической коррекции, направленные на нивелирование молекулярно-клеточных нарушений посредством включения в рацион специфических биологически активных соединений.

В частности, при ожирении, ассоциированном с дисфункцией эффекторного звена (гиперэкспрессией аполипопротеина А1 и транстиретина в условиях экзогенной контаминации биосред), стратегией коррекции является имплементация комплекса нутриентов, включающего аминокислоты (лейцин, аргинин), калий, кальций и эссенциальные жирные кислоты (содержатся в цельном молоке, арахисе, соевых бобах). При дефиците кофермента А и ацетил-кофермента А рекомендовано введение корректирующих субстратов: разветвленных аминокислот (лейцин, изолейцин, валин), витаминов группы В (В1, В2, В3, В5) и липоевой кислоты (натуральные источники: виноград, томаты, кресс-салат, авокадо, орехи, красный болгарский перец).

Климатические факторы выступают в роли системных экзогенных стрессоров, детерминирующих динамическую трансформацию протеомного профиля человека для поддержания гомеостаза. Ключевые параметры – температурный режим, гигрометрические показатели, интенсивность инсоляции

(преимущественно УФ-излучение), барометрическое давление и парциальное давление кислорода – инициируют комплекс адаптивных молекулярных каскадов. Так, экспозиция к условиям высокогорной гипоксии индуцирует устойчивые протеомные сдвиги в гемопоэтической и мышечной тканях, характеризующиеся гиперэкспрессией белков ангиогенеза и гемоглобина для оптимизации кислородного транспорта. Аналогично, температурный экстремум модулирует синтез белков теплового шока (HSP), обеспечивающих конформационную стабильность протеома и цитопротекцию.

Пролонгированное проживание в специфических климатогеографических зонах формирует характерные протеомные паттерны, обладающие как адаптивным, так и препатологическим потенциалом. Хроническая высокоинтенсивная УФ-инсоляция детерминирует кумуляцию фотоповрежденных протеинов в дермальных структурах, трансформируя локальный протеом и повышая риск фотостарения и неопластических процессов. Системный отклик на сезонную динамику светового дня манифестирует в перестройке протеомных сетей, регулирующих циркадные ритмы и метаболическую активность, что коррелирует с развитием сезонных аффективных расстройств. Данные изменения затрагивают фундаментальные регуляторные системы организма – иммунную, эндокринную и сердечно-сосудистую, определяя адаптационный ресурс человека.

Анализ протеомного профиля плазмы крови детей, проживающих в условиях воздействия субарктического климата, выявил специфические протеомные сигнатуры и белковые маркеры дезадаптации, связанные с хроническим воздействием холода [Зайцева Н.В. и др., 2023].

В условиях хронической экспозиции неблагоприятных факторов субарктического климата у детей суммарно идентифицировано порядка 30 белковых фракций, из которых 8 достоверно отличались по интенсивности белкового пятна от аналогичных показателей у детей контрольной группы (табл. 5.1). Верифицировано статистически значимое (p = 0,0003–0,001) снижение экспрессии протромбина (ген F2) в 4,5 раза, витронектина (ген VTN) в 5,4 раза и бета-субъединицы гемоглобина (ген HBB) в 6,5 раза. Дефицит продукции данных белков-эффекторов детерминирует риски нарушения каскада ферментативных реакций коагуляционного гемостаза [Celikel R. et al., 2003; Al-Nafie A.T. et al., 2022] и дисфункцию сосудисто-тромбоцитарного звена [Hazawa M. et al., 2012; Leavesley D.I. et al., 2013]. Кроме того, ингибирование экспрессии бета-глобина свидетельствует о нарушении эритропоэза и созревания эритроцитов, что провоцирует развитие тканевой гипоксии в условиях экстремально низких температур [Лычева Н.А. и др., 2014; Гармаева Д.К. и др., 2019]. Выявлено разнонаправленное изменение уровней аполипопротеинов в плазме крови: снижение аполипопротеина А1 (ген APOA1), аполипопротеина С-II (ген APOC2) до 1,5 раза и повышение аполипопротеина С-III (ген APOC3) до 2,0 раза (p = 0,0004–0,035).

Таблица 5.1

Результаты идентификации белков в плазме крови обследованных детей

Наименование белка	Интенсивность белкового пятна, int				Статистическая значимость различий между группами		Статистическая значимость различий, между группами $p \leq 0,05$
	Группа наблюдения		Группа контроля				
	$\bar{X}$(SEM)	SD	$\bar{X}$(SEM)	SD	U-критерий	Z-критерий	
β-субъединица гемоглобина	223,50 (149,69)	473,37	1447,90 (111,83)	353,64	4,000	-3,439	0,001
Аполипопротеин A-I	0,00 (0,00)	0,00	66,50 (27,17)	88,91	30,000	-2,110	0,035
Аполипопротеин C-III	3189,90 (165,72)	524,07	1663,41 (72,10)	228,00	3,000	3,515	0,0004
Аполипопротеин C-II	1504,50 (228,02)	721,07	2326,70 (130,46)	412,54	17,000	-2,457	0,014
Протромбин	387,30 (151,36)	478,64	1724,60 (20,93)	66,20	6,500	-3,250	0,001
Витронектин	340,4 (167,93)	531,04	1844,10 (63,03)	199,33	2,000	-3,591	0,0003
Транстиретин	2687,40 (329,60)	1042,30	1541,52 (87,26)	275,95	21,000	2,154	0,031
Сывороточный амилоидный белок A-1	711,60 (278,68)	881,26	61,80 (26,38)	196,00	21,000	2,154	0,031

В условиях холодного климата выявленные изменения свидетельствуют о нарушении регуляции обратного транспорта холестерина из периферических тканей в кровоток, что детерминирует рост атерогенных показателей липидного спектра (общий холестерин, триглицериды) [Dong M. et al., 2013; Горбунов М.М. и др., 2020]. У детей группы наблюдения зафиксировано выраженное повышение экспрессии амилоидного белка А-1 (ген SAA1) в 11,5 раза относительно контроля ($p = 0,031$). Кроме того, в протеомном профиле плазмы эксклюзивно идентифицированы амилоидный белок А-2 (ген SAA2) и P2Y-пуринорецептор 12 (ген P2RY12), отсутствующие в контрольной группе.

Склонность амилоидных белков А-1 и А-2 к формированию нерастворимых фибриллярных депозитов в интерстиции [Sipe J.D. et al., 2016] в сочетании с вазоконстрикторным действием рецептора P2RY12 [Сафиулина Э.И. и др., 2018] создает условия для повреждения эндотелия. Кумуляция липопротеинов и экспрессия данных адгезивных молекул инициируют инфильтрацию моноцитов и тромбоцитов в субэндотелиальное пространство, что является триггером прогрессирующей эндотелиальной дисфункции [Литвицкий П.Ф., 2012].

Известно, что гипотермическое воздействие инициирует активацию нейроэндокринной системы, что коррелирует с верифицированным у детей группы наблюдения повышением уровня транстиретина (ген TTR) в 1,7 раза относительно контроля (p = 0,031). В современной литературе роль транстиретина интерпретируется амбивалентно. С одной стороны, гиперэкспрессия данного белка сопряжена с риском формирования нерастворимых фибриллярных депозитов в межклеточном матриксе [Li X., Buxbaum J.N., 2011; Сафиулина Э.И. и др., 2018]. С другой стороны, транстиретин рассматривается как компонент системы пептидной нейропротекции: через ретинол-тироксин-опосредованные механизмы он способствует поддержанию синаптической пластичности и стимуляции нейрогенеза [Вьюнова Т.В. и др., 2016], что может являться важным звеном адаптации нервной системы к экстремальным климатическим условиям.

Оценка относительного риска (показатель отношения шансов, OR) позволил количественно верифицировать детерминированную связь между экспозицией к экстремальным факторам субарктического климата и критической модификацией протеомного профиля. У детей группы наблюдения, в сравнении с контрольной группой, вероятность гиперэкспрессии аполипопротеина C-III и транстиретина выше в 13,5 раза, что указывает на высокую вероятность нарушения липидного обмена и инициации амилоидогенеза. Одновременно с этим риски дефицитарных состояний возрастают многократно: вероятность снижения продукции протромбина выше в 21,0 раза, витронектина – в 13,5 раза, а β-субъединицы гемоглобина – в 36,0 раза. Установленные связи детерминируют риски гипокоагуляционных состояний, ограничения регуляции процессов фибринолиза и клеточной адгезии, развития системной тканевой гипоксии. В целом, данные количественные показатели верифицируют глубину молекулярной дезадаптации систем гемостаза и гемопоэза в условиях экстремально низких температур (табл. 5.2).

