



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Владивостокский филиал
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»
Научно-исследовательский институт медицинской климатологии
и восстановительного лечения

Т.И. Виткина

**РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА,
ИНДУЦИРОВАННОГО АТМОСФЕРНЫМИ
ВЗВЕШЕННЫМИ ЧАСТИЦАМИ**

Монография

Владивосток



2024

© Владивостокский филиал ДНЦ ФПД –
НИИМКВЛ, 2023

© Оформление. ФГАОУ ВО ДВФУ, 2024

ISBN 978-5-7444-5749-5

УДК 615.478
ББК 51.1(2)

Рецензенты:

М.А. Даренская, профессор РАН, д-р биол. наук,
главный научный сотрудник ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ»;
О.А. Лебедько, д-р мед. наук,
директор Хабаровского филиала ФГБНУ ДНЦ ФПД – НИИ ОМИД

Виткина, Т.И. Регуляция окислительного стресса, индуцированного атмосферными взвешенными частицами : монография / Т.И. Виткина. – Владивосток : Изд-во Дальневост. федерал. ун-та, 2024. – 1 CD-ROM ; [83 с.]. – Загл. с титул. экран. – ISBN 978-5-7444-5749-5. – DOI <https://doi.org/10.24866/7444-5749-5>. – Текст. Изображение : электронные.

Монография посвящена проблеме решения приоритетных задач медицинской экологии. В работе освещены механизмы нарушения функционирования триггерных систем, обеспечивающих деструкцию и протекцию клетки под воздействием микротоксикантов атмосферного воздуха. Описаны результаты клинико-экспериментальных исследований, в которых использован оригинальный авторский методический и методологический подход. Показана роль тиолдисульфидной системы в формировании защиты клеток органов дыхания от влияния загрязнения воздушной среды твердыми взвешенными частицами микроразмерного ряда.

Книга рассчитана на специалистов по профилактической медицине и охране окружающей среды, практических врачей, аспирантов, студентов. Работа поможет в разработке системы мер по оздоровлению населения Приморского края.

Текстовое электронное издание

Минимальные системные требования:

процессор с частотой 1,3 ГГц (Intel, AMD); оперативная память 256 МБ,
свободное место на винчестере 335 МБ; Windows (XP; Vista; 7 и т. п.)

Программное обеспечение:

Acrobat Reader, Foxit Reader либо любой другой их аналог

Компьютерная верстка В.А. Кнышов

Дальневосточный федеральный университет
690922, Приморский край, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10.
Тел.: 8 (423) 226-54-43. E-mail: prudkoglyad.sa@dvgu.ru

Изготовитель CD-ROM:

Дальневосточный федеральный университет,
690922, Приморский край, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10.

Подписано к использованию 23.08.2024 г.

Объем 2,40 Мб. Тираж 50 экз.

© Владивостокский филиал ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ, 2024
© Оформление. ФГАОУ ВО ДВФУ, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. Механизмы формирования окислительного стресса при воздействии микрочастиц атмосферного воздуха	12
1.1. Окислительный стресс как ключевой механизм повреждения макромолекул при воздействии атмосферных поллютантов	14
1.2. Антиоксидантные системы, участвующие в поддержании тиол-дисульфидного гомеостаза	25
ГЛАВА 2. Роль тиолдисульфидной системы в формировании ответной реакции на воздействии микроразмерных взвесей атмосферного воздуха	37
2.1. Ответная реакция систем, обеспечивающих пероксидативный баланс, в бронхоальвеолярном лаваже крыс линии Vistar на микротоксианты воздушной среды	38
2.2. Ответная реакция систем, обеспечивающих пероксидативный баланс у населения, проживающего на территориях с разным уровнем загрязнения атмосферного воздуха частицами микроразмерного ряда	51
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	57
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	62

ВЕДЕНИЕ

Благоприятное состояние окружающей среды составляет, по данным ВОЗ, около 73% вклада в качество жизни и здоровья населения. Загрязненная окружающая среда является социально и экологически принудительной составляющей, в силу чего ее негативное воздействие на организм проявляется рано или поздно, несмотря на самый здоровый личностный образ жизни [1].

Атмосферный воздух относится к приоритетным санитарно-гигиеническим факторам среды обитания, формирующими негативные тенденции в состоянии здоровья населения. Согласно последним данным, почти 99% населения мира дышит воздухом, качество которого не соответствует допустимым нормам. Как показал анализ, неблагоприятные последствия загрязнения воздуха для здоровья могут проявляться при гораздо более низком уровне концентрации токсикантов, чем предполагалось ранее [2].

Загрязнение атмосферного воздуха является главным фактором риска для здоровья населения от воздействий окружающей среды [3-6], определено как 9-ый из 67-ми факторов риска для установленной инвалидности и вызывает миллионы преждевременных смертей во всем мире, 25% из которых являются респираторного происхождения [6-7].

В настоящее время исследования загрязнений атмосферного воздуха перешли на качественно новый уровень в связи с возможностью определения нано- и микроразмерных твердых взвешенных частиц. Механизм их воздействия на живой организм может принципиально отличаться от крупноразмерных поллютантов и представлять наибольшую опасность в плане развития экозависимой патологии. Наночастицы обладают более высокой токсичностью, способны адсорбировать большое количество патогенных веществ, проникать в неизмененном виде через клеточные барьеры, циркулировать и накапливаться в органах и тканях, вызывая выраженные патоморфологические поражения внутренних органов, крайне тяжело выводятся из организма [8-15] (рис. 1). В зависимости от аэродинамического диаметра выделяют фракции частиц, попадающие в различные области дыхательных путей. Наиболее важными для изучения являются: трахеобронхиальная фракция – доля вдыхаемых частиц, попадающих за пределы гортани, но не попадающих в нижние дыхательные пути, и респирабельная фракция, когда областью оседания был участок газообмена от дыхательных бронхиол

до альвеол. Частицы PM_{10} относятся к трахеобронхиальной фракции, $PM_{2,5}$ – к респирабельной, и являются наиболее патогенными [16-17].

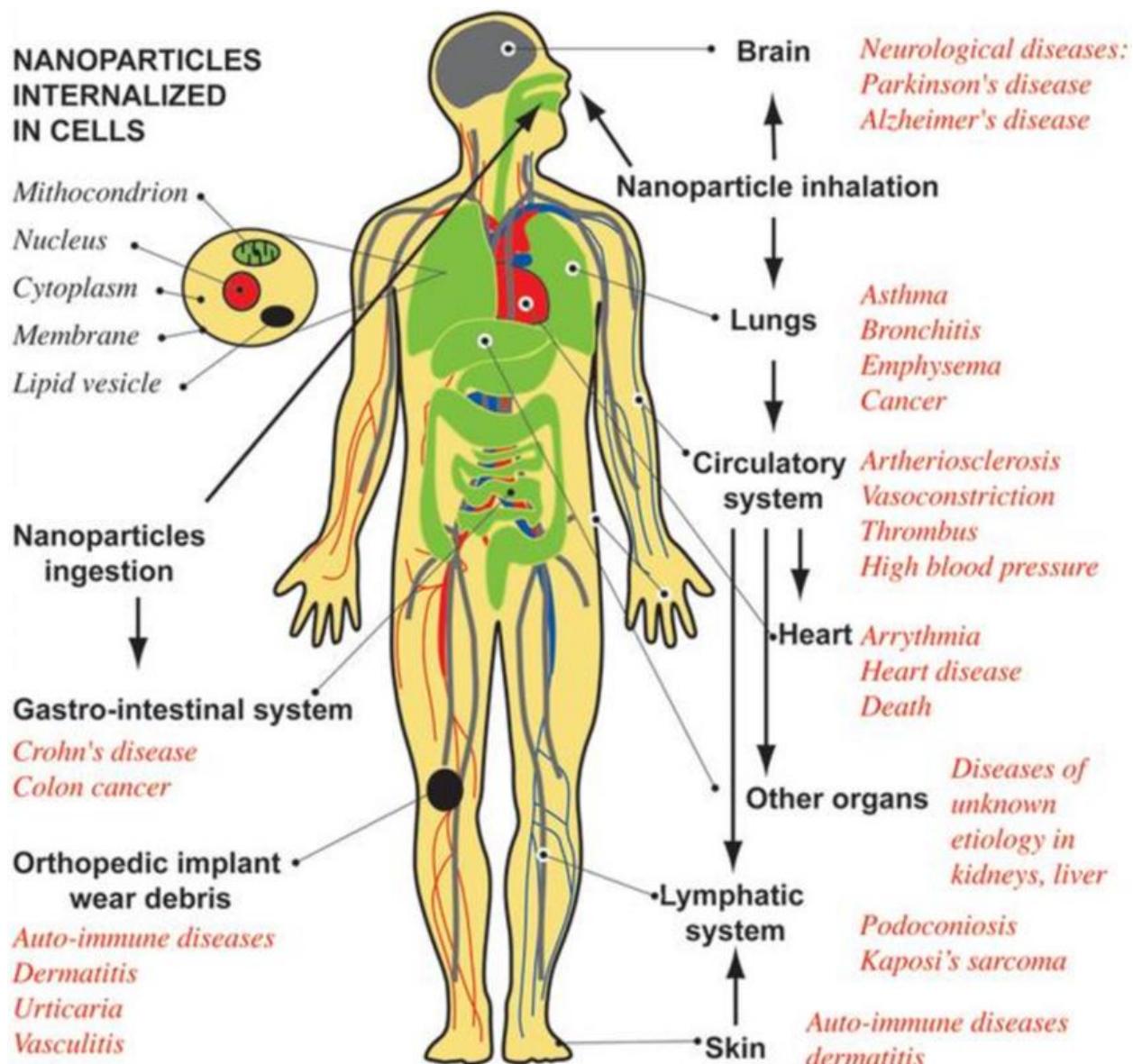


Рисунок 1. Заболевания, ассоциированные с воздействием наночастиц

Частицы грубой фракции PM_{10} (от 2,5 до 10 мкм) являются вторичными, образуются, преимущественно, при эрозии почвы, из дорожной пыли, строительного мусора и продуктов сжигания нефти и биоаэрозолей, таких как грибы, бактерии, эндотоксины и пыльца, в то время как тонкая фракция $PM_{2,5}$ и ультратонкие частицы, в основном, происходят от прямых выбросов в процессах

сгорания, таких, как использование транспортными средствами продуктов ископаемого топлива, сжигание древесины и горение угля [18].

Многочисленные исследования показали, что PM_{2,5} способны глубоко проникать в дыхательные пути, особенно фракция ультрадисперсных частиц (<100 нм, UFP) может нарушать целостность многих физиологических барьеров и перемещаться из легких в большой круг кровообращения, в свою очередь, получая доступ к различным вторичным органам-мишеням, которые включают, помимо прочего, сердце, почки, печень, селезенку, лимфатические узлы и мозг у людей и животных [19].

