

Барскова Людмила Сергеевна

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ
НАРУШЕНИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫХ
ПРОЦЕССОВ В АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГАХ КРЫС ЛИНИИ
ВИСТАР ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТВЕРДЫХ ВЗВЕШЕННЫХ ЧАСТИЦ
РАЗЛИЧНОЙ ДИСПЕРСНОСТИ**

14.03.03 – Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена во Владивостокском филиале федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательском институте медицинской климатологии и восстановительного лечения

Научный руководитель:

Гвозденко Татьяна Александровна, доктор медицинских наук, профессор РАН

Научный консультант:

Виткина Татьяна Исааковна, доктор биологических наук, профессор РАН

Официальные оппоненты:

Рыжавский Борис Яковлевич, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, заведующий

Даренская Марина Александровна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», лаборатория патофизиологии, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «28» апреля 2021 г. в 09:00 часов

на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.199.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» и Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, д. 95.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, д. 22) и на сайте <https://cfpd.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Приходько Анна Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Высокий уровень загрязнения атмосферного воздуха городов является глобальной проблемой современности [Lim S.S. et al., 2012; Crouse D. et al., 2012; Gehring U. et al., 2013; GBD, 2015; WHO, 2018]. Наиболее негативное влияние на здоровье оказывают нано- и микроразмерные твердые взвешенные частицы (ТВЧ), воздействуя непосредственно на дыхательные пути [Atkinson R.W. et al., 2014; Gordon S.B. et al., 2014; Lee B.J. et al., 2014; Kim K.-H. et al., 2015; Paulin L., Hansel N., 2016; Noël A. et al., 2016]. В эпидемиологических исследованиях установлена связь микрочастиц с заболеваниями бронхолегочной, сердечно-сосудистой, нервной систем [Franck U. et al., 2011; Weichenthal S. et al., 2014; Cui Y. et al., 2016]. Доказано повышение риска развития и прогрессирования таких заболеваний органов дыхания, как бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, фиброз и рак легких [Gehring U. et al., 2013; Delfino R.J. et al., 2014; Gordon S.B. et al., 2014; Namra G.B. et al., 2014; Rodriguez-Villamizar L.A. et al., 2015; Raaschou-Nielsen O. et al. 2016; Hansel N.N. et al., 2017]. Микрочастицы с аэродинамическим диаметром менее 2,5 мкм (называемые PM_{2,5}) сегодня признаны в качестве одной из основных причин смерти и инвалидности во всем мире. В группе риска – дети, пожилые люди и пациенты с кардио-респираторными заболеваниями [Samoli E. et al., 2013; Табакаев с соавт., 2014; Simoni M. et al., 2015; Atkinson R.W. et al., 2015; Paulin L., Hansel N., 2016; Veremchuk L.V. et al., 2016; 2018].

Оседая в респираторном тракте, ТВЧ могут индуцировать избыточное образование активных форм кислорода, как за счет компонентов частиц, так и опосредовано через альвеолярные макрофаги (АМ), и способствовать развитию окислительного стресса [Jean-Jacques S. et al., 2015; Øvrevik J. et al., 2015; Golokhvast K.S. et al., 2015; Namad S.H. et al., 2016; Cheng H. et al., 2016; Samera H.H. et al., 2016]. Способность клетки противостоять патогенному воздействию микроразмерных частиц во многом зависит от активности антиоксидантной системы и адекватности репаративных механизмов [Kiranmai L. et al., 2014; Golokhvast K.S. et al., 2015; Виткина Т.И. с соавт., 2016]. Тиолдисульфидное звено антиоксидантной системы играет важную роль в протекции клетки, выполняя антиоксидантную функцию, восстанавливает структуру белков, является ключевым фактором в репарации ДНК, регулирует клеточный сигналинг и взаимодействует с транскрипционными факторами [Куликов В.Ю., 2009; Holmgren A., Lu J., 2010; Espinosa-Diez C. et al., 2015].

Степень разработанности темы исследования

Разнообразие качественного и дисперсного состава загрязняющих атмосферный воздух ТВЧ, как природного, так и техногенного происхождения [Janssen N.A.H. et al., 2014; Falcon-Rodriguez C.I. et al., 2016; Liang C.S. et al., 2016; Krall J.R. et al., 2017] обуславливает различия в их повреждающем воздействии и ответной реакции организма [Heidari N.S. et al., 2015; Pardo M. et al., 2015]. Окислительный потенциал ТВЧ характеризует биологические ответы на воздействие частиц [Lu S.Y. et al., 2016; Moreno T. et al., 2017; Pardo M. et al., 2015;

Shang Y. et al., 2014; Styszko K. et al., 2017; Janssen N.A.H. et al., 2014; Yang A. et al., 2015]. Основное внимание отечественных ученых сосредоточено на эпидемиологических исследованиях [Табакеев М.В., Артамонова Г.В., 2014; Иваненко с соавт., 2017; Маклакова О.А., 2019].

В доступных источниках литературы отсутствуют исследования загрязнения микроразмерными ТВЧ приземного слоя (зоны дыхания) атмосферного воздуха. Также не обнаружены исследования гранулометрического распределения ТВЧ в воздушной среде, позволяющие охарактеризовать весь дисперсный состав частиц в диапазонах размерности, выделенных в зависимости от точки осаждения в легких, эффективности элиминации, возможных механизмов воздействия.

В работах зарубежных исследователей не рассматривается комплексная ответная реакция основных гомеостатических систем организма, позволяющая установить более тонкие механизмы нарушения окислительно-восстановительных процессов в АМ дыхательных путей в условиях урбанизированных территорий, различающихся по уровню техногенного загрязнения. Отсутствуют данные об особенностях реагирования тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы АМ на воздействие ТВЧ различной дисперсности.

В опубликованных исследованиях отсутствуют данные о наличии, либо отсутствии корреляционной связи параметров системы «перекисное окисление – антиоксидантная защита» альвеолярных макрофагов с качественным и дисперсным составом воздействующих ТВЧ.

Несмотря на многочисленные исследования, изучение механизмов воздействия атмосферных микрочастиц в условиях урбанизированной территории при разной техногенной нагрузке и оценка ответной реакции на клеточно-молекулярном уровне являются важными исследовательскими проблемами.

Цель исследования – установить *in vitro* особенности ответной реакции альвеолярных макрофагов крыс линии Вистар на воздействие твердых взвешенных частиц различной дисперсности по состоянию окислительно-восстановительных процессов; выделить биоиндикаторы токсического повреждения клеток.

Задачи исследования:

1. Оценить фракционный состав микроразмерных ТВЧ приземного слоя атмосферного воздуха в двух районах г. Владивостока с различным уровнем техногенного загрязнения и разработать идентичные по составу модельные взвеси микроразмерных частиц.

2. Оценить интенсивность процессов перекисного окисления липидов, белков и ДНК в макрофагах бронхоальвеолярного лаважа крыс линии Вистар при воздействии модельных взвесей ТВЧ по содержанию гидроперекисей липидов, малонового диальдегида, протеин карбонила и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-ОХДГ) *in vitro*.

3. Изучить ответную реакцию тиолдисульфидного звена системы антиоксидантной защиты макрофагов бронхоальвеолярного лаважа крыс линии Вистар *in vitro*.

4. Выявить особенности формирования нарушений окислительно-восстановительного гомеостаза макрофагов бронхоальвеолярного лаважа крыс линии Вистар в зависимости от дисперсного и качественного состава воздействующих модельных взвесей микроразмерных частиц.

5. Выделить биоиндикаторы токсического повреждения клетки в результате воздействия мелкодисперсных фракций ТВЧ атмосферного воздуха.

Научная новизна

Впервые установлены особенности фракционного распределения микроразмерных ТВЧ приземного слоя атмосферного воздуха в различных по техногенной нагрузке районах г. Владивостока. Район с повышенным уровнем загрязнения воздушной среды характеризуется высоким содержанием частиц PM_{10} и $PM_{2,5}$.

Установлены механизмы ответной реакции системы «перекисное окисление – антиоксидантная защита» АМ. Ответная реакция клетки обусловлена содержанием в модельных взвешах частиц, фагоцитируемых АМ и способных усиливать выработку АФК.