Прогнозируемые негативные эффекты у обследуемых детей корреспондируют с результатами фундаментальных научных исследований, верифицирующих трансформацию адаптивных механизмов под влиянием экстремальных климатических факторов Крайнего Севера [Поскотинова Л.В., 2010; Лычева Н.А. и др., 2014; Солонин Ю.Г., Бойко Е.Р., 2017; Чащин В.П. и др., 2017; Гармаева Д.К. и др., 2019; Горбунов М.М. и др., 2020].

Факторы образовательного процесса, выступающие в роли комплексного когнитивного и психосоциального стрессора, оказывают системное воздействие на нейробиологический гомеостаз [Slimmen S. et al., 2022; Фомина Т.Г. и др., 2024], что детерминирует трансформацию протеомного профиля индивида. Интенсивная интеллектуальная нагрузка, связанная с процессами когнитивной обработки и долговременной консолидации информации, а также динамика психосоциальных взаимодействий активируют специфические молекулярные каскады в ЦНС. Ключевыми детерминантами данных изменений являются белки синаптической пластичности, нейромедиаторные комплексы и системы клеточного энергообмена. Пролонгированный учебный стресс

способен индуцировать системный протеомный сдвиг в периферических биосредах (слюна, кровь), характеризующийся ростом уровней провоспалительных маркеров и стресс-лимитирующих белков.

Таблица 5.2

Относительный риск изменения уровня идентифицированных белков плазмы крови с воздействием экстремальных факторов субарктического климата

Протеомные маркеры прогнозируемого негативного эффекта	Группа детей	Ответ на воздействие		Отношение шансов (OR)	Доверительный интервал 95 % (CI), p < 0,05
		есть	нет		
Нарушение регуляции транспорта холестерина					
Снижение аполипопротеина A-I	группа наблюдения	9	1	1,00	0,25-6,75
	контрольная группа	1	9		
Повышение аполипопротеина C-III	группа наблюдения	6	4	13,50	1,20-152,22
	контрольная группа	1	9		
Снижение аполипопротеина C-II	группа наблюдения	3	7	3,86	0,33-45,57
	контрольная группа	1	9		
Нарушения в системе свертывания крови					
Снижение протромбина	группа наблюдения	7	3	21,0	1,78-248,11
	контрольная группа	1	9		
Снижение витронектина	группа наблюдения	6	4	13,50	1,20-152,22
	контрольная группа	1	9		
Снижение развития зрелых форм эритроцитов					
Снижение β-субъединицы гемоглобина	группа наблюдения	8	2	36,00	2,72-476,30
	контрольная группа	1	9		
Отложение в интерстиции упорядоченных нерастворимых фибрилл амилоида					
Повышение транстиретина	группа наблюдения	6	4	13,50	1,20-152,22
	контрольная группа	1	9		
Повышение сывороточного амилоидного белка A-1	группа наблюдения	2	8	2,25	0,17-29,77
	контрольная группа	1	9		

Сочетанное воздействие аэрогенного химического фактора и факторов образовательной среды способно потенцировать модификацию протеомного профиля, вызывая синергический эффект. Подобная детерминированная нагрузка расширяет спектр омик-маркеров нейротоксичности, отражая углубление патологических изменений со стороны центральной нервной системы у детей, подвергающихся комплексной экспозиции [Землянова М.А. и др., 2020].

В углубленном исследовании при гигиенической оценке атмосферного воздуха и воздушной среды учебных помещений показано, что качество ат-

мосферного воздуха на территории общеобразовательной организации с программой обучения физкультурно-спортивного направления относительно территории с размещением образовательной организации со стандартной системой обучения характеризуется превышением среднесуточных предельно допустимых концентраций по фенолу до 1,3 ПДКс.с. В воздухе учебных помещений установлено превышение содержания формальдегида до 1,2 ПДКс.с. и фенола до 1,1 ПДКс.с. Превышений ПДКс.с. в анализируемых объектах окружающей среды по формальдегиду, никелю и хрому не зафиксировано. Концентрации бензола, м-ксилола, марганца и свинца находились ниже предела обнаружения используемых аналитических методов. Содержание никеля и хрома в атмосферном воздухе селитебной территории также не превышало порога чувствительности. Ввиду отсутствия законодательно утвержденных среднесуточных нормативов (ПДКс.с.) для толуола, о- и п-ксилолов проведение сравнительной оценки их уровней не представлялось возможным.

Химико-аналитическая индикация содержания токсикантов в биосредах выявила достоверное накопление металлов и органических соединений в крови детей группы наблюдения. Концентрации марганца, никеля, свинца и хрома в 1,2–2,4 раза превышали показатели группы сравнения (p = 0,0001–0,021). Также зафиксирована значимая кумуляция ароматических углеводородов (бензола, фенола, изомеров ксилола), уровни которых в 1,2–1,5 раза превосходили контрольные значения (p = 0,0001–0,037). Из 11 проанализированных химических веществ статистически значимые зависимости установлены для фенола. Построены адекватные регрессионные модели связи его содержания в крови с концентрацией в атмосферном воздухе (R^2 = 0,17; p = 0,0001; y = 0,007+1,096x) и в воздухе учебных помещений (R^2 = 0,17; p = 0,0001; y = 0,006+1,4318x). Область определения моделей составила [0,00001; 0,0071] мг/дм^3. На основании полученных данных концентрация фенола в крови, превышающая 0,014 мг/дм^3, верифицирована в качестве биомаркера ингаляционной экспозиции.

Гигиеническая оценка факторов образовательного процесса на соответствие регламентам СанПиН 2.4.2.2821-10 (или актуальных СанПиН 1.2.3685-21) выявила нарушения по 5 из 13 изученных параметров учебной нагрузки в группе наблюдения. Установлено несоблюдение нормативов по равномерности распределения нагрузки в течение учебного дня и недели, максимальному объему аудиторной нагрузки, длительности межзанятийных перерывов и регламентам использования технических средств обучения. Анализ структуры учебного плана показал нерациональное распределение усилий: пик когнитивной нагрузки в группе наблюдения приходится на понедельник при необоснованном снижении интенсивности обучения во вторник и среду. Выявленные нарушения характеризуются нерациональным распределением учебной нагрузки в течение недели и превышением её максимально допустимого недельного объема (п. 10.11 СанПиН 2.4.2.2821-10). В нарушение требований к расписанию уроков (п. 10.8), наиболее энергозатратные предметы (математика, русский язык) у обучающихся 1-х классов выносятся на оптимальный по продуктивности второй урок только в пятницу; в остальные дни данные

дисциплины распределяются между первым и третьим уроками. Кроме того, установлена недостаточная длительность перерыва между основными и факультативными занятиями: в группе наблюдения она составила 20–30 минут, что существенно ниже регламентированного минимума в 45 минут (п. 10.6) [Валина С.Л. и др., 2019].

Оценка использования технических средств обучения (ТСО) выявила частичное несоблюдение гигиенических регламентов в параллели 4-х классов. Из 23 проанализированных учебных занятий на 13 уроках применение визуальных средств (статических и динамических изображений) соответствовало нормам, тогда как на 2 уроках зафиксирована избыточная экспозиция (18–20 минут), что является нарушением п. 10.18 СанПиН 2.4.2.2821-10. В 1-х классах организация учебного процесса характеризовалась более рациональным использованием ТСО: из 21 урока работа с медиасредствами проводилась на 8 занятиях, при этом длительность демонстрации презентаций не превышала регламентированных 10 минут, что полностью соответствует гигиеническим требованиям.

В группе сравнения организация образовательного процесса в целом характеризовалась соблюдением гигиенических нормативов. Исключение составили единичные несоответствия требованиям СанПиН 2.4.2.2821-10, связанные с сокращением длительности малых перемен и межсменных интервалов, а также эпизодическим нерациональным использованием технических средств обучения в 1-х классах. По остальным изученным параметрам учебная нагрузка и режим занятий в данной группе соответствовали регламентированным значениям.