Длительное воздействие повышенных концентраций взвешенных частиц с диаметром менее 2,5 мкм (PM_{2,5}) в атмосферном воздухе сокращает продолжительность жизни в популяции от нескольких месяцев до нескольких лет. Недавние исследования указывают на ассоциированные с длительным воздействием PM_{2,5} неблагоприятные последствия для здоровья даже при концентрациях ниже рекомендованных ВОЗ и европейскими институтами [14, 20-44]. Среди загрязнителей воздуха частицы менее 2,5 мкм в диаметре (PM_{2,5}) были признаны в качестве одной из основных причин смерти и инвалидности во всем мире. Показано, что увеличение загрязнения воздуха микрочастицами PM_{2,5} на каждые 10 мг/м³ увеличивает, примерно, на 4,6 % риск смерти от сердечно-легочных причин и на 8 % - от рака легких [20].

Содержание твердых взвешенных частиц является регламентированным критерием загрязненности атмосферного воздуха. Нормирование качества атмосферного воздуха направлено на обеспечение охраны здоровья и благоприятных условий для населения, а также охрану окружающей среды. В Европе и США в основу мониторинга и соответствующего нормирования взвешенных веществ атмосферного воздуха положено выделение и взвешивание таких фракций ТВЧ, как PM₁₀ и PM_{2,5}. На сегодняшний день на территории РФ законодательно закреплены критерии уровней загрязнения атмосферного воздуха населенных мест по взвешенным частицам PM₁₀ и PM_{2,5}. Однако постоянный мониторинг этих частиц ведется лишь в отдельных мегаполисах, в научных целях выполнен ряд работ по установлению фракционного состава взвешенных веществ в атмосферном воздухе населенных мест [45].

Для оценки загрязнения атмосферного воздуха PM₁₀ и PM_{2,5} используются данные наблюдений, полученные одним из перечисленных методов: гравиметрический метод, методы ротационной сепарации, жидкостной седиментации, расчетный метод. Ряд научных проблем решается с применением методологии отбора проб снежного покрова на содержание взвешенных веществ.

Значительным недостатком этого метода является отсутствие всесезонности отбора проб, что значительно сужает полученный спектр характеристик вымытых из воздуха примесей. В нашем Институте была разработана авторская методика отбора проб воздуха в жидкую поглотительную среду. Метод позволяет определить весь дисперсный состав твердых взвешенных частиц приземного слоя атмосферного воздуха в различные сезоны года с учетом региональных особенностей. Важным фактором является то, что отбор проб производится в «зоне дыхания», непосредственно оказывающей влияние на человека [46].

Наиболее подвержены неблагоприятному воздействию загрязняющих воздух микрочастиц пожилые люди, дети и больные с уже имеющимися заболеваниями сердечно-сосудистой и дыхательной систем. В современной литературе преимущественно изучается токсичность отдельных компонентов атмосферных взвесей техногенного происхождения. Однако атмосферный воздух характеризуется разнообразным составом веществ как природного, так и техногенного происхождения, механизм действия которых меняется в зависимости от их соотношения, поэтому качественный состав атмосферных взвесей также имеет большое значение. Значительную опасность для органов дыхания и здоровья может представлять ряд компонентов выхлопных газов автомобилей – твердые нано- и микрочастицы сажи, угарный газ, оксиды серы, формальдегид, тяжелые металлы, а также продукты эксплуатационного износа автомобильно-дорожного комплекса – углеродные наноматериалы с адсорбированными на них токсическими компонентами. Ранее была показана способность сажевых частиц выхлопных газов повышать риск онкологических заболеваний и служить причиной преждевременной смерти, вызывая осложнения респираторных и сердечно-сосудистых заболеваний. Как показывают последние исследования в области токсикологии, нано- и микрочастицы металлов и их оксидов обладают наиболее ярко выраженной токсичностью и могут вызвать металлоаллергоз [47-48].

К настоящему моменту четко установлена связь ТВЧ с заболеваниями бронхолегочной системы, такими как осложненная бронхиальная астма, рак легких, ХОБЛ [6, 23-35, 49], заболеваниями сердечно-сосудистой и нервной систем и т.п. [50-52]. Воздействие ТВЧ связывают с повышенным риском развития острых цереброваскулярных инсультов; заболевания сердечно-сосудистой и дыхательной систем характеризуются более тяжелым течением, большим числом обострений, ухудшением качества жизни [21, 53-55]. Основываясь на убедительных данных эпидемиологических и экспериментальных исследований, Международное агентство по изучению рака (IARC) классифицировало загрязнение атмосферного воздуха и содержащиеся в воздухе твердые частицы как канцерогенные для человека (группа 1) [56].

Мелкодисперсные частицы длительное время находятся в воздухе, переносятся на большие расстояния, проникают глубоко в легкие и легко преодолеваются защитные барьеры человеческого организма. Показана взаимосвязь воздействия самых низких уровней концентрации микрочастиц с увеличивающейся заболеваемостью и смертностью от болезней органов дыхания. В исследованиях на крысах было обнаружено, что PM2,5 преимущественно осаждается в альвеолах и цитоплазме альвеолярного эпителия в дистальных отделах легкого. Более того, количество частиц, осажденных в легких, увеличивалось по мере увеличения концентрации PM2,5. Длительное воздействие загрязнения городского воздуха приводит к снижению функциональности легких, раздражению дыхательных путей, затруднению дыхания и обострению ранее существовавших респираторных заболеваний [57-58]. Недавние исследования показали, что ингалируемые мышам PM₁₀ повышали уровни воспалительных COX-2 и NOS2 в легочной ткани; вызывали гиперпродукцию слизи из бронхиол, индуцировали воспалительные реакции в эпителиальных клетках дыхательных путей [59-61]. Однако механизмы развития этих процессов в настоящий момент требуют уточнения.

Микрочастицы могут также перемещаться в мозг и активировать неблагоприятные биологические ответы [62-63]. Длительное воздействие PM2,5 повышает риск развития ишемического инсульта, ускоряет потерю как серого, так и белого вещества у пожилых людей и нарушение развития мозга и когнитивного поведения у детей [64]. Исследования показывают, что окислительный стресс, нейровоспаление и синаптические дисфункции являются критическими событиями в прогрессировании различных нейродегенеративных инсультов в ответ на воздействие PM2,5.

Растущий объем эпидемиологических данных подтверждает, что воздействие PM2,5 может вызывать метаболические изменения у людей и способствовать возникновению метаболических нарушений, таких как сахарный диабет, гипертония и ожирение [19, 65-68]. Было показано, что кратковременное воздействие PM2,5 изменяет концентрацию метаболитов в плазме (например, неполное окисление жирных кислот и метаболическую ось глицин-орнитин-аргинин) [69]. Долгосрочное воздействие PM2,5 способствовало развитию дислипидемии с увеличением субфракций атерогенных липопротеинов (то есть общего и малого липопротеина низкой плотности (ЛПНП)-P, LDL-C, аполипопротеина (апо)-B, TRL-P, триглицеридов и общего холестерина), снижением защитных субфракций липопротеинов (т. е. холестерина липопротеинов высокой плотности, апо-A1) в подверженных воздействию группах населения [70]. Кроме того, воздействие PM2,5 может усугубить метаболические нарушения в печени, центральном органе, участвующем в различных процессах метаболизма, и способствовать

развитию неалкогольной жировой болезни печени [71-73]. Кроме того, многочисленные исследования показали, что воздействие PM2,5 повышает резистентность к инсулину с усилением системного воспаления у участников и подопытных животных, подтверждая, что воздействие PM2,5 способствует развитию сахарного диабета [74-76]. Действительно, в серии крупных эпидемиологических исследований была обнаружена положительная связь между воздействием PM2,5 и заболеваемостью диабетом 2 типа [77-78].

Хотя текущие директивы качества воздуха основываются на массовой концентрации частиц, ясно, что размер – не единственный, что определяет опасность, и в исследованиях наблюдается изменение величины последствий для здоровья населения согласно местоположению и времени года. Такие характеристики частиц, как размер в совокупности с их формой, сложным элементным составом, определяющие их свойства, площадь поверхности и массовая концентрация частиц широко изменяются во времени и пространстве.

На частицах сорбируются многочисленные токсические вещества, биологическое действие которых во многом зависит от их растворимости. Мелкие частицы являются важными носителями органических и неорганических химических веществ, таких как полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), нитро-ПАУ, альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, хинолины, металлы и водорастворимые ионы, которые могут привести к вредным последствиям, таким как воспаление, окислительный стресс, мутации и рак [56, 79]. Канцерогенные ПАУ, такие как бенз(*a*)пирен, могут метаболизироваться до реактивных промежуточных соединений, способных повреждать биомолекулы, включая ДНК [80]. Различные типы повреждений генома (хромосомные aberrации, разрывы нитей ДНК, обмен сестринскими хроматидами, аддукты ДНК, микроядра) и мутации были показаны как последствия воздействия бенз (*a*) пирена [80]. Увеличение образования активных форм кислорода (АФК), индуцированное ПАУ, также может способствовать наблюдаемым эффектам [81].

Растворимые токсиканты, сорбируемые на частицах, легко поступают в биологические жидкости (слизь, лимфу, кровь) и быстро распространяются по организму. Нерастворимые токсиканты надолго остаются в органах дыхания и оказывают в основном локальное воздействие. Токсичность более крупных частиц, возможно, обусловлена большим количеством в них биологических компонентов, таких как эндотоксин и липополисахариды, адсорбированных органических соединений.

Считается, что чем больше площадь поверхности PM2,5 и ультратонких частиц на единицу концентрации, тем больше возможность для клеточного взаимодействия и прямого течения биологической реакции. Форма частиц также

может непосредственно определяет проникающую способность частиц, что чаще всего обусловлено кристаллической структурой. Ультратонкие (нано-) частицы обладают высокой проникающей способностью: легко проникают через мембранны клеток, обнаруживаются в клеточном ядре, преодолевают гематоэнцефалический барьер [14, 54, 82]. Изучение влияния взвешенных частиц на живые организмы из-за неоднородности состава и многочисленности компонентов затруднено. Следует обратить внимание, что характер и интенсивность воздействия будет меняться в городских условиях с различными профилями РМ. Эпидемиологические исследования не выявили пороговую концентрацию, ниже которой содержание ТВЧ в атмосферном воздухе не оказывает эффекта на здоровье. Вероятно, что в человеческой популяции имеется широкий диапазон чувствительности и некоторые категории населения подвержены риску даже при самой низкой концентрации ТВЧ [3, 14, 23-35]. В многоцентровом лонгитюдном исследовании взрослых в рамках ELAPSE из Бельгии, Дании, Англии, Нидерландов, Норвегии, Рима (Италия) и Швейцарии (2000-2017 г.г.) проанализировали 28153138 участников, обеспечивших 257859621 человеко-лет наблюдения, в течение которых произошло 3593741 смертей от неслучайных причин. Обнаружена значительная положительная связь между неслучайной смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний, незлокачественных респираторных заболеваний и рака легких и хроническим воздействием низких концентраций РМ2,5. Ожидается, что продолжающиеся исследования воздействия низких концентраций загрязнителей воздуха дадут дополнительную информацию для процесса установления стандартов качества воздуха в Европе и других регионах мира [83].