Показана зависимость образования гидроперекисей липидов, малонового диальдегида, протеин карбонила и 8-ОХДГ, характеризующих окислительное повреждение АМ, от дисперсного и качественного состава модельных взвесей. Доля вклада качественных характеристик микрочастиц в формирование нарушений окислительно-восстановительного гомеостаза составила от 52,6% до 66,7%, при увеличении в модельной взвеси количества мелкодисперсных частиц происходит усиление влияния фракционного состава ТВЧ.

Установлены особенности реагирования тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы АМ на воздействие модельных взвесей с различным дисперсным составом микрочастиц. Повышение содержания тиоредоксина, формирующего антиоксидантный и репаративный эффект в ответ на развитие окислительного стресса в АМ, обусловлено увеличением количества ТВЧ мелкодисперсных фракций, в наибольшей степени с размерностью от 1,0 до 2,5 мкм.

Выделены индикаторы раннего токсического повреждения клеток при воздействии ТВЧ приземного слоя атмосферного воздуха в экспериментальных исследованиях на культуре макрофагов бронхоальвеолярного лаважа крыс линии Вистар *in vitro*. Выявлено, что протеин карбонил проявляет наибольший отклик на частицы в диапазоне фракции от 0,1 до 1,0 мкм, а 8-ОХДГ – от 2,5 до 10,0 мкм.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установлены механизмы ответной реакции системы «перекисное окисление – антиоксидантная защита» АМ. Ответная реакция клетки обусловлена содержанием в модельных взвешах частиц, фагоцитируемых АМ и способных усиливать выработку АФК. На основе полученных знаний о нарушении окислительно-восстановительных процессов в АМ при воздействии ТВЧ показано усиление влияния фракционного состава при увеличении доли мелкодисперсных фракций. Значительное увеличение концентрации тиоредоксина происходит при воздействии ТВЧ мелкодисперсных фракций, что обусловлено его участием в антиоксидантном ответе АМ, протекции

клеток от микротоксикантов за счет репаративного действия, участия в редокс-регуляции, предотвращении апоптоза и хемотаксисе макрофагов.

Определение дисперсного состава ТВЧ атмосферного воздуха, в характерных для г. Владивостока районах с различной техногенной нагрузкой, проведено с использованием авторской методики отбора проб приземного слоя атмосферного воздуха [Янькова В.И. с соавт., 2014; Барскова Л.С. с соавт., 2017]. Показана информативность определения уровня протеин карбонила и 8-ОХДГ в качестве ранних индикаторных критериев окислительного повреждения клеток и макромолекул при воздействии микроразмерных ТВЧ.

Материалы и выводы диссертации защищены 4 свидетельствами о государственной регистрации патентных продуктов Российской Федерации, представлены в 3 разработанных методических документах, внедрены в учебный процесс кафедры клеточной биологии и генетики Школы естественных наук Дальневосточного федерального университета, включены в лекционный материал Учебного центра Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ (2 акта внедрения).

Методология и методы исследования

Настоящее исследование является самостоятельным фрагментом плановой НИР Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ (№ гос. регистрации 01201352066). В эксперименте *in vitro* проведена нагрузка культуры АМ, выделенных из бронхоальвеолярного лаважа крыс линии Вистар, модельными взвесями ТВЧ, характеризующими приземный слой атмосферного воздуха двух различающихся по техногенной нагрузке районов г. Владивостока. В работе применялись физические, гранулометрические, экспериментальные, специальные биохимические и иммунологические лабораторные методы исследования. Статистическая обработка данных в программе «Statistica 8.0» включала непараметрические методы и расчет взаимодействий с отбором парных корреляций r при $p < 0,05$.

Положения, выносимые на защиту

1. Содержание ТВЧ приземного слоя атмосферного воздуха урбанизированной территории с высокой техногенной нагрузкой характеризуется значительным количеством высокопатогенных частиц PM_1 и $PM_{2,5}$, оказывающих наиболее патогенное воздействие на организм человека. Преобладание фракции с размерностью более 10 мкм характерно для территории с незначительной техногенной нагрузкой.

2. Выраженную окислительную модификацию липидных, белковых и генетических структур макрофагов БАЛ и развитие окислительного стресса вызывает модельная взвесь, идентичная по составу частиц воздушной среде территории с высоким техногенным прессингом. Содержание протеин карбонила и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина в культуральной среде свидетельствует о необратимом повреждении клетки в результате воздействия мелкодисперсных фракций ТВЧ.

3. Повышение уровня тиоредоксина в ответ на увеличение количества мелкодисперсных частиц необходимо для протекции клеток в условиях интенсификации окислительного стресса. При увеличении доли мелкодисперсных

фракций происходит усиление влияния дисперсного состава ТВЧ на ответную реакцию системы «перекисное окисление – антиоксидантная защита».

Степень достоверности, апробация результатов

Подтверждением достоверности полученных результатов являются достаточный репрезентативный объем наблюдений, комплексное исследование основных показателей окислительно-восстановительного гомеостаза АМ с использованием современных лабораторных методов исследования и гранулометрического метода для определения фракционного состава ТВЧ атмосферного воздуха. Статистическая обработка полученных данных адекватна поставленным задачам, использованы методы статистического анализа на основе программных пакетов анализа «Statistica 8.0». Задачи сформулированы в соответствии с целью исследования. Результаты, положения и выводы аргументированы и логически вытекают из анализа полученных данных.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на XIII и XV Тихоокеанском медицинском конгрессе с международным участием (Владивосток, 2016, 2018); 23rd and 24th Congress of the Asian Pacific Society of Respirology (APSR) (Taipei, 2018; Hanoi, 2019); XXII и XXIII Международной научной конференции «Здоровье нации – XXI век» (Подгорица, 2018; Баку, 2019); XXVIII Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2018); II и III Международном Форуме Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды (Москва, 2017, 2018); VIII Съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (Благовещенск, 2019); XXIV и XXV Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2018» (Санкт-Петербург, 2018, 2019); XX Международной научно-практической конференции «Города России: проблемы строительства, инженерного обеспечения, благоустройства и экологии» (Пенза, 2018); Восьмой Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Новосибирск, 2018); Всероссийской научной конференции «Мониторинг состояния и загрязнения окружающей среды. Основные результаты и пути развития» (Москва, 2017); Региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам (Владивосток, 2019).

Личное участие автора

Личный вклад автора заключается в проведении научно-информационного поиска, обобщении данных литературы по теме исследования, теоретическом обосновании проблемы, проведении всех этапов исследования, получении и интерпретации первичных данных, статистической обработке материала, формулировке выносимых на защиту положений, выводов, написании и оформлении текста диссертации.

Публикации

По теме диссертации опубликованы 31 научная работа, из них 11 статей (5 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, в том числе 1 статья индексирована в международных базах цитирований WoS и Scopus, 1 статья – в Scopus). Получено 4 свидетельства о государственной регистрации патентных продуктов, опубликовано 3 информационно-методических пособия.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 135 машинописных страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения исследований, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 171 источник (47 публикаций отечественных и 124 публикации зарубежных авторов), приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