Комплексная оценка напряженности учебной деятельности по критериям ФР РОШУМЗ-16-2015 в обеих группах (наблюдения и сравнения) выявила идентичную структуру распределения нагрузок. Установлено, что в 1-х и 4-х классах сенсорные и эмоциональные компоненты обучения соответствуют оптимальному классу (1 класс). Интеллектуальные нагрузки, показатели монотонности и общий режим работы классифицированы как допустимые (2 класс). При этом в первых классах группы наблюдения зафиксирован более низкий (в 1,5 раза) уровень монотонности нагрузок (1,8 ± 0,1 у.е. против 2,01 ± 0,1 у.е. в группе сравнения, p = 0,0001), тогда как напряженность режима работы (2,3 ± 0,1 у.е.) оказалась в 1,5 раза выше контроля (p = 0,0001). В четвертых классах группы наблюдения отмечена иная тенденция: показатели эмоциональных нагрузок (1,4 ± 0,1 у.е.), их монотонности (2,1 ± 0,1 у.е.) и режима работы (2,3 ± 0,1 у.е.) в 1,2–1,5 раза превышали аналогичные параметры в группе сравнения (p = 0,0001). При этом уровень интеллектуальных нагрузок в четвертых классах группы наблюдения (2,3 ± 0,1 у.е.) в 1,2 раза ниже относительно группы сравнения (p = 0,0001). На основании достоверных различий между показателями в первых и четвертых классах группы наблюдения и сравнения интеллектуальные и эмоциональные нагрузки, их монотонность и режим работы обоснованы в качестве маркерных показателей учебного процесса.

Сравнительный анализ протеомного профиля плазмы крови выявил статистически значимые различия в относительном объеме белковых фракций

(«пятен») у детей группы наблюдения и группы сравнения. Идентификация дифференциально экспрессируемых белков в сочетании с регрессионным моделированием зависимости «фенол в воздухе – фенол в крови» позволила верифицировать специфический биомаркер ответа. С помощью масс-спектрометрического анализа в составе выявленных протеомных фракций идентифицирован пептид, принадлежащий ингибитору сериновой протеазы Kazal-типа 5 (SPINK5). Данный белок выполняет ключевую роль в регуляции протеолиза, обеспечивая баланс между процессами нейропластичности и защитой нейронов. Выявленная модуляция экспрессии SPINK5 может свидетельствовать о нарушении механизмов синаптической передачи и инициации дегенеративных процессов в тканях головного мозга под воздействием сочетанных факторов [Lee T.W. et al., 2008; Tripathi L.P., Sowdhamini R., 2008; Almonte A.G., Sweatt J.D., 2011; Pamirsky E.E. et al., 2012].

Идентифицированный белок кодируется геном SPINK5 (уникальный идентификатор в базе данных UniProt/Swiss-Prot – Q9NQ38). С помощью построения многофакторных регрессионных моделей верифицирована прямая причинно-следственная связь между увеличением относительной массы пептида ингибитора сериновой протеазы Kazal-типа 5 и комплексом факторов. Установлено, что рост экспрессии данного биомаркера детерминирован повышенной концентрацией фенола в крови, а также нерациональными параметрами образовательного процесса: избыточными интеллектуальными нагрузками, нарушением режима работы и неравномерным распределением учебной нагрузки в течение дня и недели (R^2 = 0,79; b_0 = -4155,49; b_1 = 1386,34; b_2 = 21096,68; b_3 = 76,71; b_4 = 76,71; b_5 = 389,28; b_6 = 155,68; p = 0,0001).

Таким образом, в условиях сочетанного воздействия хронической аэрогенной экспозиции фенола и нерациональных факторов образовательной среды (интенсивные интеллектуальные нагрузки, дефицит времени, нарушение режима занятий) формируются специфические протеомные сдвиги. Выявленные изменения протеома могут детерминировать нарушение процессов регенерации аксонов и модулировать экспрессию генов, ответственных за физиологический гомеостаз нейронов. Данные молекулярные перестройки рассматриваются как прогностически неблагоприятные предикторы развития функциональных расстройств нервной системы, включая риски формирования вегетативной дисфункции (ВСД) в последующие возрастные периоды. Анализ функционального профиля идентифицированных белков-маркеров позволяет обосновать принципы построения превентивных мер, направленных на минимизацию негативных эффектов и предупреждение развития дополнительных случаев заболеваний у детей.

Установленные закономерности подтверждают, что факторы производственной среды, алиментарный фактор, экстремальные факторы субарктического климата, факторы образовательного процесса инициируют глубокую перестройку гомеостатических систем, выходящую за рамки физиологической нормы и формирующую основу для развития риск-ассоциированной патологии в детском возрасте.

5.3. Сопоставительный анализ результатов экспериментального моделирования и натурных наблюдений

Сопоставительный анализ результатов экспериментального моделирования и натурных наблюдений является фундаментальным методологическим приемом, позволяющим объективно верифицировать причинно-следственные связи в системе «фактор среды – молекулярный ответ».

Экспериментальные исследования обеспечивают детерминацию детальных молекулярных механизмов, демонстрируя селективное воздействие конкретных токсикантов на экспрессионный профиль, конформационную структуру и функциональную активность белков-мишеней [Verma N et al., 2012; Пескова Е.В. и др., 2024, 2025].

В свою очередь, натурные исследования, базирующиеся на анализе протеома биологических сред (плазмы крови, мочи) реально экспонированных лиц, позволяют идентифицировать интегральные и пролонгированные изменения. Данные сдвиги отражают динамику компенсаторных реакций организма, развитие системного хронического воспаления и формирование ранних биомаркеров патологических состояний. Синергия этих подходов обеспечивает высокую достоверность гигиенических прогнозов и позволяет верифицировать причинно-следственные связи между техногенной нагрузкой и молекулярным ответом биологической системы [Землянова М.А. и др., 2022].

Сопоставление данных двух типов исследований выявляет как конвергентные, так и дивергентные паттерны. Конвергенция (совпадение ключевых измененных белков или путей, например, в окислительном стрессе или воспалительном ответе) подтверждает релевантность экспериментальных моделей для человека и позволяет валидировать потенциальные биомаркеры риска. Дивергенция часто обусловлена сложностью реальной экспозиции (действие смесей веществ), индивидуальными особенностями (генетика, образ жизни) и длительным латентным периодом развития эффектов, что трудно полностью смоделировать в эксперименте. Следовательно, натурные исследования корректируют и дополняют экспериментальные данные, выявляя наиболее устойчивые и клинически значимые протеомные сдвиги. Такой подход позволяет не только глубже понять патогенез химически индуцированных заболеваний, но и разработать основанные на протеомных биомаркерах панели для ранней диагностики и мониторинга здоровья групп риска, обеспечивая переход от констатации воздействия к превентивной оценке его индивидуальных последствий.

Реализована попытка прогностической оценки негативных эффектов на организменном уровне при аэрогенной экспозиции оксидом алюминия (Al_2O_3). Методология базировалась на интеграции данных об изменении белковой экспрессии (молекулярный уровень), модуляции биохимических органно-специфических показателей (клеточный уровень) и трансформации морфологии тканей (тканевый уровень). Достоверность прогноза обеспечена итерационным сопоставительным анализом результатов, полученных в контролируемом эксперименте и в ходе натурных обследований экспонированного населения [Зайцева Н.В. и др., 2024b].

На примере аэрогенной экспозиции Al_2O_3 показано, что воздействие в диапазоне концентраций 0,1–1RfC детерминирует накопление алюминия в биосредах: средняя концентрация алюминия в моче экспонированных детей 3–6 лет составила 0,008 ± 0,002 мг/дм³, что в 2 раза превышает показатели группы сравнения с отсутствием экспозиции (0,004 ± 0,001 мг/дм³; p = 0,004) и в 1,2 раза – референтный уровень (p = 0,0001). Релевантность данных подтверждена в эксперименте: концентрация алюминия в моче крыс опытной группы составила 0,057 ± 0,029 мг/дм³, что в 3,5 раза выше контрольных значений (p = 0,008). Сравнительный анализ протеомных профилей плазмы крови детей позволил идентифицировать 23 статистически значимых белковых пятна (p = 0,000–0,009). Из них для 8 протеинов верифицированы достоверные причинно-следственные связи между изменением интенсивности экспрессии и ростом концентрации алюминия в моче (R^2 = 0,12–0,21; p = 0,006–0,045). Это подтверждает роль данных белков как специфических молекулярных маркеров экспозиции алюминием (табл. 5.3).