Микрочастицы могут действовать через разные биологические пути: РМ могут опосредовать неблагоприятное воздействие на здоровье, индуцируя генерацию активных форм кислорода макрофагами, посредством активации клеточных сигнальных путей и повреждения барьерной функции легких и антиоксидантной защиты, каждая из которых может приводить к изменению функции легких. Кроме того, клеточные взаимодействия, в результате воздействия ТВЧ могут являться причиной эпигенетических модификаций, приводя к повреждению в экспрессии гена. К этому можно добавить, что активация множества клеточных сигнальных путей может быть связана со специфическим составляющим ТВЧ. Поэтому ТВЧ от различных источников могут приводить к разнообразным ответам, что делает анализ состава из регионов важным фактором для дальнейших исследований.

Вдыхание ТВЧ атмосферного воздуха вызывает местную реакцию в легких, которая инициируется альвеолярными макрофагами (АМ) и эпителиальными клетками дыхательных путей. Макрофаги активно вырабатывают

провоспалительные медиаторы, что способствует местной воспалительной реакции в легких и развитию системной воспалительной реакции. При контакте с загрязняющими частицами АМ активируются, вырабатывают провоспалительные цитокины, и подвергаются апоптозу. Способность индуцировать апоптоз и воспаление изменяется при различных размерах и концентрации частиц. Альвеолярные макрофаги, при воздействии меньших по размеру ТВЧ, способных проникать глубоко в легкие, в значительной степени способствуют системной воспалительной реакции. Системное воспаление характеризуется мобилизацией клеток воспаления из костного мозга в кровеносную систему, с последующей их активацией, а также производством белков острой фазы в печени и увеличением циркулирующих медиаторов воспаления.

Одним из основных механизмов токсического действия нано- и микроразмерных частиц является их способность индуцировать генерацию альвеолярными макрофагами активных форм кислорода (АФК), что приводит к развитию окислительного стресса, повреждению геномного аппарата клеток, нарушению функционирования основных гомеостатических систем.

Было показано, что локальный/системный окислительный стресс и воспаление играют важную роль в патогенном воздействии PM2,5 [19, 52, 68-69, 84-85]. Воздействие PM2,5 может нарушить структурные липиды мембранны и впоследствии нарушить целостность множества физиологических барьеров [86-88]. Окислительный стресс и воспаление могут изменять профиль экспрессии генов в клетках-мишениях и/или тканях, что приводит к изменению профиля ферментов, участвующих в метаболических процессах [68, 78, 85]. Кроме того, нарушение нейроэндокринной системы (например, оси гипоталамо-гипофизарно-щитовидная железа) из-за воздействия PM2,5 может изменить метаболиты гормонов стресса, что приведет к изменению профиля экспрессии генов в клетках-мишениях и/или тканях [89-90]. Эти изменения в профиле метаболических ферментов будут непосредственно приводить к нарушениям обмена веществ, включая гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, аминокислотный, нуклеотидный, никотинатный, никотинамидный и липидный обмены [69, 72, 85, 91-94]. Кроме того, PM2,5 опосредованная дисфункция и повреждения митохондрий, которые являются центральной органеллой клеточного метаболизма, будут еще больше усугублять нарушения клеточного метаболизма [69, 92-93, 95-96]. Кроме того, воздействие PM2,5 может нарушать функцию клеточного метаболического сенсора (например, АМФ-активируемой протеинкиназы) и способствовать сдвигу в выборе и использовании как энергетических субстратов, так и их переносчиков, что приводит к нарушению образования АТФ в сердце [87, 97]. Опосредованная PM2,5 регуляция транслоказы жирных кислот может усиливать поглощение

липидов и усугублять их накопление в клетках, а также способствовать превращению сосудистых макрофагов в пенистые клетки, что в конечном итоге приводит к возникновению и прогрессированию артериальной гипертензии [52, 55, 72, 98]. В совокупности воздействие PM2.5 может изменить многочисленные метаболические процессы с помощью различных биологических механизмов в клетках-мишениях и/или тканях, вызывая дисфункцию и в конечном итоге приводя к смерти.

Способность клетки противостоять патогенному воздействию микроразмерных ксенобиотиков во многом зависит от адекватности репаративных механизмов индивидуумов, включающих в себя регуляцию факторов стрессоустойчивости клеток [23-28, 99-100]. К одному из универсальных внутриклеточных звеньев, опосредующих регуляторные функции АФК, можно отнести редокс системы, представленные главным образом системой глутатиона (GSH) и тиоредоксина (TRX). Обе эти системы, являясь наиболее чувствительными к окислительному стрессу, эффективно восстанавливают дисульфидные компоненты белков за счет активации специфических ферментных систем. TRX-система, как и глутатионовая, участвует в регуляции как экспрессии провоспалительных цитокинов, так и апоптоза. В дополнение к своей функции в качестве ключевого регулятора в окислительно-восстановительных процессах, связанных с окислительным стрессом, тиоредоксин играет важную роль в фолдинге белков, регуляции нитрозативного стресса, клеточного роста и дифференцировки [101-103].

Таким образом, исследование влияния атмосферных микрочастиц на городское население при разной экологической нагрузке и оценка ответной реакции организма являются важными исследовательскими проблемами в новом веке. Выявление наиболее патогенных компонентов и изучение патогенетических механизмов воздействия микрочастиц делает исследование этой области крайне актуальным и требует применения новых методологических приемов.

ГЛАВА 1. МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МИКРОЧАСТИЦ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

Доля взвешенных в воздухе частиц, вдыхаемых человеком, зависит от свойств частиц, скорости и направления движения воздуха вблизи человека, интенсивности вдыхания, вдыхания через нос или рот. Вдыхаемые частицы могут оседать в какой-либо области дыхательных путей или могут быть выдохнуты. Область оседания и вероятность выдоха частиц зависят от свойств частиц, особенностей строения дыхательных путей, характера дыхания и других факторов. В зависимости от аэродинамического диаметра выделяют фракции частиц, попадающие в различные области дыхательных путей. Доля взвешенных в воздухе частиц, находящихся около носа и рта называется вдыхаемой фракцией (inhalable convention), доля вдыхаемых частиц, не попадающих за пределы гортани – эксторакальной фракцией (extrathoracic fraction), если областью оседания явились проводящие пути легких (бронхи) – торакальной фракцией (thoracic convention), доля вдыхаемых частиц, попадающих за пределы гортани, но не попадающих в нижние дыхательные пути – трахеобронхиальной фракцией (tracheobronchial fraction), а если областью оседания был участок газообмена от дыхательных бронхиол до альвеол – респирательной фракцией (respirable convention). Частицы жидкостей или растворимые компоненты твердых частиц могут абсорбироваться тканями и вызывать различные виды повреждений в области оседания. Нерастворимые частицы кроме дыхательных путей могут попадать и в другие области организма человека, где они могут быть абсорбированы или вызывать биологическое воздействие.

С размерами пылевых частиц связана длительность пребывания их во взвешенном состоянии в воздухе, глубина проникновения в дыхательные пути, физико-химическая активность и другие свойства. Пылевые частицы размером более 200 мкм, подчиняясь закону тяготения, не испытывают большого сопротивления воздуха и быстро оседают с возрастающим ускорением. Пылевые частицы размером менее 200 мкм до 0,1 мкм, испытывая сопротивление воздуха, оседают с постоянной незначительной скоростью, измеряемой в миллиметрах или сантиметрах в час. Частицы пыли менее 0,1 мкм практически не оседают и находятся

в постоянном беспорядочном движении в воздухе. Таким образом, чем меньше размер пылевых частиц, тем дольше они задерживаются во взвешенном состоянии в воздухе, следовательно, тем больше возникает возможность попадания их в дыхательные пути. Благодаря сравнительно быстрому оседанию крупных пылевых частиц от 10 мкм и более преобладают пылевые частицы до 10 мкм, причем 70-90% из них составляют частицы размером до 5 мкм [104-105].

От размера частицы зависит и уровень, на котором будут осуществляться защитные механизмы, будь то клеточный или органный уровень. Один из путей воздействия ТВЧ на макрофаги твердых частиц – непосредственное усиление метаболизма фагоцитирующих клеток и активация «кислородного взрыва», что приводит к гибели макрофагов. Продукты разрушения макрофагов стимулируют суммарную дегидрогеназную активность и перекисное окисление липидов, что ведет к усилению проявления окислительного стресса, усиливают хемилюминесценцию гранулоцитов и потребление кислорода альвеолярными макрофагами, что способствует повышению содержания АФК в клетках. Достаточно интересное наблюдение сделано исследователями из Китая [106]. В своем эксперименте они использовали частицы хитозана разного размера (430 нм, 1,9 мкм, 4,8 мкм) и добавляли их в культуру мышиных макрофагов J774A.1. По окончании эксперимента было обнаружено, что частицы размером 430 нм фагоцитированы в большом количестве (более 300 частиц на одну клетку), тогда как частицы размером 1,9 мкм поглощены в очень малом количестве (примерно 6 частиц на клетку), а частицы 4,8 мкм еще меньше – всего одна частица на три клетки. Было выдвинуто предположение, что частицы крупнее 3 мкм трудно поддаются фагоцитозу. Следовательно, именно этот размер, который сопоставим с размерами бактерий, можно считать той точкой, при которой одна клетка фагоцитирует одну частицу.

Другой ведущей причиной патогенного воздействия твердых частиц на клетки является их способность усиливать избыточное образование АФК. Обладая прооксидантным эффектом, ТВЧ, фагоцитированные макрофагами и нейтрофилами, стимулируют образование различных радикалов в них. При постоянном поступлении твердых частиц в фагоцитах накапливается так называемое «пылевое депо», вызывающее усиленный синтез АФК и АФА. Когда уровень радикалов начинает превышать емкость антиоксидантной системы фагоцитов, клетки погибают. Гибель клеток приводит к развитию воспаления, что в свою очередь приводит к развитию патологических изменений в ткани.

Таким образом формируется следующая последовательность событий:

- ТВЧ контактируют с АМ и эпителиальными клетками;

- активированные макрофаги синтезируют различные вещества: оксиданты, цитокины, ферменты, биоактивные липиды и свободные радикалы, которые являются медиаторами для клеток-мишеней;
- эпителиальные клетки также начинают синтезировать цитокины, которые поступают во внеклеточный матрикс;
- клетки соединительной и эпителиальной тканей под воздействием всех этих факторов либо пролиферируют, замещая легочную ткань, либо погибают, не в силах более сопротивляться действию радикалов из-за истощения запаса антиоксидантной системы, что в итоге все равно приводит к образованию соединительнотканых рубцов.