С использованием метода отбора проб приземного слоя атмосферного воздуха проводилась оценка уровня загрязнения ТВЧ в двух районах г. Владивостока, различных по техногенной нагрузке, за период 2013–2016 гг. Точка с высокой техногенной нагрузкой выбрана в континентальной части г. Владивостока, а точка в островной части – с незначительной. Метод позволяет определить весь дисперсный состав ТВЧ в «зоне дыхания», непосредственно оказывающей влияние на человека [Янькова с соавт., 2014; Барскова с соавт., 2017]. Расчет дисперсного состава проводился в патологических диапазонах размерности фракций, выделенных в зависимости от точки осаждения в легких, эффективности элиминации, возможных механизмов воздействия. Качественный состав взвешенных в воздухе г. Владивостока микрочастиц описан в работах исследователей [Голохваст К.С. с соавт., 2011, Голохваст К.С., 2013; Голохваст К.С. с соавт., 2013; Голохваст К.С., Чекрыжов И.Ю., 2013], проводивших оценку загрязнения различных районов г. Владивостока по осадочным пробам. Сопоставив полученные данные дисперсного состава ТВЧ с литературными данными качественного состава атмосферных взвесей типичных районов, были смоделированы взвеси частиц в соответствии с реальным поликомпонентным загрязнением взвешенными частицами приземного слоя атмосферного воздуха конкретной территории. Модельная взвесь (МВ) № 1 состояла на 78% из частиц с диаметром более 10 мкм и 22% частиц с диаметром менее 10 мкм (PM₁₀), из них доля PM_{2,5}, представляющих наибольшую угрозу для клеток, составляла 5%, грубодисперсные частицы 2,5–10 мкм составили 17%. По качественному наполнению МВ № 1 состояла на 10% из частиц сажи и пепла, 70% составили минералы, 10% – металлические частицы и по 5% – частицы синтетического и органического происхождения. МВ № 1 соответствовала району с незначительной техногенной нагрузкой. МВ № 2 содержала 70 % частиц с диаметром менее 10 мкм: мелкодисперсных до 2,5 мкм – 34 %, 2,5–10 мкм – 36 %. Доля частиц более 10 мкм в диаметре составила 30%. По качественному наполнению МВ № 2 состояла на 40% из частиц сажи и пепла, 40% составили минералы, 10% – металлические частицы и по 5% – синтетические и органические частицы. МВ № 2 характеризовала район с высокой техногенной нагрузкой.

Отбор бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) проводился у 17 крыс линии Вистар с последующим выделением, культивированием макрофагов и проведением нагрузочных тестов МВ. АМ разделили на 3 группы. На третьи сутки культивирования в культуральную среду 2-ой группы добавляли МВ № 1, а для 3-ей – МВ № 2, 1-я группа являлась контрольной. Доза нагрузки составила 1 мкг/100 тыс. клеток. Нагрузочные тесты проводили в течение 2 суток. До и после нагрузки

проводилась оценка жизнеспособности клеток, доля «живых клеток» после нагрузки во 2-й и 3-ей группах составила не менее 85% и не имела статистически значимых различий между 2-ой и 3-ей группами.

Исследования параметров окислительно-восстановительного гомеостаза клетки проводили в культуре АМ и среде их культивирования. Содержание гидропероксидов липидов (ГПЛ, усл. ед.) определяли в гептан-изопропанольных экстрактах [Галактионова Л.П., 1998; Новгородцева Т.П., 2003]. С помощью специальных биохимических и иммунологических методов определяли уровни малонового диальдегида (МДА, ммоль/л), 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-ОХДГ, нг/мл), тиоредоксина (нг/мл), протеин карбонила (ПК, нмоль/мг) (Northwest Life Science Specialties, LLC, USA), общей антиоксидантной активности (АОА, ммоль/л) (Randox Laboratories Ltd., UK), глутатиона (общего, окисленного и восстановленного, мкмоль/л) (ArborAssays, USA) согласно инструкции к набору.

Статистическую обработку проводили при помощи программы «Statistica 8.0». Для сравнения полученных данных применяли U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. При расчете взаимодействий использовали модуль программы с отбором парных корреляций r при $p < 0,05$. В расчетную процедуру показателя Дв вводили корреляционные связи r , имеющие статистическую значимость результата ($p < 0,05$), фактическая величина которых суммировалась, а затем соотносилась к предполагаемой максимальной сумме корреляционных связей при $R=1,0$.

$$Дв = \frac{\sum_i^n r}{\sum_i^N R} \times 100,$$

где: Дв – показатель внутрисистемной напряженности (в %); n – количество корреляционных связей ($p < 0,05$); r – величина фактической корреляционной связи ($p < 0,05$); N – максимальное число предполагаемых корреляционных ячеек в матрице; R – максимальная величина корреляционной связи, равная 1,0. Показатель Дв указывал на степень функционального напряжения системы «перекисное окисление – антиоксидантная защита» под воздействием модельных взвесей.

Результаты исследований и их обсуждение

Оценка фракционного состава твердых микрочастиц, взвешенных в приземном слое атмосферного воздуха города Владивостока

Установлено содержание ТВЧ приземного слоя атмосферного воздуха г. Владивостока в следующих диапазонах размерности частиц: 0–0,1; 0,1–1,0; 1,0–2,5; 2,5–10; 10–100; 100–2000 мкм (рисунок 1).

Значимость использования диапазонов определяется различием патофизиологической роли каждого из диапазонов в развитии патологии при проникновении в организм человека. Полученные результаты свидетельствуют о различиях в содержании фракций ТВЧ в зависимости от техногенного прессинга. В атмосферном воздухе урбанизированной территории с высокой техногенной нагрузкой превалируют частицы микроразмерного диапазона, оказывающие наиболее патогенное воздействие на организм человека. Характеристикой

загрязнения территории с незначительной техногенной нагрузкой является преобладание грубой фракции с размерностью более 10 мкм.

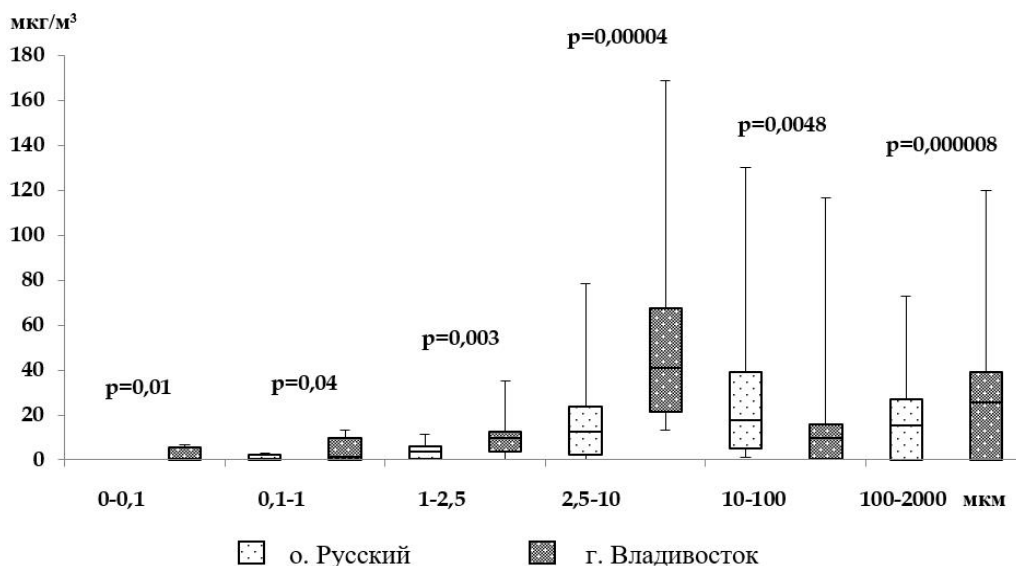
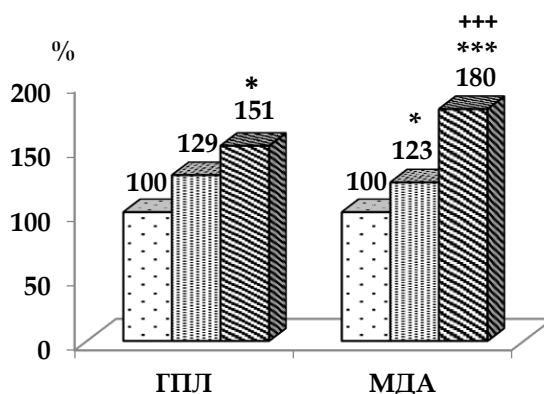


Рисунок 1 – Уровень загрязнения ТВЧ приземного слоя атмосферного воздуха районов г. Владивостока с разной степенью техногенной нагрузки.

Оценка про- и антиоксидантных процессов в культуре АМ крыс линии Вистар при воздействии модельных взвесей

На основании анализа предполагаемых триггерных механизмов был выбран комплекс методов для оценки формирования окислительного стресса и механизмов его регуляции при воздействии ксенобиотиков атмосферного воздуха на макрофаги БАЛ экспериментальных животных. Изменение содержания ГПЛ и МДА в культуре клеток характеризовало процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) внутриклеточных структур АМ (рисунок 2).