Сопоставительный анализ протеомных карт плазмы крови модельных организмов (крысы линии Wistar) позволил выявить достоверные различия интенсивности 15 белковых пятен между группами опыта и контроля (p = 0,0001–0,001). Получены зависимости увеличения интенсивности 13 белковых пятен с повышением концентрации алюминия в моче (R^2 = 0,44–0,76; p = 0,001–0,038) (табл. 5.4).

На основании сопоставительного анализа результатов натурных (обследование людей) и экспериментальных (биологическая модель) протеомных исследований выделено два тождественных белка – аполипопротеин A-I и транстиретин. Их экспрессия достоверно увеличивается при повышении концентрации алюминия в моче, как в натурных, так и в экспериментальных условиях (R^2 = 0,17–0,56; p = 0,006–0,017).

Согласно сведениям из международных баз данных, аполипопротеин A-I и транстиретин рассматриваются как ключевые предикторы патологических изменений в тканях печени, головного мозга и сердечно-сосудистой системы, инициируемых избыточной экспозицией алюминия. Это подтверждает, что обнаруженные изменения – не просто случайная корреляция, а индикатор системного патологического процесса. Алюминий обладает способностью инициировать окислительный стресс и нарушать белковый фолдинг, что напрямую затрагивает функции выделенных белков. Связь с указанными органами объясняется следующим:

– печень: место основного синтеза ApoA-I и транстиретина; накопление алюминия здесь нарушает липидный обмен;

– головной мозг: транстиретин участвует в транспорте тироидных гормонов и клиренсе бета-амилоид, его дисбаланс при воздействии алюминия часто рассматривается в контексте нейродегенерации;

– сердце и сосуды: ApoA-I отвечает за «хороший» холестерин; его модификация под влиянием алюминия может ускорять развитие атеросклероза и эндотелиальной дисфункции.

Эти данные позволяют обосновать патогенетическую значимость выделенных маркеров.

Таблица 5.3

Интенсивность белковых пятен плазмы крови детей и параметры моделей зависимостей их изменения с повышением концентрации алюминия в моче

Среднее значение интенсивности белковых пятен (M±SD), int.		Характеристика моделей					Наименование белка, входящего в пятно	Ген человека, кодирующий белок
		Параметры модели		Критерий Фишера, (F)	Коэффициент детерминации (R^2)	Статистическая значимость, $p \le 0,05$		
Группа наблюдения	Группа сравнения	b_0	b_1					
1891±56 p = 0,0001	2834±136	2487,5	-50551,9	7,75	0,19	0,009	Band4.1-подобный белок 3	EPB41L3
2351±162 p = 0,0001	1448±253	1725,4	59717,1	6,31	0,16	0,017	Бета субъединица гемоглобина	HBB
2435±148 p = 0,0001	1248±14	1630,0	71959,8	8,67	0,21	0,006	Аполипопротеин A-I	APOA1
1807±78 p = 0,0001	101±24	747,0	88351,0	7,75	0,19	0,009	Кельч-подобный белок 4	KLHL4
1715±123 p = 0,0001	73±18	741,3	77908,2	5,81	0,15	0,022	Транспортный холинопободобный белок 3	SLC44A3
3967±189 p = 0,0001	2344±300	2917,6	90433,3	6,78	0,17	0,014	Транстиретин	TTR
1639±157 p = 0,0001	100±27	763,4	67280,2	4,36	0,12	0,045	Тирозин-протеин-фосфатазный рецептор типа 14	PTPN14
2362±154 p = 0,0001	62±17	1070,9	97891,3	4,63	0,12	0,039	Сывороточный амилоидный белок A-1	SAA1

Таблица 5.4

Интенсивность белковых пятен плазмы крови экспериментальных животных (крысы линии Wistar) и параметры моделей зависимостей их изменения с повышением концентрации алюминия в моче

Среднее значение интенсивности белковых пятен (M±SD), int.		Характеристика моделей					Наименование белка, входящего в пятно	Ген крысы, кодирующий белок
		Параметры модели		Критерий Фишера (F)	Коэффициент детерминации (R^2)	Статистическая значимость, $p \le 0,05$		
Опытная группа	Контрольная группа	b_0	b_1					
4256±1054 p = 0,0001	1115±362	622	56542,1	25,92	0,76	0,001	Альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1	Aldh1a7
4112±223 p = 0,0001	1796±135	1622,3	36488,6	15,05	0,65	0,005	Пумилио гомолог 3	Pum3
3952±143 p = 0,0001	2353±460	2371,2	21405,5	6,19	0,44	0,038	Тенеурин-2	Tenm2
3925±283 p = 0,0001	1436±184	1346,2	36556,9	10,37	0,56	0,012	Аполипопротеин A-I	Apoa1
2451±46 p = 0,0001	114±24	12,8	34789,9	11,32	0,59	0,010	Фактор элонгации 1-γ	Eef1g
2351±251 p=0,0001	122±31	-24,9	34557,6	13,53	0,63	0,006	Кератин, тип II цитоскелета 5	Krt5
1774±61 p=0,0001	94±23	47,1	24301,9	9,81	0,55	0,014	Белок SEC22b, транспортирующий везикулы	Sec22b
2671±413 p = 0,001	1785±239	1709,6	14210,2	8,93	0,53	0,017	Транстиретин	Ttr
1911±186 p = 0,0001	212±59	194,1	23757,3	40,96	0,48	0,027	Актин-связывающий Rho-активирующий белок	Abra
1962±39 p = 0,001	466±135	380,2	22845,1	6,79	0,46	0,031	Пумилио гомолог 3	Pum3
1870±90 p = 0.0001	123±34	63,9	25549,9	10,20	0,56	0,013	Тенеурин-2	Tenm2
1464±76 p = 0,0001	114±24	66,9	19782,9	10,06	0,56	0,013	Фактор элонгации 1-γ	Eef1g
1763±82 p = 0,0001	156±42	116,5	23102,5	8,8	0,52	0,018	Нейросекреторный белок VGF	Vgf

При оценке биохимических показателей у детей группы наблюдения относительно сравнения установлено повышение активности АЛАТ и уровня общего билирубина в сыворотке крови (p = 0,012–0,026). Доказана связь повышения активности общего билирубина с увеличением концентрации алюминия в моче (R^2 = 0,31; p = 0,0001) (табл. 5.5).

Таблица 5.5

Биохимические показатели сыворотки крови у экспонированных детей 3–6 лет и экспериментальных животных (крысы линии Wistar)

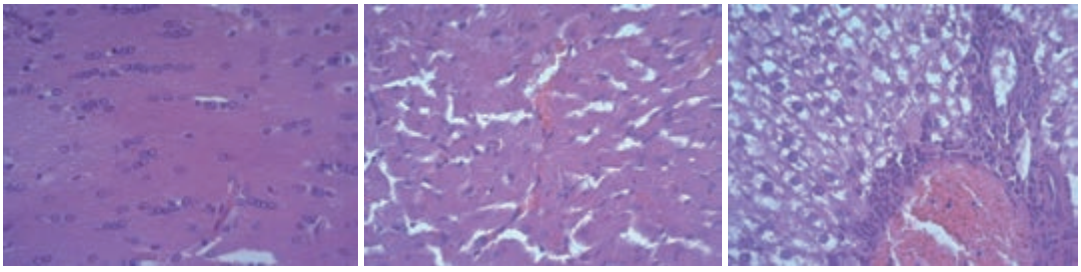
Биохимический показатель	Среднее значение показателя у детей, M±SD		Среднее значение показателя у животных, M±SD	
	экспонированные	неэкспонированные	опытная группа	контрольная группа
АЛАТ, Е/дм^3	12,87±1,09 p=0,026	11,28±0,82	144,00±36,83 p=0,003	80,80±21,59
АСАТ, Е/дм^3	31,66±0,99 p=0,298	30,61±1,69	799,00±232,19 p=0,0003	288,00±51,47
Билирубин общий, мкмоль/дм^3	7,26±0,73 p=0,012	6,13±0,46	2,34±0,50 p=0,174	1,96±0,34
Билирубин прямой, мкмоль/дм^3	2,25±0,13 p=0,671	2,192±0,22	1,34±0,21 p=0,001	0,86±0,18
Щелочная фосфатаза, Е/дм^3	435,69±27,42 p=0,091	405,68±19,92	438,40±104,68 p=0,008	299,80±29,81
Гамма-аминомасляная кислота, мкмоль/дм^3	0,21±0,02 p=0,950	0,20±0,03	0,23±0,01 p=0,006	0,19±0,02
Глутаминовая кислота, мкмоль/дм^3	104,12±2,93 p=0,954	103,92±6,09	111,13±3,59 p=0,017	100,23±4,21
Гидроперекиси липидов, мкмоль/дм^3	298,13±59,61 p=0,005	204,57±20,37	305,85±31,36 p=0,037	200,20±16,34
Антиоксидантная активность, %	31,93±0,67 p=0,0001	37,09±1,15	26,13±2,54 p=0,0001	28,48±7,49
Малоновый диальдегид, мкмоль/см^3	2,80±0,09 p=0,0001	2,36±0,09	10,36±2,18 p=0,0001	4,36±0,38