Исходя из всего этого, можно прийти к заключению, что ТВЧ обладают высоким прооксидантным действием, прямо и косвенно стимулируют образование свободных радикалов, и, таким образом, принимают непосредственное участие в усилении окислительного стресса и патогенезе многих заболеваний.

1.1. Окислительный стресс как ключевой механизм повреждения макромолекул при воздействии атмосферных поллютантов

Химические стрессоры, к которым относятся и органические, и неорганические поллютанты, имеют различные механизмы воздействия на организм. Общим для практических всех стрессоров является то, что они вызывают окислительные повреждения клеточных компонентов активными формами кислорода.

АФК – это, как правило, небольшие молекулы, имеющие неспаренный электрон на внешнем электронном уровне и обладающие повышенной химической реактивностью. К АФК относятся супероксид (O_2^-), синглетный кислород, пероксид водорода (H_2O_2) и гидроксил-радикал (OH^{\cdot}) [107-108].

Источники образования АФК могут быть эндогенными и экзогенными. Эндогенные АФК образуются как продукты важных метаболических внутриклеточных процессов. К основным из таких процессов относятся:

- 1) аэробное дыхание, связанное с работой электрон-транспортной цепи в митохондриях;
- 2) детоксикация, катализируемая ферментами семейства цитохрома P450;
- 3) уничтожение патогенов в ходе «окислительного взрыва» при фагоцитозе;
- 4) образование АФК в ответ на факторы роста и цитокины.

АФК также могут быть побочными продуктами липидного метаболизма, например, при синтезе эйкозаноидов посредством циклооксигеназных и липооксигеназных путей.

Экзогенными источниками образования АФК являются табачный дым, выбросы и отходы индустриального производства, ионизация от радиации, экологические поллютанты, вирусы и бактерии. Воспаление, ишемия и другие патологические состояния организма также вызывают генерацию АФК [109-110].

АФК выполняют роль медиаторов в процессах фагоцитоза, апоптоза, реакциях детоксикации, элиминации предраковых клеток и инфекций. Они регулируют многие сигнальные пути, поддерживающие клеточный гомеостаз [111-112]. Основные окислительно-восстановительные центры в клетках млекопитающих включают ядерный эритроидный фактор 2 (NRF2), ядерный фактор κB (NF-κB), фактор, индуцируемый гипоксией (HIF), эстроген- родственный рецептор (ERR), транскрипционный фактор forkhead box O (FOXO), коактиватор γ-рецептора, активируемого пролифератором пероксидом 1α (PGC1α), p53, 5'-аденоzin монофосфат-активируемая протеинкиназа (AMPK), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH).

Физиологический уровень АФК необходим для нормального функционирования клетки. На физиологическом уровне АФК могут действовать как вторичные мессенджеры, способные индуцировать клеточные адаптивные ответы, активируя множественные пути передачи сигнала. H_2O_2 признан основным игроком в окислительно-восстановительной регуляции биологической активности является универсальным плейотропным физиологическим агентом. Внутриклеточное производство H_2O_2 стимулируется факторами роста, хемокинами или физическими стрессорами, в то время как его удаление достигается эффективными восстановительными системами. Поддержание наномолярных концентраций H_2O_2 приводит к обратимому окислению тиолатных групп в белках-мишениях, который, изменяя активность, локализацию и взаимодействие белков, способствует модуляции клеточной пролиферации, дифференцировки, миграции и ангиогенеза. Это устойчивое состояние низкого уровня H_2O_2 и связанных с ним физиологических окислительно-восстановительных сигналов называется «окислительный эустресс» [113-116]. Таким образом, физиологические уровни АФК могут модулировать выживаемость, пролиферацию, дифференцировку и гибель клеток, активируя большое количество протеинкиназ, таких как изоформы протеинкиназы С, митоген-активируемая протеинкиназа (MAP), MAPK, киназа, регулируемая внеклеточным сигналом. ERK)1/2, фосфоинозитид-3-киназа/серин-треонинкиназа (P13K/Akt), протеинкиназа В (PKB), протеинтиозинфосфатазы (PTP) и несколько факторов транскрипции [111-112]. В исследовании было продемонстрировано, что умеренные уровни окислителей приводят к адаптации клеток к стрессу или устойчивости, т.е. к явлению, известному как гормезис [117]. В стрессовых условиях продукция АФК в организме увеличивается.

При недостаточной активности защитных внутриклеточных систем это приводит к состоянию, известному как окислительный стресс.

Оксидательный стресс – это дисбаланс между продукцией оксидантов (активных форм кислорода) и их нейтрализацией антиоксидантными механизмами в сторону оксидантов. С развитием окислительного стресса повышается уровень повреждений клеточных макромолекул, происходит сбой в работе клеточных систем редокс-сигнализации и усиливается апоптоз/некроз клеток. Вместе с тем он не является однозначно патологическим состоянием. В зависимости от интенсивности проявления окислительный стресс меняет редокс-баланс, влияя на активность антиоксидантных ферментов, модуляцию различных сигнальных путей и работу систем репарации, и тем самым регулирует ключевые внутриклеточные процессы. Оксидательный стресс также опосредованно влияет на экспрессию генов, пролиферацию, рост и миграцию клеток, развитие и протекание воспаления [79, 107, 118-119]. Супероксидный анион-радикал (O_2^-) и перекись водорода (H_2O_2) генерируются множеством ферментативных и неферментативных процессов, включая НАФДН-оксидазы (NOX), митохондрии, эндоплазматический ретикулум, пероксисомы и внешние раздражители (экспосомы) (рис. 2).

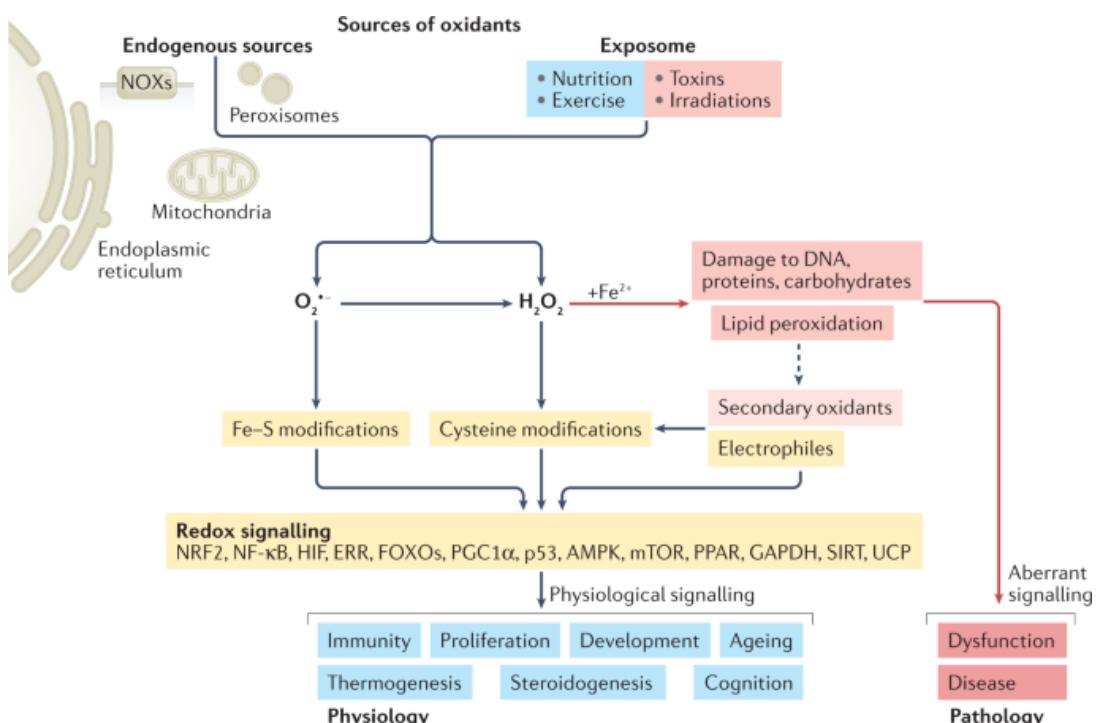


Рисунок 2. Генерация супероксида и перекиси водорода, их связь с сигналингом (Sies H., Belousov V.V., Chandel N.S. et al. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2022;23:499-515.)

Реакция с Fe-S кластерными белками или тиолатами приводит к модификациям, которые вызывают окислительно-восстановительную передачу сигналов и последующие биологические эффекты (желтые прямоугольники) с контролем нескольких физиологических процессов. Окислительно-восстановительными сигналами (синие прямоугольники) Альтернативные реакции окислителей вызывают повреждение биомолекул, которые могут генерировать дополнительные электрофилы и вторичные виды, участвующие в aberrантной передаче сигналов и патологии (красные прямоугольники).

AMPK, 5'-аденозинмонофосфат-активируемая протеинкиназа; ERR, рецептор, связанный с эстрогеном; FOXO, транскрипционный фактор forkhead box O; ГАФД, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; HIF, фактор, индуцируемый гипоксией; NF- κ B, усилитель легкой цепи ядерного фактора- κ активированных В-клеток; NRF2, ядерный фактор, связанный с эритроидом 2, фактор 2; p53, клеточный опухолевый антиген p53; PGC1 α , коактиватор γ -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом, 1 α ; SIRT, семейство белков сиртуинов; UCP1, разобщающий белок 1.

Окислительным повреждениям подвержены многие значимые типы клеточных макромолекул (рис. 3).