□ – 1 группа, интактная, n=17

▨ – 2 группа, нагрузка МВ № 1, n=17

▩ – 3 группа, нагрузка МВ № 2, n=17

Рисунок 2 – Показатели перекисного окисления липидов в культуре АМ.

Примечание к рисункам 2–6: относительно 1-ой группы: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; относительно 2-ой группы: + – $p < 0,05$; ++ – $p < 0,01$; +++ – $p < 0,001$.

Уровень ГПЛ во 2-ой группе не отличался от значений контроля, т.к. в МВ № 1 частицы с размерностью более 10 мкм составляли 78%. Данные частицы не подвергались фагоцитозу в связи со своими размерами. Доля поглощенных частиц не вызвала статистически значимых изменений в содержании ГПЛ по сравнению с контрольной группой. Однако содержание ГПЛ в 3-ей группе было выше контроля на 51%, что свидетельствовало об усилении ПОЛ вследствие преобладания в МВ № 2 частиц фагоцитируемых фракций. Образование конечных метаболитов ПОЛ – МДА характеризовало интенсификацию процесса. Наибольшее повышение, на 80%, уровня продукции МДА наблюдалось в 3-ей группе АМ. Данная характеристика содержания ГПЛ и МДА в культуре АМ свидетельствовала об усилении процессов пероксидации липидов при воздействии обеих модельных взвесей ТВЧ. Однако, уровень интенсификации ПОЛ был наиболее выражен при действии МВ № 2, идентичной по содержанию микрочастиц атмосферному воздуху района с высокой техногенной нагрузкой.

Для поддержания окислительно-восстановительного баланса и структурной целостности клетки в условиях образования большого количества метаболитов перекисного окисления и постоянно образующихся под воздействием микроразмерных ТВЧ высоко реакционноспособных соединений происходило компенсаторное усиление антиоксидантных процессов и подключение репаративных механизмов (рисунок 3).

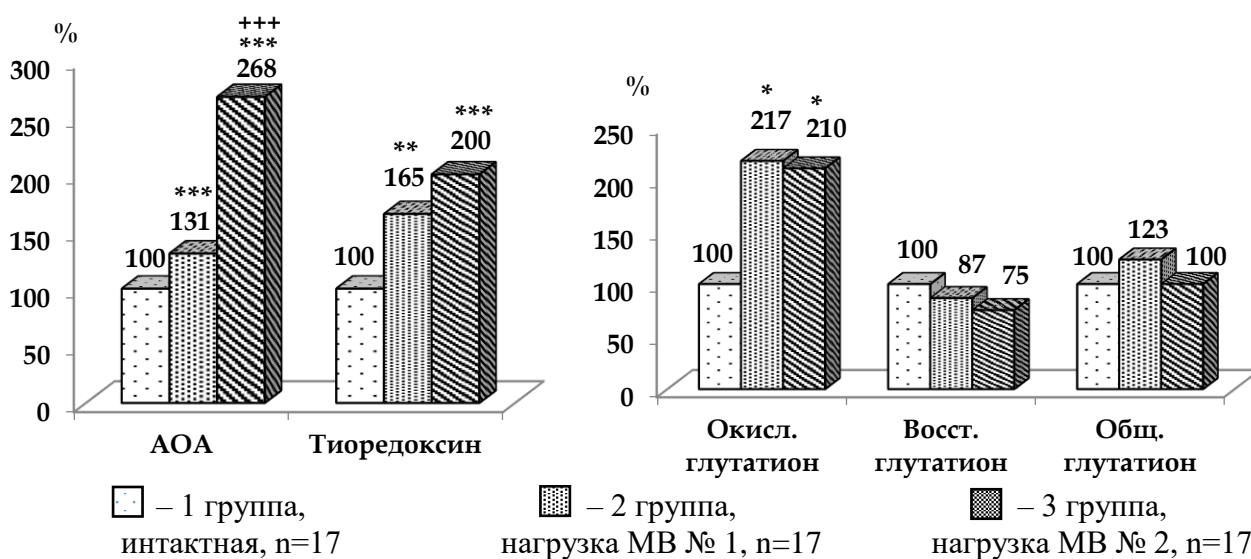


Рисунок 3 – Показатели антиоксидантной системы в культуре АМ.

Для оценки активности АОС использовался интегральный показатель. В культуре клеток наблюдались статистически значимые отличия общей АОА между всеми тремя группами. Наличие частиц мелкодисперсных фракций обеих модельных взвесей в клетках усиливало ответную реакцию со стороны АОС, что можно видеть по увеличению показателя АОА. Наличие в МВ № 1 даже небольшой доли (5%) частиц до 2,5 мкм активировало клетки. Наибольшее значение общей АОА наблюдали в 3-ей группе – увеличен в 2,7 раза ($p=0,0001$) по сравнению с контрольной и относительно 2-ой выше в 2,1 раза ($p=0,0002$).

Значительное увеличение АОА в результате воздействия МВ № 2 подтверждает прооксидантный эффект частиц мелкодисперсных фракций.

Содержание основных компонентов тиолдисульфидного звена АОС характеризовалось увеличением окисленного глутатиона в 2 раза в культуре АМ 2-ой и 3-ей групп вследствие усиленной детоксикации избыточного количества гидропероксидов. В содержании восстановленного и общего глутатиона не было выявлено статистически значимых различий, что указывало на способность макрофагов за счет частичного восстановления окисленного глутатиона поддерживать редокс-потенциал клеток на стационарном уровне. Содержание тиоредоксина в культуре клеток различается между контрольной группой и группами, нагруженными модельными взвесями: уровень тиоредоксина увеличен на 65% ($p=0,0021$) для 2-ой и в 2 раза для 3-ей групп ($p=0,0006$). Наибольшее повышение уровня тиоредоксина в 3-ей группе АМ косвенно говорило об усилении окислительных реакций, связанных с фагоцитозом частиц мелкодисперсных фракций. Внутри клетки тиоредоксин необходим для восстановления дисульфидных связей окисленных белков, в том числе окисленного глутатиона, детоксикации АФК, контроля определенных белков и сигнальных путей и как основной репаративный фактор при окислительном повреждении ДНК.

Оценка про- и антиоксидантных процессов в среде культивирования АМ крыс линии Вистар при воздействии модельных взвесей

Часть клеток, фагоцитировавших большое количество мелкодисперсных частиц, разрушилась, что способствовало выходу содержимого клетки в среду культивирования. Это обусловило при воздействии МВ № 2 повышение уровня ГПЛ в 3-ей группе, более чем на треть по сравнению со 2-ой группой. Образование МДА наблюдали как во 2-ой группе, так и в 3-ей. Причем в 3 группе АМ содержание МДА выше на 33% по сравнению со 2-ой группой (рисунок 4).

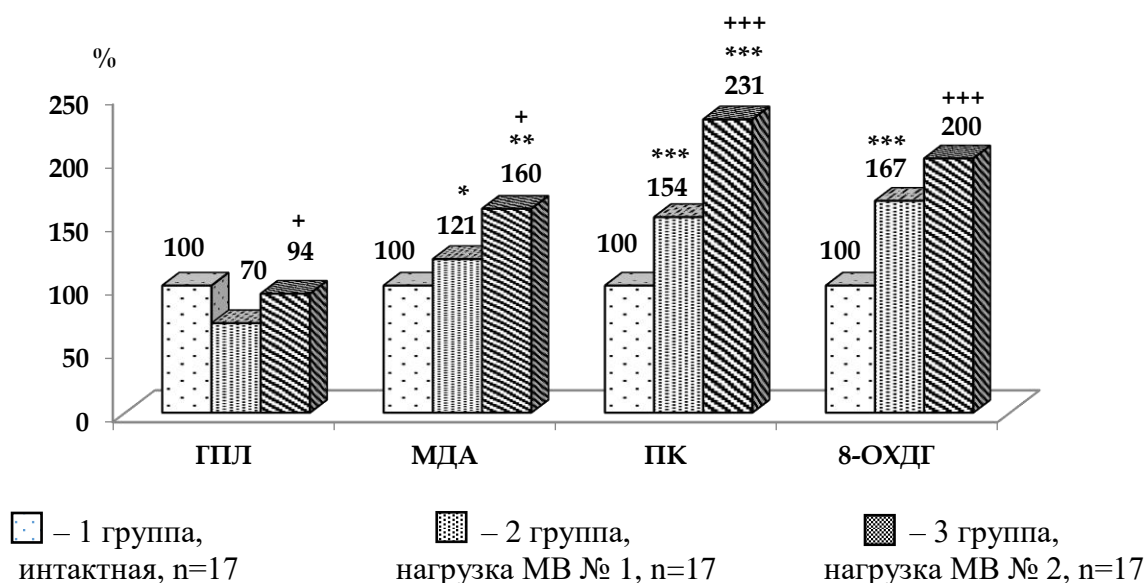


Рисунок 4 – Показатели перекисного окисления в культуральной среде АМ.