Сравнительный анализ показал, что как в натурных, так и в экспериментальных исследованиях повышенное поступление алюминия сопряжено с формированием оксидативного стресса и метаболических нарушений. У обследованных детей и подопытных животных зафиксировано статистически

значимое повышение концентрации продуктов ПОЛ (гидроперекисей, МДА) на фоне угнетения антиоксидантной защиты. Лабораторный этап исследования подтвердил повреждающее действие алюминия на органы-мишени, что проявилось в значительном (до 2,8 раза) росте активности индикаторных ферментов печени (АЛАТ, АСАТ, щелочной фосфатазы), содержания билирубина и изменении уровня нейроактивных аминокислот (ГАМК и глутаминовой кислоты).

Изменение биохимических показателей в натурных и экспериментальных исследованиях свидетельствует о вероятности развития нарушений в тканях гепатобилиарной и нервной систем, активации окислительных процессов при повышенном поступлении в организм алюминия.

Гистологическое исследование тканей висцеральных органов животных показало, что у опытной группы реализуются морфопатологические изменения относительно контроля. Установлено субарахноидальное кровоизлияние в тканях головного мозга, острое полнокровие в тканях сердца и печени (рис. 5.6).



а) головной мозг б) сердце в) печень

Рис. 5.6. Изображения гистологических препаратов тканей органов крыс линии Wistar. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×400

Результаты морфофункциональных исследований подтвердили, что рост экспозиции алюминия инициирует структурно-функциональные нарушения в тканях печени, головного мозга и сердечно-сосудистой системы. Реконструкция сигнальных путей и параметризация причинно-следственных связей по вектору: «аэрогенное воздействие → кумуляция Al в моче → модуляция экспрессии белков → биохимический дисбаланс → тканевые изменения» объективно свидетельствуют о высоком риске развития системной патологии в условиях хронического аэрогенного воздействия данного химического фактора.

Список литературы к главе 5

Александрова, О.В. Влияние природно-климатических факторов на людей, проживающих в различных климатических условиях / О.В. Александрова, А.Д. Афанасьева, Ю.И. Рагино // Сибирский научный медицинский журнал. 2025; 45(2): 6–18. DOI: 10.18699/SSMJ20250201.

Вьюнова, Т.В. Возможная роль транстиретина в биологическом механизме пептидной нейропротекции / Т.В. Вьюнова, Е.В. Медведева, Л.А. Андреева [и др.] // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2016; 34(3): 104–109. DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-3-104-109.

Валина, С.Л. Гигиеническая оценка учебного процесса в школах с различными образовательными программами / С.Л. Валина, И.Е. Штина, Л.В. Ошева [и др.] // Гигиена и санитария. 2019; 98(2): 166–170. DOI: 10.18821/0016-9900-2019-98-2-166-170.

Васильев, А.В. Нутриметаболомика – новый этап развития биохимии питания. Роль нутрипротеомных исследований / А.В. Васильев, Н.Э. Шаранова // Вопросы питания. 2013; 5: 4–9.

Гармаева, Д.К. Показатели клеточного состава крови при экспериментальном холодовом воздействии [Электронный ресурс] / Д.К. Гармаева, Л.И. Аржакова, Т.И. Дмитриева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2019; 1. URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=28441 (дата обращения 23.12.2025). DOI: 10.17513/spno.28441.

Гомазков, О.А. Функциональная протеомика. Новые подходы в исследовании заболеваний мозга / О.А. Гомазков // Нейрохимия. 2021; 38(3): 221–227. DOI: 10.31857/S1027813321030043.

Горблянский, Ю.Ю. Кремнезём: профессиональные риски нарушений здоровья / Ю.Ю. Горблянский, Е.А. Шуякова, Е.П. Конторович, О.П. Понамарева // Медицина труда и промышленная экология. 2023; 63(6): 386–396. DOI: 10.31089/1026-9428-2023-63-6-386-396.

Горбунов, М.М. Основные физиологические механизмы и адаптационные реакции при закаливании организма в условиях холодного климата / М.М. Горбунов, Н.В. Коршунова, О.В. Юречко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020; 77: 107–116. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-77-107-116.

Джайн, К.К. Основы персонализированной медицины. Медицина XXI века: омикс-технологии, новые знания, компетенции и инновации: учебник / К.К. Джайн, К.О. Шарипов. М.: Издательство «Литтерра», 2020. 69 с.

Зайцева, Н.В. Белковые маркеры негативных эффектов у детей в условиях воздействия естественного холода / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Ю.В. Кольдибекова [и др.] // Якутский медицинский журнал. 2023; 1(81): 83–87. DOI: 10.25789/YMJ.2023.81.21.

Зайцева, Н.В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современный инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, О.В. Долгих // Гигиена и санитария. 2020; 99(1): 6–12. DOI: 10.47470/0016-9900-2020-99-1-6–12.

Зайцева, Н.В. Научно-методические основы итерационного прогноза риска и вреда здоровью человека при воздействии химических факторов среды обитания: от белковых мишеней до системных метаболических нарушений / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Ю.В. Кольдибекова, Е.В. Пескова // Анализ риска здоровью. 2024а; 2: 18–31. DOI: 10.21668/health.risk/2024.2.02.

Зайцева, Н.В. Оценка нарушений метаболических процессов на основе квантификации белков-мишеней у детей при аэрогенном воздействии оксида алюминия / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Е.В. Пескова, Н.И. Булатова // Гигиена и санитария. 2024b; 103(9): 1009–1016. DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-9-1009-1016.

Зайцева, Н.В. Оценка негативных эффектов у работников предприятия горнорудной промышленности посредством исследования белков-мишеней / Н.В. Зайцева, А.Г. Фадеев, Д.В. Горяев [и др.] // Российский вестник гигиены. 2025; 2: 35–41. DOI: 10.24075/rbh.2025.132.

Зайцева, Н.В. Проблемно-поисковые подходы к оптимизации питания в целях увеличения потенциала ожидаемой продолжительности жизни с учётом биоинформационных сигналов регуляторной системы человека / Н.В. Зайцева, В.Б. Алексеев, И.В. Май // Гигиена и санитария. 2024c; 103(12): 1494–1503. DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-12-1494-1503.

Землянова, М.А. Выявление омик-маркеров негативных эффектов со стороны нервной системы у детей в условиях сочетанного воздействия аэрогенного химического фактора и условий образовательной среды / М.А. Землянова, Н.В. Зайцева, Ю.В. Кольдибекова, Н.И. Булатова // Здоровье населения и среда обитания. 2020; 5(326): 12–17. DOI: 10.35627/2219-5238/2020-326-5-12-17.

Землянова, М.А. Создание биоинформационной матрицы молекулярных маркеров для прогнозирования риск-ассоциированных нарушений здоровья / М.А. Землянова, Н.В. Зайцева, Ю.В. Кольдибекова [и др.] // Анализ риска здоровью. 2022; 2: 174–184. DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.16.

Измеров, Н.Ф. Российская энциклопедия по медицине труда / Под ред. Н.Ф. Измерова. М.: Медицина, 2005. 653 с. ISBN: 5-225-04054-3.

Карамнова, Н.С. Кардиопротективный тип питания: распространенность, ассоциации и резервы профилактики / Н.С. Карамнова, С.А. Максимов, С.А. Шальнова [и др.] // Российский кардиологический журнал. 2020; 25(6): 3769. DOI: 829/1560-4071-2020-3769.

Кирбаева, Н.В. Современные методы нутриметаболомных и протеомных исследований в биохимии питания / Н.В. Кирбаева, Н.Э. Шаранова, С.С. Перцов // Вопросы питания. 2014; 83(2): 4–15.