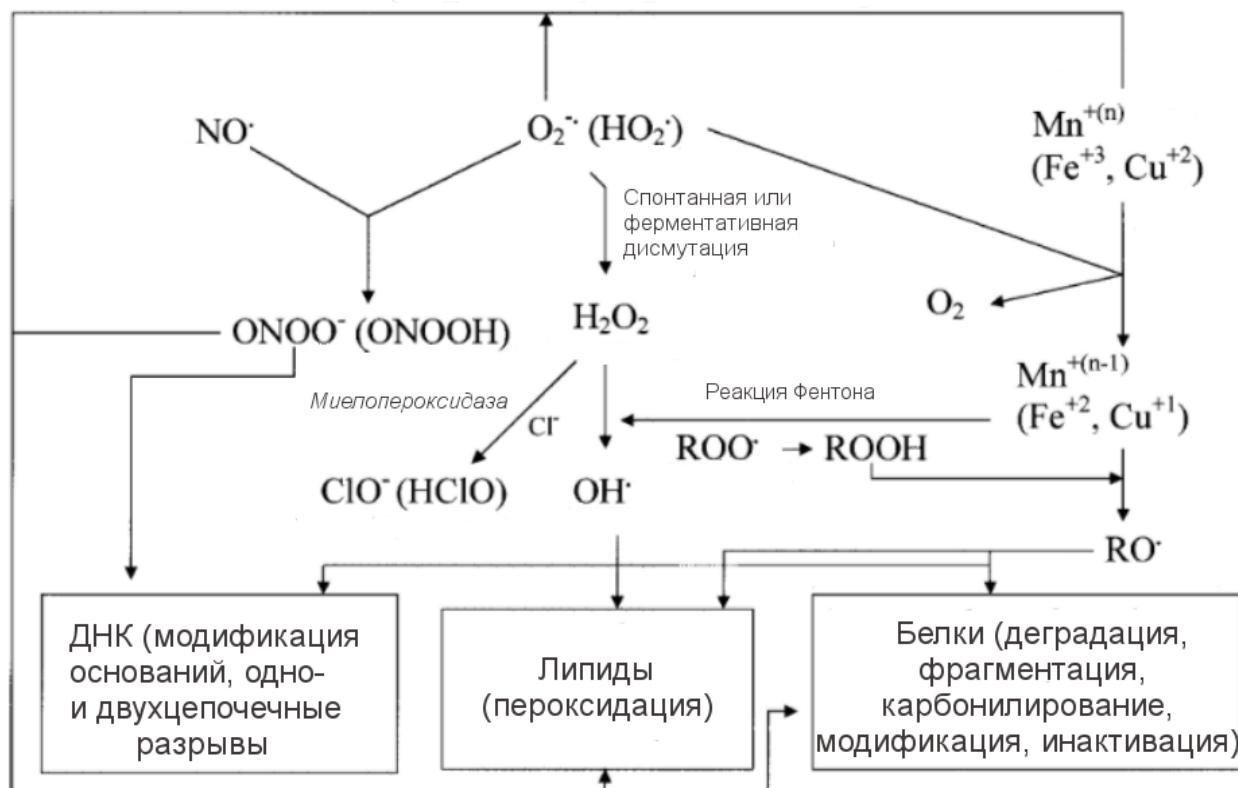


Рисунок 3. Окислительные повреждения клеточных макромолекул АФК.

Окисленные макромолекулы либо репарируются, либо уничтожаются, но при окислительном стрессе скорость накопления нарушений превышает возможности нейтрализующих нарушения процессов.

Липиды. Процесс перекисного окисления липидов – один из самых значимых факторов накопления структурных и функциональных дефектов в клетках. Формирование липидных пероксидов приводит к быстрому распространению автокаталитических каскадов свободнорадикальных реакций. Пероксидация липидных молекул нарушает их структуру. Особенно это заметно при повреждении мембранных липидов, так как происходит нарушение липидного бислоя и структурной организации мембраны. В первую очередь уязвимы к действию АФК полиненасыщенные жирные кислоты, окисление которых напрямую влияет на текучесть мембран и приводит к дисфункции мембранных белков.

Как оксидативные маркеры липидной пероксидации чаще всего используются вторичные альдегидные продукты липидной пероксидации – малондиальдегид и 4-гидроксионенал.

Белки. Окисление аминокислот, входящих в состав белков, приводит к физическим изменениям самих белков: нарушению их третичной структуры, их фрагментации, агрегации, повышению чувствительности к протеолизу и ускоренной деградации. К последствиям окислительных повреждений относятся потеря ферментативной активности, изменение характера функционирования белков, их типа и количества; в случае мембранных белков окислительные повреждения вызывают затрудненную генерацию мембранныго потенциала.

Подавляющее большинство окислительных модификаций белков связано с серосодержащими аминокислотами цистеином и метионином, так как низкий потенциал окисления серы делает эти аминокислоты особенно чувствительными к окислительно-восстановительным реакциям. Окисление цистеина приводит к образованию сульфеновой ($-\text{SOH}$), сульфиновой ($-\text{SO}_2\text{H}$) и сульфоновой ($-\text{SO}_3\text{H}$) кислот. Окисление некоторых аминокислотных остатков (например, лизина, аргинина или пролина) приводит к формированию карбонильных производных, которые также могут возникать в ходе окисления аминокислотных остатков продуктами липидной пероксидации. Как правило, в качестве биомаркеров окисления белка используются карбонильные группы [121].

ДНК. Благодаря двухцепочечной структуре, связи со структурными белками и защищенности ядерной мембраной дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК) представляют собой достаточно стабильные макромолекулы. К тому же, во всех клетках организма постоянно работают специализированные репарационные системы, обеспечивающие исправление мутаций ДНК. В то же время, в условиях, приводящих к генерации АФК внутри ядра, механизмы репарации

могут не справляться с нагрузкой, что приводит к определенной геномной нестабильности. Любое оксидативное изменение, не подвергнувшееся репарации, становится зафиксированной мутацией, что потенциально приводит к изменению экспрессии генов и увеличивает риск апоптоза и карциногенеза.

Образующиеся вне ядра АФК, как правило, не проникают внутрь него из-за вступления в другие реакции. Основным видом АФК, действующих на ДНК, являются гидроксильные радикалы, образующиеся в ходе перекисного окисления липидов. Продукты пероксидации липидов в данном случае выступают как промежуточное звено между эндогенными метаболитами или ксенобиотиками и непосредственным окислением ДНК.

Прямое взаимодействие ДНК с менее активными АФК, например, O_2 и H_2O_2 , не приводит к окислению ДНК. В то же время такие АФК могут служить предшественниками более активных производных. Например, ионы переходных металлов, легко связывающиеся с ДНК, могут катализировать продукцию OH из H_2O_2 в непосредственной близости от молекулы ДНК, тем самым являясь постоянным источником повреждающих радикалов.

Наиболее типичные окислительные повреждения ДНК – модификация ДНК-оснований, одно- и двухцепочечные разрывы молекулы, депуринирование, модификация дезоксирибоз, кросс-связывание ДНК и белков, нарушение работы систем репарации ДНК [117].

Известно очень большое количество возможных ДНК-соединений, формирующихся в ходе окисления АФК. Например, при реакции OH с гуанином в позиции C-8 образуется 8-гидрокси-дезокси-гуанозин (8-OHdG). При реагировании с атомами, находящимися в других позициях и других нуклеотидных основаниях, окисление, соответственно, будет давать другие продукты реакций. Также окисленные соединения могут являться результатом взаимодействия между пиримидинами и гидроксильными радикалами, приводящего к образованию пероксидных и гликоловых тиминов и других продуктов [121].

Наиболее часто в качестве маркера оксидации ДНК используется 8-OHdG, являющийся основным показателем интенсивности репарации окисленной ДНК [122]. Известно, что сам по себе 8-OHdG также может повреждать ДНК, вызывая трансверсии гуанина в тимин и аденина в цитозин. Это свойственно и ряду других продуктов репарации ДНК.

Еще один тип ДНК, содержащейся в клетке, – митохондриальная ДНК. Она окисляется АФК в большей степени, чем ядерная, так как находится в непосредственной близости от электрон-транспортной цепи митохондрий и не защищена структурными белками. При этом митохондрии не содержат полный спектр механизмов репарации ДНК, работающих в ядре. Сниженная активность

репарации, в частности, объясняет наблюдающуюся высокую частоту мутирования митохондриальных хромосом. АФК окисляют практически все основные клеточные макромолекулы. На данный момент неизвестно, повреждение каких именно клеточных компонентов в первую очередь влечет за собой потерю жизнеспособности и прекращение функционирования клетки. В зависимости от типов АФК, патогенов и других условий ключевые мишени окисления могут быть различные.

Окислительный стресс связан с развитием и/или поддержанием различных патологических состояний. Заболевания, связанные с АФК, можно разделить на две категории: те, при которых окислительный стресс является основной причиной, или те, при которых окислительный стресс способствует развитию заболевания, вызванного другими факторами [123].

В первую группу входят заболевания, при которых АФК, возникающие в результате воздействия радиации или химических веществ или окисленных липидов [124], вызывают воспалительную реакцию, которая, в свою очередь, дополнительно модифицирует клеточную сигнализацию и стимулирует выработку цитокинов, вызывая фиброзную реакцию.

Второй включает патологии, при которых окислительный стресс является следствием воспалительных реакций, вызванных другими причинами.

В результате их участия в метаболизме и детоксикации печень и почки являются основными мишениями атаки АФК: в печени АФК вызывают повреждение мембран гепатоцитов, приводящее к циррозу, а в почках АФК стимулируют секрецию провоспалительных цитокинов, вызывая нефроз [125]. АФК также могут действовать как нейротоксические агенты, снижая возбудимость нейронов, и ответственны за сердечную миопатию посредством повреждения митохондрий [125].

Таким образом, причинная или сопричинная роль АФК была продемонстрирована при некоторых заболеваниях, в частности связанных с возрастом. Фактически само старение, связанное с основной продукцией АФК, является периодом жизни, характеризующимся наибольшей частотой окислительно-восстановительных заболеваний [126]. Например, было продемонстрировано, что начало окислительного стресса тесно связано с частотой атеросклероза, гипертонии, диабета, многих нейродегенеративных заболеваний и рака [123].

Генерация АФК играет ключевую роль в возникновении воспаления, она необходима для завершения фагоцитоза патогенов, способствует восстановлению тканей и модулирует различные биологические функции иммунных клеток. Однако нарушение регуляции продукции АФК и возникновение окислительного стресса вызывает и способствует повреждению тканей, обусловленных

заболеваниями, связанными с воспалением. Фагоциты способны генерировать большое количество АФК благодаря активности NOX, роль которого в воспалении была недавно рассмотрена [127]. NOX1 и NOX2 играют решающую роль в дифференцировке моноцитов в макрофаги и в приобретении фенотипа M2 и макрофагов, ассоциированных с опухолью [128]. Другие молекулярные механизмы, связанные с умеренными состояниями окислительного стресса, такие как окисление фосфолипидов или стимуляция уремическим токсином, способствуют поляризации M2 [129-130]. Важно отметить, что АФК, индуцированные NOX, также играют важную роль в регуляции презентации антигена и продукции интерферона [127]. Связь между активностью NOX и активацией инфламмасомы, в частности, на нуклеотид-связывающем домене (NOD), подобном рецепторному белку 3 (NLRP3) и каспазе 1, на данный момент неясна. С одной стороны, есть данные о роли NOX2 как ингибитора NLRP3, который способен ограничивать продукцию IL-1 β . Это указывает на возможную роль NOX2 как иммуномодулятора [131]. С другой стороны, сообщается о провоспалительной активности NOX2-производных АФК из-за активации воспалительной NLRP3 [90]. Аналогичные наблюдения были получены для NOX4, который активирует NLRP3, играя важную роль в возникновении и прогрессировании воспалительного заболевания кишечника [132]. Интересно, что непрямой механизм, включающий модуляцию окисления жирных кислот, был продемонстрирован при NOX4-зависимой активации NLRP3 [133]. Существование противоположных результатов подчеркивает сложность регуляции воспаления, а роль, которую играет окислительный стресс, заслуживает дальнейшего изучения.