Наряду с липидами в процесс окисления вовлекались и белковые структуры, приводя к необратимой биодеградации молекул и потере ими функциональной активности. Под влиянием АФК свободные карбоксильные группы белков сравнительно рано трансформируются в карбонильные группы с образованием стабильного соединения – протеин карбонила (ПК). Наибольшее увеличение содержания ПК (в 2,3 раза) выявлено в 3-ей группе ($p=0,0001$). Также в культуральной среде определяли наличие модифицированных (окисленных) азотистых оснований нуклеиновых кислот. К их образованию приводили как продукты ПОЛ – МДА, так и сами АФК. Состояние генетического материала АМ оценивали по маркеру – 8-ОХДГ, характеризующему нарушения корректной структуры цепей ДНК. Содержание 8-ОХДГ выше на 67% ($p=0,0001$) во 2-ой группе АМ относительно значений контроля, а в 3-ей группе было увеличено в 2 раза относительно контроля ($p=0,0001$) и на 20% по отношению ко 2-ой группе ($p=0,0001$). Образование 8-ОХДГ свидетельствовало о дальнейшем усилении окислительного стресса и повреждении генетических структур, что приводило часть клеток к необратимым изменениям. Значительное увеличение уровня этого показателя наблюдали при воздействии МВ № 2, содержащей большой удельный вес мелкодисперсных фракций частиц.

В среде культивирования АМ наибольшее увеличение общей АОА наблюдали в 3-ей группе, выше на 92% ($p=0,0002$) относительно контроля и на 54% ($p=0,0066$) относительно 2-ой группы. Увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов, белков и ДНК привело к значительному компенсаторному увеличению общей АОА (рисунок 5).

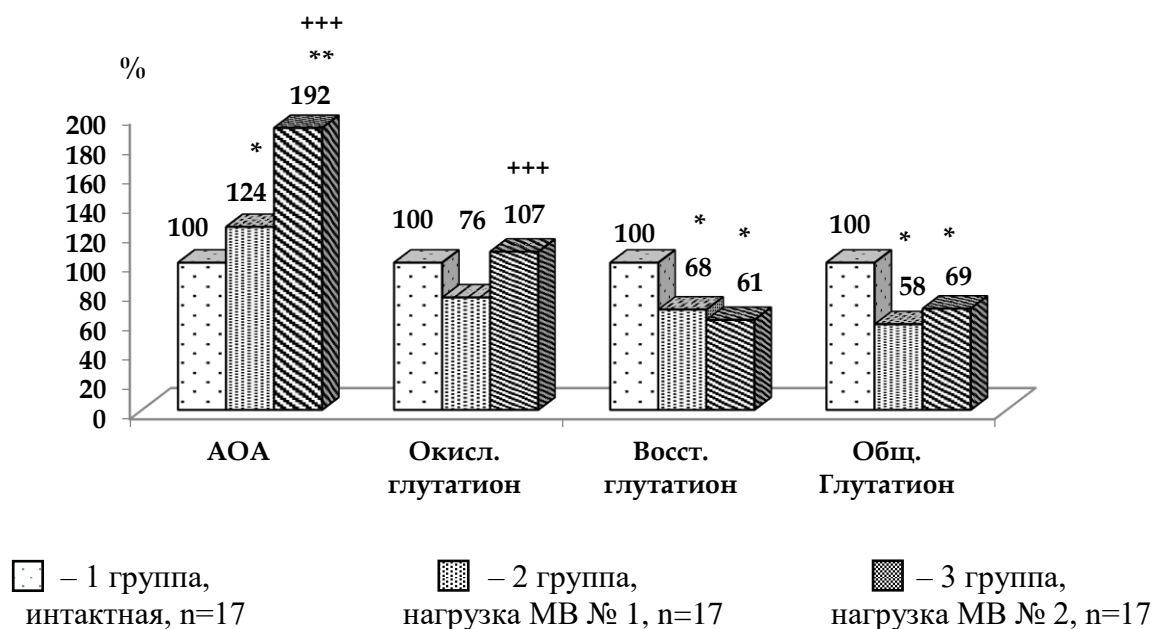


Рисунок 5 – Показатели антиоксидантной системы в культуральной среде АМ.

Оценка параметров глутатионового звена АОС в среде культивирования АМ показала, что содержание окисленного глутатиона статистически значимых различий с группой контроля не имело, поскольку макрофаги не экзоцитируют его. Обратная картина наблюдалась при исследовании уровня восстановленного

глутатиона: его содержание во 2-ой группе было снижено на 32% ($p=0,034$), а в 3-ей на 39% ($p=0,0495$) по сравнению с 1-ой. Уровень общего глутатиона во 2-ой группе снижен на 42% ($p=0,0495$), в 3-ей группе – на 31% ($p=0,0495$) по сравнению с контролем. Снижение содержания восстановленного и общего глутатиона в культуральной среде для 2-ой и 3-ей групп может быть связано с уменьшением экзоцитоза восстановленного глутатиона, так как он в большей степени необходим для осуществления антиоксидантной защиты внутриклеточного пространства. Уменьшение уровней общего и восстановленного глутатиона и увеличение уровня окисленного глутатиона являлось следствием возрастания концентрации ГПЛ при воздействии мелкодисперсных фракций ТВЧ.

Максимальный отклик исследованных в культуральной среде параметров АОС наблюдался со стороны тиоредоксинового звена. Содержание тиоредоксина во 2-ой группе выше, чем в первой, в 9 раз ($p=0,00004$). А для 3-ей группы уровень тиоредоксина в 13 раз ($p=0,00002$) превышал уровень контроля и на 44% ($p=0,0045$) уровень 2-ой группы (рисунок 6).

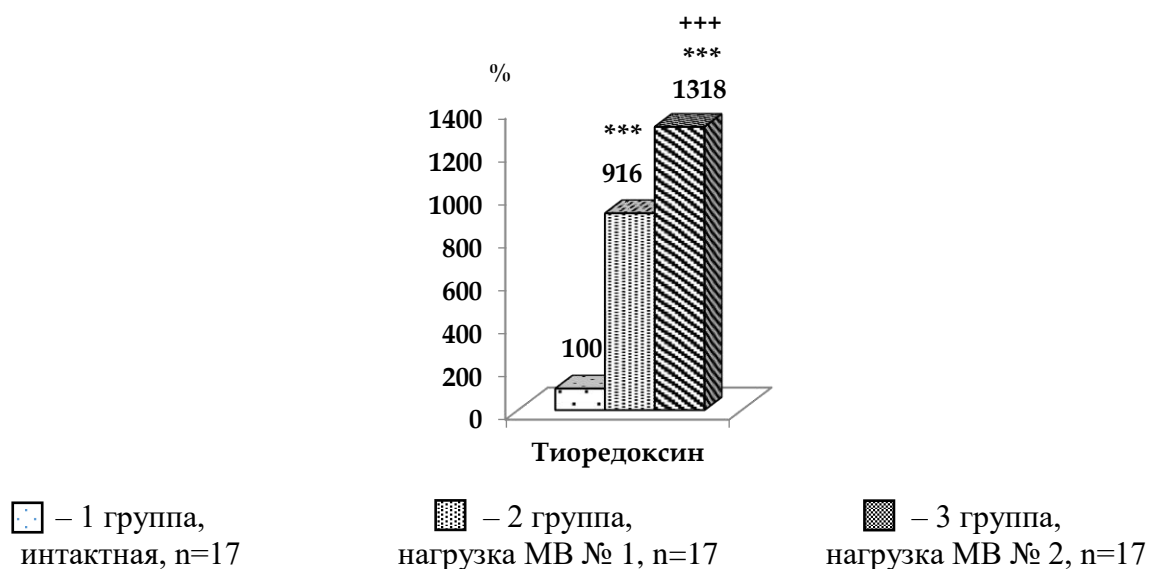


Рисунок 6 – Содержание тиоредоксина в культуральной среде АМ.