Литвицкий, П.Ф. Расстройства липидного обмена / П.Ф. Литвицкий // Вопросы современной педиатрии. 2012; 11(6): 48–62. DOI: 10.15690/vsp.v11i6.492.

Лычева, Н.А. Вклад стрессоров различной природы в формирование ответной гемостатической реакции организма при действии общей гипотермии [Электронный ресурс] / Н.А. Лычева, В.И. Киселев, И.И. Шахматов, В.М. Вдовин // Фундаментальные исследования. 2014; 7-1: 106–110. URL: https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=34400 (дата обращения 23.12.2025).

Метельская, В.А. Протеомный анализ сыворотки крови: роль в поиске биомаркеров атеросклероза / В.А. Метельская // Профилактическая медицина. 2022; 25(12): 135–143. DOI: 10.17116/profmed202225121135.

Пальцев, М.А. Медицина будущего. Персонализированная медицина: опыт прошлого, реалии завтрашнего дня / М.А. Пальцев. М.: Российская академия наук, 2020. 152 с. ISBN: 978-5-907036-78-9.

Перфилова, В.Н. Возможности и перспективы доклинической оценки лекарственной безопасности с использованием альтернативных методов: опыт реализации программы «Токсикология в XXI веке» в США / В.Н. Перфилова // Безопасность и риск фармакотерапии. 2024; 12(1): 68–82. DOI. org/10.30895/2312-7821-2023-379.

Пескова, Е.В. Экспериментальная оценка комбинированного действия химических веществ на основе квантификации белков плазмы крови / Е.В. Пескова // Гигиена и санитария. 2025; 104(5): 648–654. DOI: 10.47470/0016-9900-2025-104-5-648-654.

Пескова, Е.В. Протеомное профилирование плазмы крови экспериментальных животных как инструмент прогноза негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека (на примере бенз(а)пирена) / Е.В. Пескова, М.С. Степанков // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2024; (1): 50–56. DOI: 10.24412/2075-4094-2024-1-2-2.

Поскотинова, Л.В. Вегетативная регуляция ритма сердца и эндокринный статус молодежи в условиях Европейского Севера России / Л.В. Поскотинова. Екатеринбург: УрО РАН, 2010. 228 с. ISBN: 978-5-7691-2140-1.

Салль, Т.С. Молекулярные механизмы развития неалкогольной жировой болезни печени / Т.С. Салль, Е.С. Щербакова, С.И. Ситкин [и др.] // Профилактическая медицина. 2021; 24(4): 120–131. DOI: 10.17116/profmed202124041120.

Сафиулина, Э.И. Поражение периферической нервной системы при системном амилоидозе / Э.И. Сафиулина, О.Е. Зиновьева, В.В. Рамеев, Л.В. Козловская-Лысенко / Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018; 10(3): 12–18. DOI: 10.14412/2074-2711-2018-3-12-18.

Солонин, Ю.Г. Медико-физиологические проблемы в Арктике / Ю.Г. Солонин, Е.Р. Бойко // Известия Коми научного центра УрО РАН. 2017; 4(32): 33–40.

Тутельян, В.А. Нутриом как направление «главного удара»: определение физиологических потребностей в макро- и микронутриентах, минорных биологически активных веществах пищи / В.А. Тутельян, Д.Б. Никитюк, А.К. Батурин [и др.] // Вопросы питания. 2020; 89(4): 24–34. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10039.

Ушаков, К.З. Безопасность ведения горных работ и горноспасательное дело / К.З. Ушаков, Н.О. Каледина, Б.Ф. Кирин [и др.]. М.: Издательство Московского государственного горного университета, 2002. 487 с. ISBN: 978-5-7418-0545-9.

Фомина, Т.Г. Стресс в образовательной среде и его влияние на академическую успешность и психологическое благополучие обучающихся / Т.Г. Фомина, Е.В. Филиппова, А.В. Бурмистрова-Савенкова, В.И Моросанова // Национальный психологический журнал. 2024; 19(4): 148–159. DOI: 10.11621/npj.2024.0410.

Чащин, В.П. Предиктивная оценка индивидуальной восприимчивости организма человека к опасному воздействию холода / В.П. Чащин, А.Б. Гудков, М.В. Чащин, О.Н. Попова // Экология человека. 2017; 24(5): 3–13. DOI: 10.33396/1728-0869-2017-5-3-13.

Шевченко, Е.А. Роль адипонектина и лептина в развитии метаболического синдрома и связанных с ним ожирением и сахарным диабетом II типа / Е.А. Шевченко, Т.Е. Потемина, А.Н. Успенский // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, Врач и Здоровье. 2022; 12(1): 29–37. DOI: 10.20340/vmirvz.2022.1.CLIN.3.

Шляхто, Е.В. Научные основы персонализированной медицины: реалии и возможности / Е.В. Шляхто // Вестник российской академии наук. 2022; 92(12): 1105–1118. DOI: 10.31857/S0869587322120076.

Almonte, A.G. Serine proteases, serine protease inhibitors, and protease-activated receptors: roles in synaptic function and behavior / A.G. Almonte, J.D. Sweatt // Brain Res. 2011; 1407: 107–122. DOI: 10.1016/j.brainres.2011.06.042.

Al-Nafie, A.T. A novel association between hemoglobin subunit beta gene and reproductive performance in Awassi ewes / A.T. Al-Nafie, T.M. Al-Thuwaini, M.B.S. Al-Shuhaib // Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2022; 21(1): 1–7. DOI: 10.1016/j.jssas.2021.06.018.

Anderson, N.L. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects / N.L. Anderson, N.G. Anderson // Mol. Cell. Proteomics. 2002; 1(11): 845–867. DOI: 10.1074/mcp.r200007-mcp200.

Armirotti, A. Achievements and perspectives of top-down proteomics / A. Armirotti, G. Damonte // Proteomics. 2010; 10(20): 3566–3576. DOI: 10.1002/pmic.201000245.

Celikel, R. Modulation of alpha-thrombin function by distinct interactions with platelet glycoprotein Ibalpha / R. Celikel, R.A. McClintock, J.R. Roberts [et al.] // Science. 2003; 301(5630): 218–221. DOI: 10.1126/science.1084183.

Clayton, T.A. Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiomemetabolic interaction affecting human drug metabolism / T.A. Clayton, D. Baker, J.C. Lindon [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. 2009; 106(34): 14728–14733. DOI: 10.1073/pnas.0904489106.

Connon, R.E. Effect-based tools for monitoring and predicting the ecotoxicological effects of chemicals in the aquatic environment / R.E. Connon, J. Geist, I. Werner // Sensors (Basel). 2012; 12(9): 12741–12771. DOI: 10.3390/s120912741.

Corzett, T.H. Statistical analysis of variation in the human plasma proteome / T.H. Corzett, I.K. Fodor, M.W. Choi [et al.] // J Biomed Biotechnol. 2010; 2010: 258494. DOI: 10.1155/2010/258494.

Dong, M. Cold exposure promotes atherosclerotic plaque growth and instability via UCP1-dependent lipolysis / M. Dong, X. Yang, S. Lim [et al.] // Cell Metab. 2013; 18(1): 118–129. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.06.003.

Garcia-Reyero, N. Behavioral and genomic impacts of a wastewater effluent on the fathead minnow / N. Garcia-Reyero, C.M. Lavelle, B.L. Escalon [et al.] // Aquat Toxicol. 2011; 101(1): 38–48. DOI: 10.1016/j.aquatox.2010.08.014.

Hazawa, M. Vitronectin improves cell survival after radiation injury in human umbilical vein endothelial cells / M. Hazawa, T. Yasuda, K. Noshiro [et al.] // FEBS Open Bio. 2012; 2: 334–338. DOI: 10.1016/j.fob.2012.10.002.

Jain, K.K. Proteomics: Technologies, Markets & Companies: Technical Report [Электронный ресурс] / K.K. Jain, 2021. URL: https://www.researchgate.net/publication/371904447_Proteomics_Technologies_Markets_Companies (дата обращения 01.04.2026). DOI: 10.13140/RG.2.2.14376.34567.

Leavesley, D.I. Vitronectin – master controller or micromanager? / D.I. Leavesley, A.S. Kashyap, T. Croll [et al.] // IUBMB Life. 2013; 65(10): 807–818. DOI: 10.1002/iub.1203.