Среди возможных других источников АФК в фагоцитах важную роль играют митохондрии. Несмотря на то, что АФК, возникающие в результате митохондриальной метаболической активности, могут быть связаны с функциональными реакциями в макрофагах, такими как активация Toll-подобных рецепторов (TLR)4 [134] или TLR2 [135], часто образование АФК из митохондрий коррелирует с неконтролируемыми гипервоспалительными состояниями и повреждение тканей, и его ингибирование, по-видимому, защищает от иммунно-опосредованного повреждения. Более того, гиперпродукция АФК приводит к воспалению синовиальной и костной эрозии, а снижение митохондриальной активности может играть защитную и терапевтическую роль [136].

Растущие данные эпидемиологических исследований и экспериментов с контролируемым воздействием показали, что воздействие PM2,5 может вызывать локальный и системный окислительный стресс и повреждения у людей или животных. Физические характеристики и химический состав ТВЧ играют ключевую роль в образовании АФК *in vitro* и *in vivo* [54].

Было обнаружено, что воздействие PM2,5 повышает уровни как внутриклеточных АФК, так и маркеров окислительного стресса, включая малоновый диальдегид (МДА), 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) и вещества, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, у разных участников [19, 137-138]. Примечательно, что пренатальное воздействие PM2,5 в течение всей беременности приводит к повышению уровня гомоцистеина в пуповинной крови за счет окислительного стресса с увеличением на 8,1% при увеличении средней концентрации PM2,5 на 5 мкг/м3 [139]. Кроме того, воздействие PM2,5 может повышать уровни внутриклеточных АФК и продукции МДА с дозозависимым снижением СОД и глутатионпероксидазы (GSH-Px) в различных сердечно-сосудистых клетках *in vitro* [140]. Кроме того, было обнаружено, что воздействие PM2,5 вызывает системные окислительные повреждения аорты, сосудов головного мозга и сердца в зависимости от дозы, со значительным повышением уровней маркеров окислительного стресса и снижением экспрессии и активности антиоксидантных ферментов в исследовании на животных *in vivo* [49, 85, 98, 141-143]. Эти данные показывают, что воздействие PM2,5 может вызвать локальный и системный окислительный стресс и повреждение у людей и животных моделей, вызывая различные токсические эффекты.

Воздействие мелкодисперсных и ультрадисперсных ТЧ вызывает системный окислительный стресс и воспаление посредством различных механизмов [47, 144-145]. PM2,5 и PM0,1 может вызывать типичные повреждения макромолекул, вызванные свободными радикалами (т. е. модификации белков, окисление ДНК и перекисное окисление липидов), а также изменять окислительно-восстановительные состояния тиоловых систем, контролируемые тиоредоксинами (Trx), глутатионом (GSH) и цистеином (Cys) [146]. Во-первых, PM2,5, особенно частицы, образующиеся в результате сжигания, содержат экологически стойкие свободные радикалы [147-149]. Во-вторых, большинство органических химических веществ, покрывающих PM2,5, могут быть метаболически активированы в организме [49, 98, 150-151]. Частицы выхлопных газов дизельных двигателей (DEP) состоят из полиароматических углеводородов, представляющих собой гидрофобные молекулы, которые могут легко диффундировать через клеточные мембранны. Органические компоненты, такие как ПАУ, адсорбированные на PM2,5 и PM0,1, обладают высоким окислительным потенциалом и способностью вызывать повреждение митохондрий [152]. Токсикологические последствия реактивных метаболитов, т. е. хинонов и эпоксидов, действуют через образование ДНК и белковых аддуктов, что приводит к мутагенности и токсичности.

В-третьих, переходные металлы (например, Fe, Mn, Zn, Vn и Cu), присутствующие в PM2,5, могут индуцировать образование АФК посредством реакции

Фентона или нарушать функцию некоторых родственных ферментов [147, 153]. Cd, Hg и Ni, а также Pb истощают глутатионовые и связанные с белком сульфогидрильные группы, что приводит к образованию АФК. Прямое образование АФК из переходных металлов, адсорбированных на тонкодисперсных и ультратонкодисперсных ТЧ, таких как железо, медь, хром и ванадий, происходит за счет взаимодействия с супероксидом или перекисью водорода с образованием реактивных гидроксильных радикалов, которые могут повреждать макромолекулы. В-четвертых, опосредованное PM2,5 повреждение митохондрий еще больше усугубит условия окислительного стресса в клетках-мишениях [95, 154]. Повреждение митохондрий может привести к избыточному производству/высвобождению НАДФН-оксидазы и супероксида. В-пятых, окислительный стресс также может быть вызван опосредованной PM2,5 активацией воспалительных клеток, которые, в свою очередь, генерируют и высвобождают как АФК, так и реактивные формы азота [86]. Таким образом, PM2,5 может увеличивать АФК и/или АФК в клетках-мишениях и тканях посредством различных химических или биологических механизмов.

Кроме того, опосредованные PM2,5 нарушения в антиоксидантной системе могут снижать антиоксидантную способность клеток-мишеней. АФК, опосредованные PM2,5, могут действовать как сигнальные молекулы, способствующие транслокации Nrf2 в ядро, что приводит к изменению транскрипции системы антиоксидантных ферментов. Действительно, было показано, что воздействие PM2,5 изменяет экспрессию антиоксидантных ферментов, таких как каталаза, СОД и ферменты метаболизма глутатиона (например, G6PD, GR, GPx и PTPase), и снижает их активность. Эти данные свидетельствуют о том, что воздействие PM2,5 может привести к нарушению антиоксидантной системы [154].

АФК, опосредованные PM2,5, могут реагировать на биомакромолекулы (такие как ДНК, белки и липиды биомембран), имеющиеся в клетках-мишениях и/или тканях, и нарушать их структуру и функции, в конечном итоге вызывая различные пагубные последствия. Выявленные уровни множественных маркеров окисления белков и липидов были тесно связаны с повышенными уровнями воздействия PM2,5. Кроме того, в организмах, подвергшихся воздействию PM2,5, были обнаружены повышенные уровни 8-OHdG и других оксидов нуклеотидов, которые являются ключевыми биомаркерами окислительного повреждения ДНК [150, 155].

Окислительный стресс, опосредованный РМ, может вызывать воспаление, предшествующее цитотоксическому этапу и гибели клеток [100, 156-157]. Было выявлено усиленное воспаление легких у людей и животных, зависящее от дозы и времени воздействия PM2,5 [158]. В легочной ткани наблюдалась повышенная

экспрессия провоспалительных цитокинов, реагирующих на воспаление нейротрофиков и фактора транскрипции (ядерный фактор каппа-β, NF-κβ). На втором уровне окислительного стресса индукция сигнальных каскадов, таких как окислительно-восстановительный фактор транскрипции NF-κβ, приводит к активации провоспалительных цитокинов и других генов иммунного ответа [159]. Редокс-статус в ядре влияет на статус ацетилирования и деацетилирования гистонов, который регулирует экспрессию воспалительных генов путем активации редокс-чувствительных факторов транскрипции [160]. NF-κβ активируется в эпителиальных и воспалительных клетках во время окислительного стресса, что приводит к активизации многих провоспалительных генов. NF-κβ действует как воспалительный переключатель, который индуцирует эпигенетическую модификацию всего генома при воздействии сверхтонких ТЧ [138, 144, 161-162].

NF-κβ является одним из жизненно важных факторов транскрипции, которые участвуют в клеточных воспалительных реакциях на воздействие PM2,5. *In vitro* PM2,5 может активировать комплексы NF-κB посредством фосфорилирования ядерного p65 и цитоплазматического IKK-альфа, что приводит к связыванию ядерной ДНК p65/p50 [19, 163-164]. Интересно, что активация NF-κβ и последующая воспалительная реакция, связанная с воздействием PM2,5, ингибируются предварительной обработкой клеток антиоксидантами (например, диметилито-мочевиной и N-ацетил-1-цистеином) или ингибитором iNOS (1-N6- 1-иминоэтиллизин), демонстрируя, что продукция ROS и/или RNS участвует в опосредованной PM2,5 активации NF-κβ [86]. Учитывая тот факт, что NF-κβ также вызывает выработку АФК и NO, они могут образовывать петлю положительной обратной связи для усиления последующих реакций на воздействие PM2,5 [86]. Кроме того, опосредованное PM2,5 высвобождение IL-8 может быть полностью заблокировано селективным ингибитором SB203580 в клетках ТНР-1, что показывает роль активации p38 МАРК в этом процессе [141, 165-167]. Однако пока неясно, как эти сигнальные пути координируются друг с другом, чтобы точно регулировать воспалительные реакции на воздействие PM2,5, и какие именно молекулярные механизмы лежат в основе последующих биологических эффектов в этих условиях. Требуются дальнейшие углубленные исследования для их выявления.

В связи с тем, что внутри клеток существует множество потенциальных мишеней окисления, невозможно выделить единый универсальный биомаркер оксидативных повреждений, поэтому требуется комплексный подход. При исследовании воздействия поллютантов и других стрессовых факторов на редокс-баланс клеток также важна оценка не только интенсивности оксидации, но и активности антиоксидантной защиты.

1.2. Антиоксидантные системы, участвующие в поддержании тиол-дисульфидного гомеостаза

Антиоксидантная защита организма работает на трех уровнях. Как превентивные методы защиты используются ингибирование ферментов, катализирующих возникновение АФК, связывание ионов металлов и т.д. Уже образовавшиеся АФК нейтрализуются до нерадикальных и нетоксических метаболитов с помощью специальных антиоксидантных ферментов. Окисленные клеточные макромолекулы восстанавливаются системами репарации или разрушаются. Одни и те же вещества могут одновременно способствовать реализации разных уровней антиоксидантной защиты.

Значительную роль в регуляции редокс-статуса играет поддержание тиол-дисульфидного гомеостаза. Оно осуществляется через модификацию тиольных групп в белках, с одной стороны, АФК, а с другой – тиол-дисульфид-зависимыми антиоксидантами [103]. В норме дисульфидные связи (S-S), возникающие между цистеинами, необходимы для создания правильной трехмерной структуры многих белков. Дисульфиды также могут образоваться связыванием двух тиольных радикалов, но в большинстве случаев дисульфидные группы формируются при взаимодействии тиола с цистеиновым остатком, уже активированным окислением, образуя внутри- или внебелковые дисульфидные связи [168]. В табл. 1 приведены типичные представители разных уровней антиоксидантной защиты.