Это связано с усилением выработки белка в ответ на прооксидантное действие частиц мелкодисперсных фракций, в наибольшей степени представленных в МВ № 2. Данные частицы совпадают с размерами бактериальной клетки и чаще фагоцитируются АМ, что обуславливает их большую патогенность. В ответ на воздействие АМ активно синтезировали и экзоцитировали тиоредоксин. Обладая хемотаксической активностью, он «привлекает» клетки к скоплениям частиц, от которых необходимо избавиться. Таким образом, происходило усиление синтеза тиоредоксина, участвующего в хемотаксисе макрофагов и инактивирующего запуск апоптоза в АМ.

Взаимосвязь показателей прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза альвеолярных макрофагов с характеристиками модельных взвесей

Определены наиболее значимые параметры ответной реакции АМ на повреждающий фактор. Тиолдисульфид-зависимые антиоксидантные процессы

вносят существенный вклад в защиту макрофагов от действия окислительного стресса, индуцированного воздействием мелкодисперсных твердых частиц. Анализ содержания основных компонентов тиолдисульфидного звена АОС показал, что в ответ на воздействие МВ, характеризующих атмосферное загрязнение обоих районов, происходит повышение содержания окисленного глутатиона в культуре клеток, что косвенно подтверждает прооксидантное действие ТВЧ. Однако, наибольшее число связей (по 6 связей в трех группах, в одном случае выявлена сильная связь – $r=0,7$ ($p=0,0007$)) с частицами в диапазоне от 1 до 2,5 мкм) выявлено у тиоредоксина, что объясняется его многофункциональной ролью в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза клетки. Влияние частиц обеих взвесей затрагивает синтез тиоредоксина, участвующего в восстановлении окисленных белков, в том числе глутатиона, репарации ДНК и хемотаксисе макрофагов, значительно увеличивая его концентрацию в культуральной среде. Происходит усиление синтеза тиоредоксина, взаимодействующего с сигнальными белками и инактивирующего запуск апоптоза в АМ.

Исследования последних лет свидетельствуют о различиях в патогенности ТВЧ, формирующих состояние воздушной среды на территории различных регионов. Один из важнейших факторов этого явления – это дисперсность загрязняющих атмосферный воздух микрочастиц. Анализ корреляционных связей показателей ответной реакции АМ с характеристиками МВ показал зависимость окислительно-восстановительного гомеостаза клетки, как от качественного, так и дисперсного составов. Для определения вклада каждой группы факторов в ответную реакцию клетки был рассчитан их удельный вес (рисунок 7).

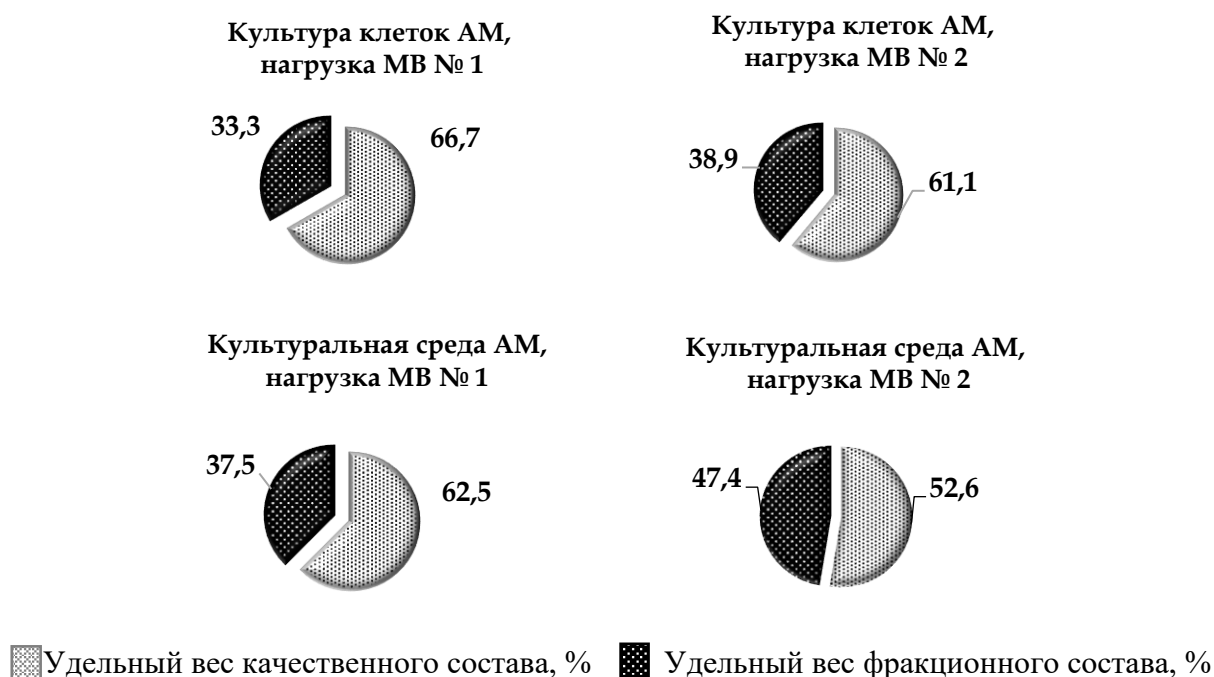


Рисунок 7 – Доля вклада качественного и дисперсного состава в ответную реакцию клетки.

Качественные характеристики ТВЧ внесли большой вклад и в культуре клеток, и в культуральной среде при воздействии обеих МВ, доля этих факторов составила от 52,6% до 66,7%. Тем не менее, доля вклада дисперсного состава ТВЧ, характеризующих загрязнение атмосферного воздуха в районе с высокой техногенной нагрузкой, выше, чем при воздействии МВ № 1, как в культуре клеток (38,9% против 33,3%), так и в культуральной среде АМ (47,4% против 37,5%). Таким образом, при увеличении в модельной взвеси доли мелкодисперсных частиц происходит увеличение вклада дисперсного состава ТВЧ.

Интегральный внутрисистемный отклик (Дв, $p < 0,05$) параметров окислительно-восстановительного гомеостаза в опытных группах АМ характеризуется усилением внутрисистемной напряженности по сравнению с контрольной группой, причем наибольшее напряжение наблюдается в результате воздействия МВ № 2 (рисунок 8).

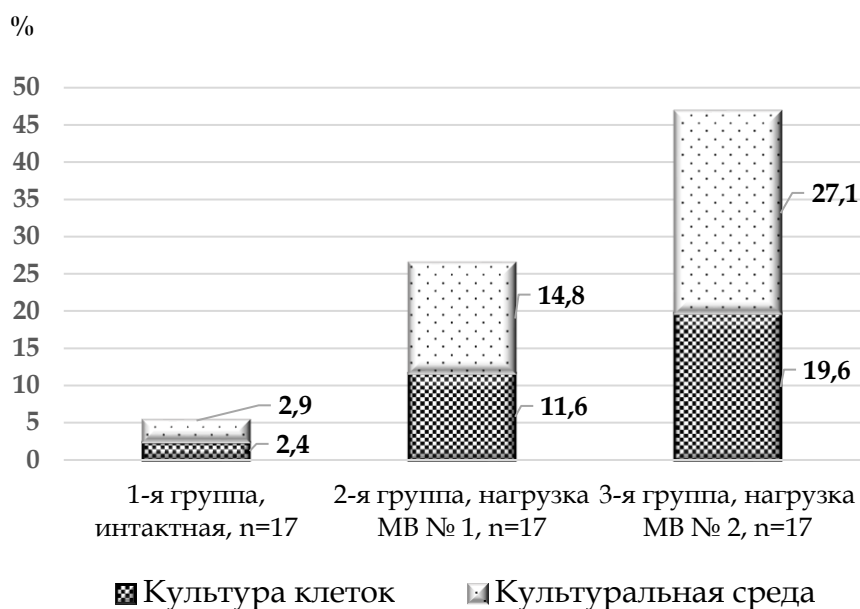


Рисунок 8 – Интегральный отклик (Дв, %, $p < 0,05$) параметров окислительно-восстановительного гомеостаза альвеолярных макрофагов на воздействие модельных взвесей ТВЧ.