Lee, T.W. Synaptic plasticity-associated proteases and protease inhibitors in the brain linked to the processing of extracellular matrix and cell adhesion molecules / T.W. Lee, V.W. Tsang, N.P. Birch // Neuron Glia Biol. 2008; 4(3): 223–234. DOI: 10.1017/S1740925X09990172.

Li, X. Transthyretin and the brain re-visited: Is neuronal synthesis of transthyretin protective in Alzheimer's disease? / X. Li, J.N. Buxbaum // Mol Neurodegeneration. 2011; 6: 79. DOI: 10.1186/1750-1326-6-79.

Liu, X. Serum apolipoprotein A-I depletion is causative to silica nanoparticles-induced cardiovascular damage / X. Liu, W. Wei, Z. Liu // Proc Natl Acad Sci U S A. 2021; 118(44): e2108131118. DOI: 10.1073/pnas.2108131118.

Naota, M. Translocation pathway of the intratracheally instilled C60 fullerene from the lung into the blood circulation in the mouse: possible association of diffusion and caveolae-mediated pinocytosis / M. Naota, A. Shimada, T. Morita [et al.] // Toxicol Pathol. 2009; 37(4): 456–462. DOI: 10.1177/0192623309335059.

Pamirsky, I.E. Regulation of proteolysis of plant and animal inhibitors / I.E. Pamirsky, E. Borodin, M.A. Shtarberg. Lambert Academy Publishing GmbH&Co, 2012. ISBN: 978-3-659-13878-2.

Qi, Y. Passage of exogeneous fine particles from the lung into the brain in humans and animals / Y. Qi, S. Wei, T. Xin [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. 2022; 119(26): e2117083119. DOI: 10.1073/pnas.2117083119.

Qiu, J. Lung megakaryocytes engulf inhaled airborne particles to promote intrapulmonary inflammation and extrapulmonary distribution / J. Qiu, J. Ma, Z. Dong [et al.] // Nat Commun. 2024; 15(1): 7396. DOI: 10.1038/s41467-024-51686-y.

Sipe, J.D. Amyloid fibril proteins and amyloidosis: chemical identification and clinical classification International Society of Amyloidosis 2016 Nomenclature Guidelines / J.D. Sipe, M.D. Benson, J.N. Buxbaum [et al.] // Amyloid. 2016; 23(4): 209–213. DOI: 10.1080/13506129.2016.1257986.

Slimmen, S. How Stress-Related Factors Affect Mental Wellbeing of University Students: A cross-sectional study to explore the associations between stressors, perceived stress, and mental wellbeing / S. Slimmen, O. Timmermans, K. Mikołajczak-Degrauwe, A. Oenema // PLOS ONE. 2022; 17(11): e0275925. DOI: 10.1371/journal.pone.0275925.

Tripathi, L.P. Genome-wide survey of prokaryotic serine proteases: analysis of distribution and domain architectures of five serine protease families in prokaryotes / L.P. Tripathi, R. Sowdhamini // BMC Genomics. 2008; 9: 549. DOI: 10.1186/1471-2164-9-549.

Van Aggelen, G. Integrating omic technologies into aquatic ecological risk assessment and environmental monitoring: hurdles, achievements, and future outlook / G. Van Aggelen, G.T. Ankley, W.S. Baldwin [et al.] // Environ Health Perspect. 2010; 118(1): 1–5. DOI: 10.1289/ehp.0900985.

Verma, N. Review on proteomic analyses of benzo[a]pyrene toxicity / N. Verma, M. Pink, A.W. Rettenmeier, S. Schmitz-Spanke // Proteomics. 2012; 12(11): 1731–1755. DOI: 10.1002/pmic.201100466.

Waters, M.D. Toxicogenomics and systems toxicology: aims and prospects / M.D. Waters, J.M. Fostel // Nat Rev Genet. 2004; 5(12): 936–948. DOI: 10.1038/nrg1493.

Wishart, D.S. HMDB 4.0 – the human metabolome database for 2018 / D.S. Wishart, Y.D. Feunang, A. Marcu [et al.] // Nucleic Acids Res. 2018; 46(D1). D608–D617. DOI: 10.1093/nar/gkx1089.

Приложение к главе 5

Сопоставительный анализ прогнозных оценок нарушений со стороны критических органов и систем по критериям риска здоровью и фактически установленным белковым маркерам

Химическое вещество	Критические органы и системы по Руководству Р 2.1.10.1920-04		Белок, экспрессия которого изменяется при воздействии химических веществ	Ген, кодирующий белок	Риски метаболических нарушений в критических органах и системах, ассоциированные с экспрессируемым белком и кодирующим его геном
	При пероральном поступлении	При ингаляционном поступлении			
1	2	3	4	5	6
Стронций	Костная система	–	Транстиретин	*TTR*	Нарушение белкового обмена, новообразования, мочевыделительная система, ЦНС, эндокринная система
Марганец	ЦНС, кровь	Нервная система, органы дыхания			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное			
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Алюминий	ЦНС	ЦНС			
Фтор	Костная система	–			
Бенз(а)пирен	Рак, развитие	Рак, иммунная система, развитие			
Стронций	Костная система	–	α-1-антитрипсин	*SERPINA1*	Процессы кроветворения, мочевыделительная система, гепатобилиарная система
Марганец	ЦНС, кровь	Нервная система, органы дыхания			

1	2	3	4	5	6
Стронций	Костная система	–	Гаптоглобин	*HP*	Мочевыделительная система, сердечно-сосудистая система, нарушение липидного обмена, система крови и процессы кроветворения, эндокринная система
Стронций	Костная система	–	Гомолог белка 5-го сайта интеграции экотропного вируса	*EVI5*	Гепатобилиарная система, мочевыделительная система, ЦНС, новообразования
Стронций	Костная система	–	Аполипопротеин A-IV	*APOA4*	Гепатобилиарная система, ЦНС, нарушение липидного обмена, нарушение белкового обмена
Ванадий	Волосы (снижение содержания цистеина), печень, почки, ЖКТ	Органы дыхания			
Марганец	ЦНС, кровь	Нервная система, органы дыхания			
Ванадий	Волосы (снижение содержания цистеина), печень, почки, ЖКТ	Органы дыхания	Кластерин	*CLU*	Мочевыделительная система, ЦНС, костная система, сердечно-сосудистая система
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное			
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС	Кластерин	*CLU*	Мочевыделительная система, ЦНС, костная система, сердечно-сосудистая система
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Ванадий	Волосы (снижение содержания цистеина), печень, почки, ЖКТ	Органы дыхания	α1-кислый гликопротеин (Орсомукоид)	*ORM1*	Мочевыделительная система, гепатобилиарная система, ЦНС
Алюминий	ЦНС	ЦНС			
Фтор	Костная система	–			
Ванадий	Волосы (снижение содержания цистеина), печень, почки, ЖКТ	Органы дыхания	α -2-HS-гликопротеин	*AHSG*	Мочевыделительная система, гепатобилиарная система, органы дыхания, ЦНС
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Гемоглобин β-субъединица	*HBB*	Иммунная система, система крови и процессы кроветворения, гепатобилиарная система
Фтор	Костная система	–			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное			
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ	Гемоглобин β-субъединица	*HBB*	Иммунная система, система крови и процессы кроветворения, гепатобилиарная система
Бенз(а)пирен	Рак, развитие	Рак, иммунная система, развитие			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Гемопексин	*HPX*	Мочевыделительная система, эндокринная система, гепатобилиарная система

1	2	3	4	5	6
Фтор	Костная система	–	Аполипопротеин Е	*APOE*	Гепатобилиарная система, сердечно-сосудистая система, ЦНС, нарушение липидного обмена, нарушение липидного обмена, мочевыделительная система, органы дыхания
Алюминий	ЦНС	ЦНС	THO комплексная субъединица 2	*THOC2*	ЦНС, гепатобилиарная система, мочевыделительная система
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Nck-ассоциированный белок 5-подобный	*NCKAP5L*	Гепатобилиарная система, новообразования, ЦНС
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Альбумин	*ALB*	Гепатобилиарная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система, ЦНС, органы дыхания
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное			
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС	Альбумин	*ALB*	Гепатобилиарная система, сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система, ЦНС, органы дыхания
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Белок дипептидных повторов аргинин-глутаминовой кислоты	*RERE*	Костная система, ЦНС, гепатобилиарная система, ЦНС