Таблица 1. Антиоксиданты – представители разных уровней защиты

Тип антиоксидантов	Представители
Превентивные антиоксиданты	Антиоксидантные ферменты: супероксиддисмутазы, каталаза, глутатион-пероксидаза, ферменты репарации ДНК Вещества, связывающие ионы металлов: альбумин, лактоферрин, трансферрин, гаптоглобин, церулоплазмин, гемопексин, каротиноиды, супероксиддисмутазы, каталаза, глутатион пероксидаза, глутатионредуктаза, мочевая кислота, полифеноловые флавоноиды
Нейтрализующие АФК антиоксиданты	Аскорбиновая система (витамин С), каротиноиды (в том числе витамин А), мочевая кислота, альфа-токоферол (витамин Е), полифеноловые флавоноиды, билирубин, альбумин, убихинон, восстановленный глутатион, тиоредоксин и другие тиолы
Репарационные антиоксиданты	Ферменты тиоредоксиновой и глутатионовой системы, метионин-сульфоксид редуктаза

Окисление цистеинов также может приводить к S-тиоляции, которая представляет собой образование смешанных дисульфидных мостиков между свободным белковым тиолом и низкомолекулярным тиолом – цистеином, цистеамином или глутатионом (S-глутатионилирование) [121].

Наиболее распространенные типы тиол-дисульфидных реакций приведены на рис. 4.

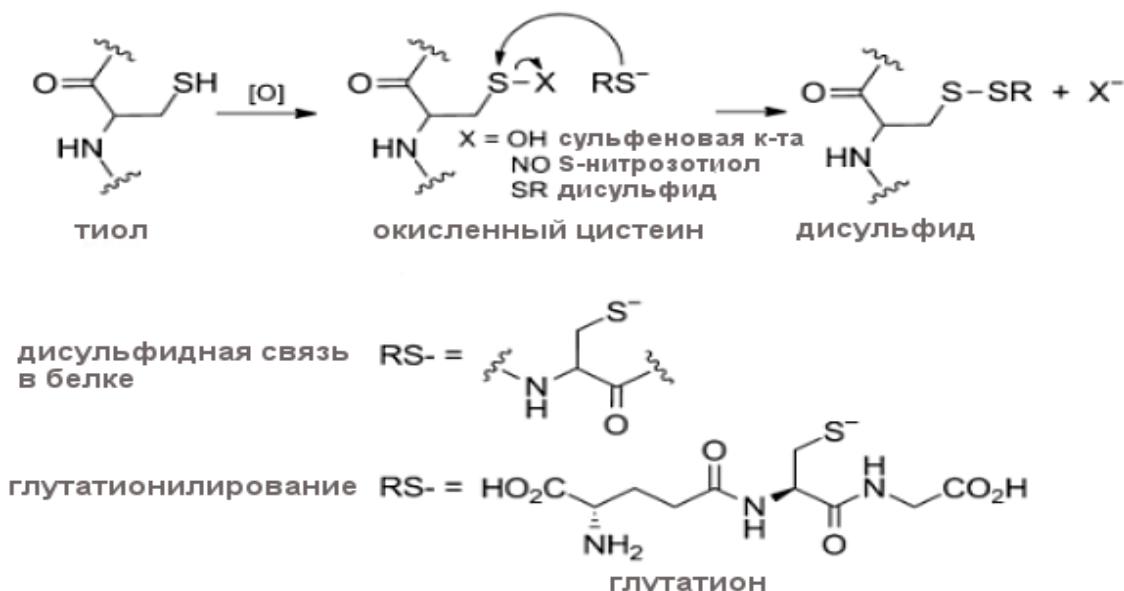


Рисунок 4. Тиол-дисульфидные реакции в белках

Соотношение между тиольными и дисульфидными группами, присутствующими в клетке, определяется окислительно-восстановительными реакциями, где восстановленным состоянием являются тиолы, а дисульфиды – окисленным. Во внеклеточных белках большинство цистеиновых остатков связаны дисульфидными связями. Внутри клетки, в восстановливающей среде, большинство цистеинов восстановлены.

В зависимости от своей обратимости/необратимости посттрансляционные дисульфидные модификации белков могут быть или не быть частью редокс-зависимых механизмов регуляции. Например, карбонилирование белков обычно относят исключительно к категории окислительных повреждений, так как оно необратимо и приводит к деградации окисленного белка протеасомами. Окисление белков с образованием сульфиновых и сульфоновых кислот также предположительно относится к необратимым изменениям.

Обратимые модификации, участвующие в редокс-регуляции, связаны с образованием дисульфидных связей, метионин сульфоксидов, сульфеновых

кислот и нитротиразинов. Последующее восстановление окисленных остатков аминокислот производится тиол-дисульфид-зависимыми антиоксидантными ферментами.

Существует две тиол-дисульфид-зависимые антиоксидантные системы – тиоредоксиновая и глутатионовая [169].

Тиоредоксиновая система. Тиоредоксиновая антиоксидантная система состоит из тиоредоксина (Trx) и никотинамид – аденин – динуклеотид – фосфат (НАДФ) – зависимых тиоредоксинредуктазы (TrxR) и тиоредоксинпероксидазы/пероксиредоксина (Prx). В ее состав также включают тиоредоксин-взаимодействующий белок (TXNIP) [170].

У всех ферментов тиоредоксиновой системы есть типичная высококонсервативная последовательность аминокислот, находящаяся в активном центре – мотив цистеин-глицин-пролин-цистеин. Цистеиновые остатки в ней участвуют в реакции восстановления дисульфидных связей в окисленных белках. После завершения каталитического цикла, окисленные цистеины сами образуют дисульфид. Тиоредоксин-редуктаза возвращает их в восстановленное состояние, используя энергию НАДФ.

Выделяют две основные тиоредоксиновые системы соответственно двум формам тиоредоксина: цитоплазматический Trx1 (12 кДа) и митохондриальный Trx2 (18 кДа), содержащий N-терминальную последовательность, определяющую его локализацию в митохондриях. Кроме двух цистеинов в активном центре, цитоплазматический тиоредоксин имеет еще три дополнительных цистеина, которые играют важную роль в редокс-регулировании. Предполагается, что они также регулируют функционирование тиоредоксинов через посттрансляционные модификации, такие как глутатионилирование и S-нитрозилирование [171].

Несмотря на то, что у Trx1 отсутствуют последовательности, связанные с локализацией в клеточном ядре, было отмечено его присутствие в ядрах определенных клеток. Тиоредоксиновые ферменты также могут быть связаны с клеточными мембранами или секретироваться во внеклеточное окружение. Существует также третий вариант тиоредоксиновой системы – SpTrx/Trx3, активно функционирующий в сперматозоидах [172].

Основная антиоксидантная функция тиоредоксиновой системы – дисульфид-редуктазная, обеспечивающая восстановление дисульфидных связей и формирование правильной третичной структуры белков. Тиоредоксиновая система участвует в репарации белков и не напрямую – через восстановление метионин-сульфоксид редуктаз, отвечающих за восстановление окисленного метионина. Также тиоредоксиновая система восстанавливает рибонуклеотидредуктазы – ферменты, имеющие ключевое значение для синтеза ДНК.

Антиоксидантная активность тиоредоксиновой системы проявляется и в том, что тиоредоксин предоставляет электроны пероксиредоксинам, которые, в свою очередь, способны с очень высокой скоростью реакции нейтрализовать АФК (рис. 5) [171, 173-174].

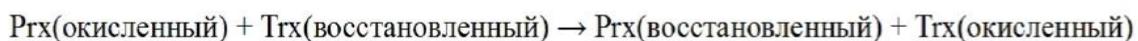
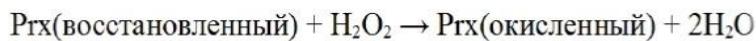


Рисунок 5. Схема реакций нейтрализации пероксида водорода пероксиредоксином и восстановления пероксиредоксина тиоредоксином

Тиоредоксин может связываться с белками и контролировать их активность и функционирование. Например, апоптоз-сигнальная киназа (ASK-1), в физиологических условиях связанная с тиоредоксином, при стрессе разъединяется с ним, стимулируя апоптотический сигнальный каскад, приводящий к контролируемой гибели клетки [174] (рис.6).

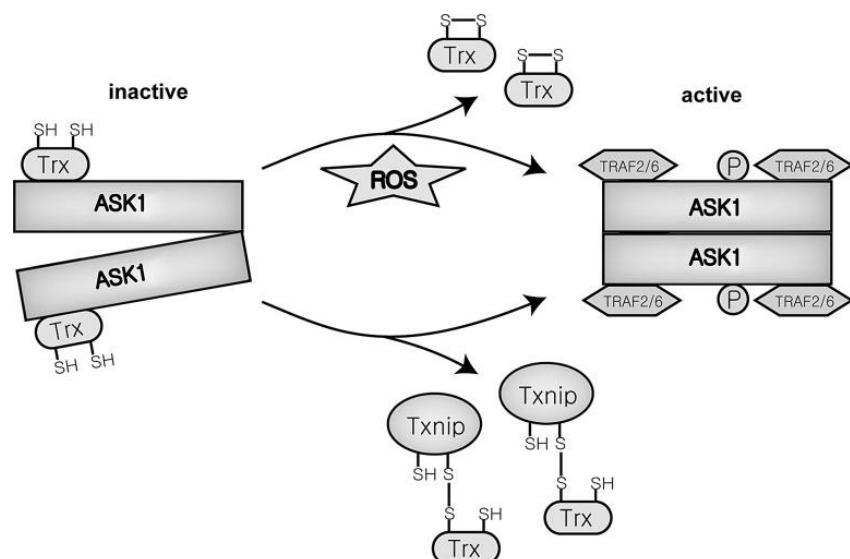


Рисунок 6. Активация ASK1 посредством образования сигналосом

(Lee S., Kim S.M., Lee R.T. Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance. *Antioxid. & Redox Signal.* 2013;10(18):1165-1207)

Регуляторные белки, которые связываются с ASK1, контролируют его активность. После уменьшения Trx связывается с ASK1, активация ASK1 подавляется. Однако в присутствии АФК или других видов стресса Trx окисляется и диссоциирует от сигналосомы. В присутствии Txnip между Txnip и Txn образуется

дисульфид, вызывающий диссоциацию Txn от ASK1. Фосфорилирование ASK1 и рекрутирование белков TRAF2/6 активируют ASK1.

Тиоредоксиновая система играет важную роль в иммунных реакциях и регулировании воспаления. При аллергическом воспалении Trx1 оказывает защитный противовоспалительный эффект, снижая высвобождение гистамина из тучных клеток. В стрессовых условиях Trx1 защищает иммунные клетки от апоптоза и регулирует продукцию IL-4 и IFN- γ , поддерживая клеточный гомеостаз. В Т-регуляторных клетках Trx1 является основной антиоксидантной молекулой. Он не только экспрессируется на высоком уровне, но и секретируется на поверхность клетки, поддерживая тиольный баланс, что увеличивает устойчивость Т-регуляторных клеток к окислительному стрессу [101, 176-179].