Мощность интегральных внутрисистемных связей в культуре клеток 2-ой группы выше показателя интактной группы в 4,8 раза, в то время как в культуре клеток 3-ей группы – выше значений контроля в 8,2 раза и в 1,7 раза, чем во 2-ой группе. Ответная реакция со стороны культуральной среды более выражена, чем отклик клеток. В наибольшей степени прореагировала культуральная среда 3-ей группы АМ: показатель выше в 9,3 раза, чем в группе контроля и в 1,8 раза, чем во 2-ой группе.

Полученная внутрисистемная реакция клеток на воздействие модельных взвесей характеризует функциональное напряжение окислительно-восстановительного гомеостаза, причем развитием более выраженного дисбаланса характеризуется клеточная культура, подвергнутая воздействию

МВ № 2, представленной в большей степени частицами фагоцитируемых фракций. Наличие большего количества не фагоцированных альвеолярными макрофагами ТВЧ мелкодисперсных фракций в культуральной среде 3-ей группы ведет к значительному увеличению функциональной напряженности клеток.

Таким образом, при увеличении содержания или более длительном стресс-индуцирующем воздействии $PM_{2,5}$ происходит интенсификация окислительного стресса. Истощение резервных возможностей АОС и переход процессов деструкции на системный уровень будет способствовать развитию предпосылок для формирования патологии органов дыхания.

ВЫВОДЫ

1. Установлено содержание ТВЧ приземного слоя атмосферного воздуха в патофизиологических диапазонах размерности частиц, выделенных в зависимости от точки осаждения ТВЧ в организме, эффективности элиминации частиц, возможных механизмов воздействия. В атмосферном воздухе урбанизированной территории с высокой техногенной нагрузкой содержится значительное количество частиц PM_1 и $PM_{2,5}$, оказывающих наиболее патогенное воздействие на организм человека. Характеристикой загрязнения территории с незначительной техногенной нагрузкой является преобладание фракции с размерностью более 10 мкм.

2. Выраженную окислительную модификацию липидных, белковых и генетических структур макрофагов БАЛ и развитие окислительного стресса вызывает воздействие мелкодисперсных ТВЧ модельной взвеси, характеризующей состав частиц воздушной среды территории с высоким техногенным прессингом.

3. Интенсивность отклика параметров окислительно-восстановительного гомеостаза АМ зависит от качественного состава и количества фагоцитируемых альвеолярными макрофагами мелкодисперсных частиц, индуцирующих продукцию АФК и свободных радикалов в клетках. При увеличении количества мелкодисперсных частиц фагоцитируемых фракций происходит увеличение вклада дисперсного состава ТВЧ в ответную реакцию системы «перекисное окисление – антиоксидантная защита».

4. Наиболее значимым участником тиолдисульфидзависимых антиоксидантных процессов является тиоредоксин, играющий ключевую (многокомпонентную) роль в протекции клеток от микротоксикантов за счет репаративного действия и участвующий в редокс-регуляции, предотвращении апоптоза и хемотаксисе макрофагов.

5. Содержание протеин карбонила и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина, свидетельствующих о необратимых окислительных модификациях белковых и нуклеиновых клеточный структур, могут использоваться как чувствительные биоиндикаторы токсического повреждения клетки от воздействия мелкодисперсных фракций твердых частиц, взвешенных в атмосферном воздухе.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ

1. Assessment of air pollution by small-sized suspended particulate matter in urbanized territories with various technogenic load (on the example of Vladivostok, Russia) / L.S. Barskova, T.I. Vitkina, T.A. Gvozdenko [et al.] // Russian Open Medical Journal. – 2019. – Vol. 8. – № 3. (WoS, Scopus)

2. Баланс глутатионзависимых процессов в альвеолярных макрофагах крыс линии Wistar при воздействии твёрдых взвешенных частиц атмосферного воздуха / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова, Н.Е. Зюмченко [и др.] // Гигиена и санитария. – 2020. – Т. 99, № 2. – С. 200–205. (Scopus)

3. Барскова, Л.С. Регуляция тиолдисульфидными антиоксидантными системами окислительного стресса, индуцированного атмосферными взвешенными частицами / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2019. – № 73. – С. 112–124.

4. Методологические подходы к экспериментальному исследованию воздействия микроразмерных взвесей атмосферного воздуха / Т.И. Виткина, К.С. Голохваст, Л.С. Барскова [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2019. – № 73. – С. 80–86.

5. Формирование загрязнения атмосферного воздуха города Владивостока и его влияние на распространение болезней органов дыхания / Л.В. Веремчук, В.И. Янькова, Т.И. Виткина, Л.С. Барскова [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2015. – № 4(35). – С.55–61.

Статьи, опубликованные в научных журналах, книгах и сборниках

6. Барскова, Л.С. Особенности ответной реакции альвеолярных макрофагов на воздействие микроразмерных твердых взвешенных частиц атмосферного воздуха / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина, В.И. Янькова // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2017. – № 4(71). – С. 15–23.

7. Барскова, Л.С. Особенности загрязнения воздушной среды г. Владивостока микроразмерными частицами / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина // Города России: проблемы строительства, инженерного обеспечения, благоустройства и экологии: сборник статей XX Международной научно-практической конференции / МНИЦ ПГАУ. – Пенза: РИО ПГАУ, 2018. – С. 10–13.

8. Барскова, Л.С. Особенности продукции тиоредоксина в культуре альвеолярных макрофагов в ответ на воздействие микротоксикантов атмосферного воздуха / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина // Материалы XXIII Международной научной конференции «Онкология-XXI век», IX Итало-российской конференции по онкологии и эндокринной хирургии. – Баку, Азербайджанская Республика, 29 апреля – 5 мая 2019. – С. 53–55.

9. Виткина, Т.И. Окислительный стресс как ответ на воздействие микроразмерных твердых взвешенных частиц атмосферного воздуха / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова // Материалы XXII Международной научной конференции «ЗДОРОВЬЕ НАЦИИ – XXI век» – Пермь : Изд-во «Книжный формат», 2018. – С. 30–33.

10. Влияние модельных взвесей микроразмерных твердых взвешенных

частиц атмосферного воздуха на морфофункциональную характеристику и параметры перекисидации липидов альвеолярных макрофагов крыс линии Вистар / В.И. Янькова, Т.И. Виткина, Н.Е. Зюмченко, Л.С. Барскова [и др.] // *Здоровье. Медицинская экология. Наука.* – 2017. – Т. 71. – № 4. – С. 80–86.

11. Оценка репаративных возможностей альвеолярных макрофагов при воздействии микрочастиц воздушной среды / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова, Т.А. Гвозденко [и др.] // *Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов: Материалы Восьмой Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 16–18 октября 2018 г., г. Новосибирск / отв ред. В.А. Шкурупий; Мин-во науки и высшего образования РФ, ФИЦ ФТМ.* – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2018. – С. 10–13.