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Пептид -N4-(N-а-цетил-бета-глюко-заминил) аспара-гинамидаза	*NGLY1*	ЦНС, гепатобилиарная система
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Т-комплекс белка 1 субъединица гамма	*CCT3*	Гепатобилиарная система, мочевыделительная система, ЦНС, новообразования
Алюминий	ЦНС	ЦНС	YY1-ассоциированный белок 1	*YY1AP1*	Сердечно-сосудистая система, ЦНС, органы дыхания
Фтор	Костная система	–			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Пуриннуклеозид-фосфорилаза	*PNP*	Костная система, гепатобилиарная система, мочевыделительная система, ЦНС
Фтор	Костная система	–			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Серин / треонин-протеин-киназа	*MARK1*	ЦНС, мочевыделительная система, органы дыхания
Фтор	Костная система	–			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Субъединица 1 динактина	*DCTN1*	ЦНС, сердечно-сосудистая система
Фтор	Костная система	–			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Домен SH3, содержащий безымянный палец 3	*SH3RF3*	ЦНС, мочевыделительная система, гепатобилиарная система, органы дыхания
Фтор	Костная система	–			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	PR-домен белка цинковых пальцев 1	*PRDM1*	Иммунная система, костная система
Фтор	Костная система	–			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Гомолог белка капикуа	*CIC*	ЦНС, новообразования
Фтор	Костная система	–			

1	2	3	4	5	6
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Фосфатаза С-концевого домена РНК-полимеразы II субъединицы А	*CTDP1*	ЦНС, гепатобилиарная система, сердечно-сосудистая система, органы дыхания
Фтор	Костная система	–			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Аполипопротеин А-I	*APOA1*	Сердечно-сосудистая система, органы дыхания, нарушение липидного обмена, гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Аполипопротеин А-I	*APOA1*	Сердечно-сосудистая система, органы дыхания, нарушение липидного обмена, гепатобилиарная система
Фтор	Костная система	–			
Бенз(а)пирен	Рак, развитие	Рак, иммунная система, развитие			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белок 9, закрепляющий А-киназу	*AKAP9*	ЦНС, мочевыделительная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Комплемент С4-В	*C4B*	Иммунная система, гепатобилиарная система, мочевыделительная система, ЦНС, новообразования
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Протромбин	*F2*	Система крови и процессы кроветворения, ЦНС, гепатобилиарная система, сердечно-сосудистая система, нарушение липидного обмена, костная система
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Витронектин	*VTN*	Гепатобилиарная система, мочевыделительная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Алюминий	ЦНС	ЦНС			
Фтор	Костная система	–			
Бенз(а)пирен	Рак, развитие	Рак, иммунная система, развитие			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Аполипопротеин C-III	*APOC3*	Органы дыхания, сердечно-сосудистая система, нарушение липидного обмена
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Сывороточный амилоидный белок A-2	*SAA2*	Гепатобилиарная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			

1	2	3	4	5	6
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС	тРНК, белок 1, связанный с селеноцистеином 1	*TRNAU1AP*	Гепатобилиарная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС	Сидерофлексин–3	*SFXN3*	Гепатобилиарная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС	Анкирин–1	*ANK1*	Костная система, гепатобилиарная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС	Сывороточный амилоидный белок А-1	*SAA1*	Костная система, гепатобилиарная система
Алюминий	ЦНС	ЦНС	Band4.1-подобный белок 3	*EPB41L3*	Новообразования, гепатобилиарная система, ЦНС
Фтор	Костная система	–			
Бенз(а)пирен	Рак, развитие	Рак, иммунная система, развитие			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Обменник натрий/водорода 2	*SLC9A2*	Гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белок 33, содержащий домен спиральной катушки	*CCDC33*	Гепатобилиарная система, мочевыделительная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Фактор свёртывания крови V	*F5*	Гепатобилиарная система, система крови и процессы кроветворения, сердечно-сосудистая система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Антизим орнитиндекарбоксилазы 2	*OAZ2*	Гепатобилиарная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Гомолог белка неопрятного RING-пальца	*UNK*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белок цинковых пальцев 221	*ZNF221*	Органы дыхания
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	ADAM DEC1	*ADAMDEC1*	Гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Ядерный белок MDM1	*MDM1*	Гепатобилиарная система, ЦНС, новообразования
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Фактор комплементации APOBEC1	*A1CF*	Гепатобилиарная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ	Фактор комплементации APOBEC1	*A1CF*	Гепатобилиарная система, ЦНС
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Член 3 подсемейства С гомологов DNAJ	*DNAJC3*	Новообразования, гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белок 64, содержащий повтор WD	*WDR64*	Органы дыхания, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Субъединица бета-4 кальциевого канала L-типа, зависимая от напряжения	*CACNB4*	ЦНС, костная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Богатые лейцином повторы иммуноглобулиноподобные домены белка 3	*LRIG3*	Гепатобилиарная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белково-глутамин-гамма-глутамилтрансфераза E	*TGM3*	Гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Пироглутамил-пептидаза 1	*PGPEP1*	Гепатобилиарная система, ЦНС, мочевыделительная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Тяжелая цепь клатрина 2	*CLTCL1*	Органы дыхания, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Гаптоглобин	*HP*	Сердечно-сосудистая система, гепатобилиарная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Холецистокинин	*CCK*	ЦНС, гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белок 52, связанный с ресничками и жгутиками	*CFAP52*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ	Белок 52, связанный с ресничками и жгутиками	*CFAP52*	ЦНС
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белок цинковых пальцев 835	*ZNF835*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Интегрин α-5	*ITGA5*	Сердечно-сосудистая система, гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Член семейства SDR дегидрогеназы/редуктазы 4-подобный 2	*DHRS4L2*	ЦНС, сердечно-сосудистая система

1	2	3	4	5	6
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС	Член семейства SDR дегидрогеназы/редуктазы 4-подобный 2	*DHRS4L2*	ЦНС, сердечно-сосудистая система
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	E3 ISG15 – протеинлигаза HERC5	*HERC5*	Гепатобилиарная система, мочевыделительная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Субъединица 1 общего транскрипционного фактора IIH	*GTF2H1*	ЦНС, сердечно-сосудистая система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Ацетилхолинэстеразы коллагеновый хвостовой пептид	*COLQ*	ЦНС, гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	J-цепь иммуноглобулина	*JCHAIN*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Субъединица 3 аугминоподобного комплекса HAUS	*HAUS3*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Поли(АДФ-рибоза)-полимераза танкираза-1	*TNKS*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белок nGAP, активирующий Ras-GTPase	*RASAL2*	Гепатобилиарная система
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Центросомный белок 290 кДа	*CEP290*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	к-константа иммуноглобулина	*IGKC*	Иммунная система, ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Некаталитическая субъединица тРНК (аденин(58)-N(1))-метилтрансфераза TRM6	*TRMT6*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Белок 61, содержащий домен анкириновых повторов	*ANKRD61*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Шугошин 2	*SGO2*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Кальпаин-15	*CAPN15*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Уридин фосфорилаза 2	*UPP2*	Когнитивная дисфункция
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			

Продолжение приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Протеин фосфатаза 1D	*PPM1D*	ЦНС, когнитивная дисфункция
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Линкерный белок 4, содержащий домен CAP-Gly	*CLIP4*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Фактор сплайсинга 3A, субъединица 1	*SF3A1*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			

Окончание приложения к главе 5

1	2	3	4	5	6
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Неогенин	*NEO1*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			
Медь	ЖКТ, печень	Органы дыхания, системное	Протеинкиназа двойной специфичности CLK2	*CLK2*	ЦНС
Никель	Печень, сердечно-сосудистая система, ЖКТ, кровь, масса тела	Органы дыхания, кровь, иммунная система, рак, ЦНС			
Хром	Кровь	Органы дыхания, печень, почки, иммунная система, ЖКТ			

Научное издание

ПРОТЕОМНЫЙ КОД В ГИГИЕНЕ

Монография

Художественное оформление обложки А.В. Белорусовой
Корректор А.П. Маркова
Компьютерная верстка Е.И. Галиевой

Подписано в печать 29.06.2026 г. Формат 70x100$^{1}/_{16}$.
Усл. печ. л. 24,05. Гарнитура Arial. Заказ № 1182/1. Тираж 500 экз.

Сверстано и отпечатано в ООО «Издательский дом
«Типография купца Тарасова», г. Пермь, ул. Пушкина, 27,
тел.: 8 (342) 212-44-53, 212-94-96. E-mail: domtarasova@inbox.ru