Тезисы, опубликованные в научных журналах, книгах и сборниках

12. Assessment of the pathophysiological size ranges of air microsuspensions causing development and progression of respiratory diseases / M.V. Antonyuk, L.S. Barskova, T.I. Vitkina [et al.] // *Respirology.* – 2018. – Vol. 23, Iss. S2. – P. 266. (Scopus)

13. Bioindicators of early stage of alveolar macrophages damage induced by exposure to air micro-toxicants / T.I. Vitkina, L.S. Barskova, Y.K. Denisenko, T.A. Gvozdenko [et al.] // *Respirology.* – 2019. – Vol. 24, Iss. S2. – P. 111. (Scopus)

14. Барскова, Л.С. Метод отбора и анализа проб атмосферного воздуха для определения фракционного состава твердых взвешенных частиц микроразмерного ряда / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина, В.И. Янькова // В книге: *Экологические проблемы современности: выявление и предупреждение неблагоприятного воздействия антропогенно детерминированных факторов и климатических изменений на окружающую среду и здоровье населения. Материалы Международного Форума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды.* – Москва, 14-15 декабря 2017. – С. 43–44.

15. Барскова, Л.С. Изменение окислительно-восстановительных процессов в альвеолярных макрофагах крыс при воздействии модельных взвесей приземного слоя атмосферного воздуха / Л.С. Барскова // *Актуальные проблемы биомедицины – 2018 : Материалы XXIV Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием, Санкт-Петербург, 12-13 апреля 2018 г. / Отв. ред. Т.Д. Власов.* – СПб.: РИЦ ПСПбГМУ, 2018. – С. 32–33.

16. Барскова, Л.С. Динамика окислительно-восстановительных процессов в бронхоальвеолярном лаваже крыс линии Vistar при воздействии атмосферных микроразмерных взвесей / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина // *Материалы III Международного Форума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды «Современные проблемы оценки, прогноза и управления экологическими рисками здоровью населения и окружающей среды, пути их рационального решения».* – Москва, 13-14 декабря 2018. – С. 21–23

17. Барскова, Л.С. Определение фракций твердых микрочастиц, загрязняющих приземный слой атмосферного воздуха и способствующих развитию экологозависимых заболеваний органов дыхания // Л.С. Барскова, Т.И. Виткина // *Сборник трудов конгресса. XXVIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания; Под. ред. акад. А.Г. Чучалина.* – Москва, 2018. – С. 196.

18. Барскова, Л.С. Прооксидантное действие микровзвесей атмосферного воздуха города Владивостока на альвеолярные макрофаги / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина, К.С. Голохваст // Тихоокеанский медицинский журнал: материалы XV Тихоокеанского медицинского конгресса с международным участием, 26-28 сентября 2018 г., Владивосток [Электронный ресурс] / под общ. ред. В.Б. Шуматова; Тихоокеанский государственный медицинский университет. – Электрон. дан. – Владивосток: Медицина ДВ, 2018. – № 3. Приложение. – С. 15–16.

19. Барскова, Л.С. Вклад тиол-дисульфидного звена в антиоксидантную защиту альвеолярных макрофагов при воздействии модельных взвесей воздушной среды / Л.С. Барскова // Материалы XXV Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2019». – Санкт-Петербург, 2019. – С. 31–33.

20. Барскова, Л.С. Генотоксическое воздействие атмосферных микрочастиц на альвеолярные макрофаги крыс линии Вистар / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина // Материалы VIII Съезда врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока. – Благовещенск, 2019. – С. 152–154.

21. Воздействие микротоксикантов атмосферного воздуха на органы дыхания крыс линии Вистар / Л.С. Барскова, Н.Е. Зюмченко, Н.П. Токмакова [и др.] // Материалы Региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам, Владивосток, 15–30 апреля 2019 г. [Электронный ресурс] / Отв. ред. А.В. Малюгин. – Электрон. дан. – Владивосток: Дальневост. федерал. ун-т, 2019.

22. Определение диапазонов аэродинамического диаметра частиц приземного слоя воздуха урбанизированной территории, способствующих формированию экологозависимых заболеваний органов дыхания / Л.С. Барскова, Т.И. Виткина, Т.А. Гвозденко [и др.] // Материалы VIII Съезда врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока. – Благовещенск, 2019. – С. 155–159.

23. Прооксидантное воздействие атмосферных твердых взвешенных частиц на альвеолярные макрофаги крыс линии Вистар / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова, Т.А. Гвозденко [и др.] // Сборник трудов конгресса. XXVIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания; Под. ред. акад. А.Г. Чучалина. – Москва, 2018. – С. 105.

24. Янькова, В.И. Определение фракционного состава твердых взвешенных частиц микроразмерного ряда в приземном слое атмосферного воздуха / В.И. Янькова, Л.С. Барскова, Т.И. Виткина // В книге: Мониторинг состояния и загрязнения окружающей среды. Основные результаты и пути развития: тезисы докладов Всероссийской научной конференции. Москва, 20-22 марта 2017 г. / Отв. сост. А.А. Трунов, П.Д. Полумиева, А.А. Романовская. [Электронный ресурс] — М.: ФГБУ «ИГКЭ Росгидромета и РАН», 2017. – С. 169.

Свидетельства о государственной регистрации патентных продуктов

25. Гранулометрический состав твердых взвешенных частиц микроразмерного ряда в атмосферном воздухе урбанизированных территорий [Текст]: свидетельство 2017621159 Рос. Федерация / Янькова В.И., Барскова Л.С., Виткина Т.И., Гвозденко Т.А.; заявл. 14.08.2017; зарегистр. 05.10.2017.

26. Динамика показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы макрофагов бронхоальвеолярного лаважа крыс линии

Вистар, подвергнутых воздействию микровзвесей атмосферного воздуха различной дисперсности [Текст]: свидетельство 2019620089 Рос. Федерация / Виткина Т.И., Барскова Л.С., Гвозденко Т.А., Сидлецкая К.А.; заявл. 27.12.2018; зарегистр. 17.01.2019.

27. Воздействие климато-погодных параметров на уровень загрязнения атмосферного воздуха города Владивостока микроразмерными частицами [Текст]: свидетельство 2019620216 Рос. Федерация / Виткина Т.И., Барскова Л.С., Гвозденко Т.А., Веремчук Л.В.; заявл. 23.01.2019; зарегистр. 05.02.2019

28. Показатели тиолдисульфидного звена антиоксидантной защиты альвеолярных макрофагов экспериментальных животных при воздействии микровзвесей атмосферного воздуха различной дисперсности [Текст]: свидетельство 2019621687 Рос. Федерация / Виткина Т.И., Барскова Л.С., Гвозденко Т.А., Веремчук Л.В.; заявл. 23.09.2019; зарегистр. 01.10.2019.

Методические документы

29. Методика отбора и анализ проб атмосферного воздуха для определения фракционного состава твердых взвешенных частиц микроразмерного ряда: Информационно-методическое пособие / Янькова В.И., Барскова Л.С., Голохваст К.С., Чайка В.В. Владивосток, 2015. Утв. на ученом совете НИИ МКВЛ 20.06.2015. Протокол № 10.

30. Методология экспериментального исследования воздействия микроразмерных взвесей атмосферного воздуха на клетки бронхоальвеолярного лаважа крыс линии Вистар: Информационно-методическое пособие / Виткина Т.И., Зюмченко Н.Е., Токмакова Н.П., Гвозденко Т.А., Веремчук Л.В., Барскова Л.С., Сидлецкая К.А., Голохваст К.С. Владивосток, 2018. Утверждено на ученом совете НИИ МКВЛ 28.05.2018, Протокол № 8; на Научно-техническом совете ДВФУ 25.05.2018. Протокол № 4.

31. Методика системного моделирования экологической зависимости заболеваний органов дыхания: Информационно-методическое пособие / Веремчук Л.В., Виткина Т.И., Гвозденко Т.А., Барскова Л.С. Владивосток, 2018. Утверждено на ученом совете НИИ МКВЛ 26.02.2018. Протокол № 4.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

8-ОХДГ	8-гидрокси-2'-деоксигуанозин
АМ	Альвеолярные макрофаги
АОА	Антиоксидантная активность общая
АОС	Антиоксидантная система
АФК	Активные формы кислорода
БАЛ	Бронхоальвеолярный лаваж
ГПЛ	Гидроперекиси липидов
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
МВ	Модельная взвесь
МДА	Малоновый диальдегид
ПК	Протеин карбонил
ПОЛ	Перекисное окисление липидов
ТВЧ	Твердые взвешенные частицы
PM	Particulate matter (твердые взвешенные частицы)