Тиоредоксин-взаимодействующий белок TXNIP также активно экспрессируется в иммунных клетках. Он регулирует деятельность иммунной системы, влияя на созревание и дифференцировку натуральных киллеров и активность дендритных клеток [175]. Взаимодействие TXNIP-Trx представляет собой молекулярный переключатель, при котором редокс-состояние клетки модулирует метаболическую передачу сигналов и работает как собственный редокс-сигнальный путь. Ядерная транслокация Trx1 активирует транскрипционный фактор Nrf2 (рис.7).

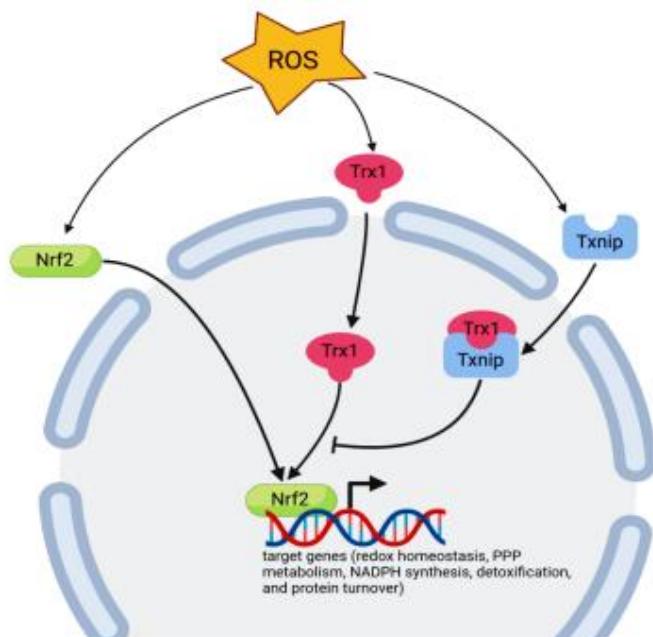


Рисунок 7. Транслокация Trx-1 и Nrf2 из цитоплазмы в ядро
после воздействия окислительного стресса

(Hasan A.A., Kalinina E., Tatarskiy V., Shtil A. The Thioredoxin System of Mammalian Cells and Its Modulators. Biomedicines. 2022;10(7):1757.)

Активность Trx-1 ингибируется Txnip. Nrf2 может регулировать транскрипцию различных групп генов-мишеней, включая окислительно-восстановительный гомеостаз (NQO1, HO1, GCLC, GCLM, GSR1, GPX2, PRDX1, PRDX6, SLC7A11, TXN, TXNRD1, TXNIP и SRX1), метаболизм пентозофосфатного пути (PPP), синтез NADPH (G6PDH, ME1, PGD и IDH1), детоксикация (AKR1B3, GSTA1, GSTA2, GSTA3, GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTM4, GSTP1, PGD, PTGR1, MRP4 и MRP5) и обмен белков (PSMA1, PSMB5, и SQSTM1).

Первоначально взаимодействие TXNIP-Trx (рис. 8) может индуцировать антиоксидантные гены и шапероны, такие как супероксиддисмутазы SOD1 и SOD2, каталаза и гемоксигеназа (HO-1) и белки теплового шока (например, hsp70), hsp60, hsp40 и hsp27). Однако длительная сверхэкспрессия TXNIP приводит к запрограммированному клеточному апоптозу или некроптозу. Кроме того, высвобождение TXNIP из окисленного Trx1 инициирует сборку инфламмасомы NLRP3, активацию каспазы-1 и процессинг про-IL-1 β в зрелый IL-1 β . Txnip и тиоредоксин обнаруживают реципрокный паттерн экспрессии в ответ на определенные стимулы, включая лиганды SAHA, витамина D3 и PPAR [181]. В то время как тиоредоксин усиливает клеточную пролиферацию и подавляет апоптоз, Txnip подавляет клеточную пролиферацию и индуцирует апоптоз.

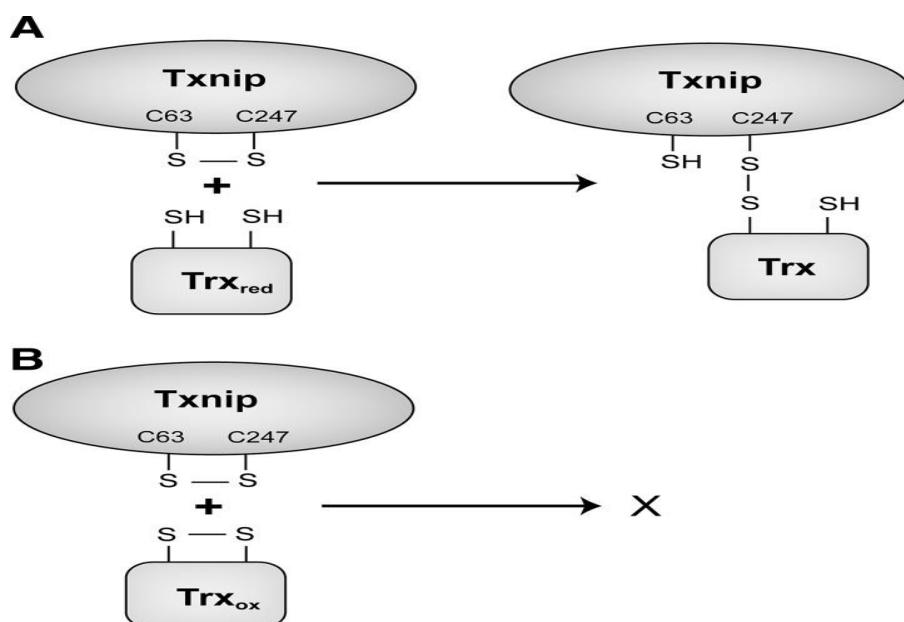


Рисунок 8. Взаимодействие Txnip—Trx

Примечание: (A) Txnip реагирует с восстановленным Trx и образует межмолекулярный дисульфид по цистеину 247. (B) Реакция дисульфидного обмена между Txnip и окисленным Trx невозможна.

(Lee S., Kim S.M., Lee R.T. Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance. *Antioxid. & Redox Signal.* 2013;10(18):1165-1207).

Фундаментальная роль системы Trx в целом заключается в обеспечении восстанавливающей среды и защите клетки от пагубного воздействия окислительного стресса, который в конечном итоге приводит к апоптозу [182]. Помимо восстановительных ферментов, Trx также взаимодействует с редокс-чувствительными сигнальными молекулами. Существует ряд факторов транскрипции, которые регулируются окислительно-восстановительным потенциалом и содержат чувствительные к окислительно-восстановительному потенциалу цистеины в своем ДНК-связывающем домене. К ним относятся белок-активатор 1 (AP-1), NF-κβ, p21, p53, индуцируемый гипоксией фактор транскрипции-1 альфа (HIF-1), глюкокортикоидный рецептор, рецептор эстрогена, PEBP2, EPF, Nrf2, Oct-4 и TFIIIC [175]. Trx также взаимодействует с ключевыми сигнальными молекулами, включая ASK1, Txnip и PTEN. Хотя катализ окислительно-восстановительных реакций является основной целью восстановительных ферментов, восстановительная регуляция этих молекул посредством взаимодействия с Trx является лишь одной из задач. Множество регулирующих факторов, которые интегрируются и обрабатываются в этих сетях.

Редокс-чувствительные молекулы модулируют различные клеточные процессы, включая развитие, пролиферацию, миграцию, апоптоз, воспаление и метаболизм (рис. 9). Окисленный Trx восстанавливается TrxR для поддержания пула восстановленного Trx. Trx снижает пероксидредоксин (Prx), рибонуклеотидредуктазу (RNR) и метионинсульфоксидредуктазу (Msr).

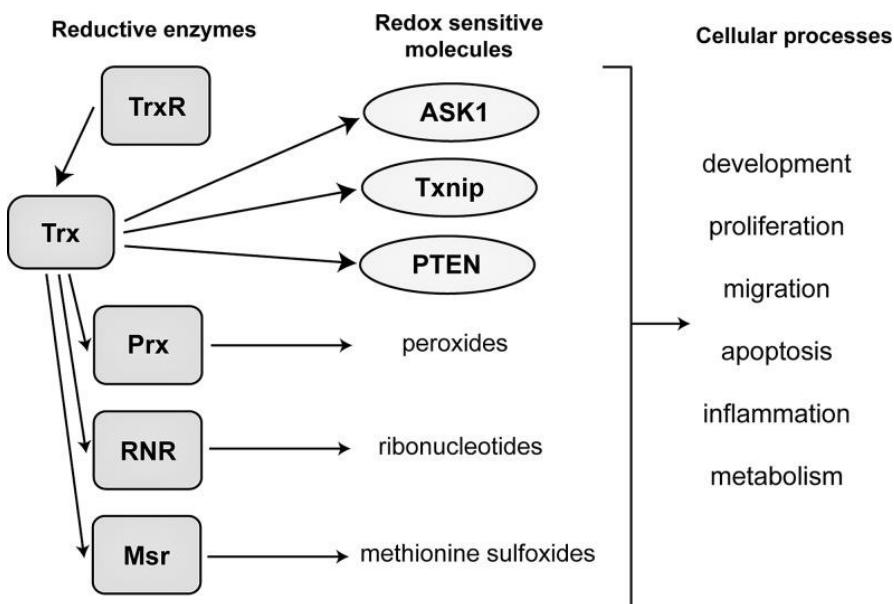


Рисунок 9. Белки-мишени Trx

(Lee S., Kim S.M., Lee R.T. Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance. *Antioxid. & Redox Signal.* 2013;10(18):1165-1207).

Эти восстановительные ферменты катализируют восстановление пероксидов, рибонуклеотидов и метионинсульфоксидов соответственно. Trx также напрямую взаимодействует с окислительно-восстановительными молекулами, такими как киназа 1, регулируемая сигналом апоптоза (ASK1), белок, взаимодействующий с тиоредоксином (Txnip), и гомолог фосфатазы и тензина (PTEN).

Trx также может быть активирован различными стрессовыми стимулами, такими как гипоксия, липополисахарид, H_2O_2 , инфекции и фотохимические стимулы. Trx широко экспрессируется в различных типах клеток, включая пневмоциты, макрофаги и бронхиальные эпителиальные клетки, и регулирует адаптивные воспалительные реакции. Trx также является противовоспалительным и антиоксидантным цитокином, участвующим во многих воспалительных заболеваниях; многие из этих патологий связаны с окислительным стрессом [183-185].

Появляется все больше доказательств того, что секретируемые члены семейства белков Trx участвуют в специфической регуляции внеклеточных тиоловых переключателей, функционирующих в аутокринной, паракринной и эндокринной передаче сигналов (рис. 10).

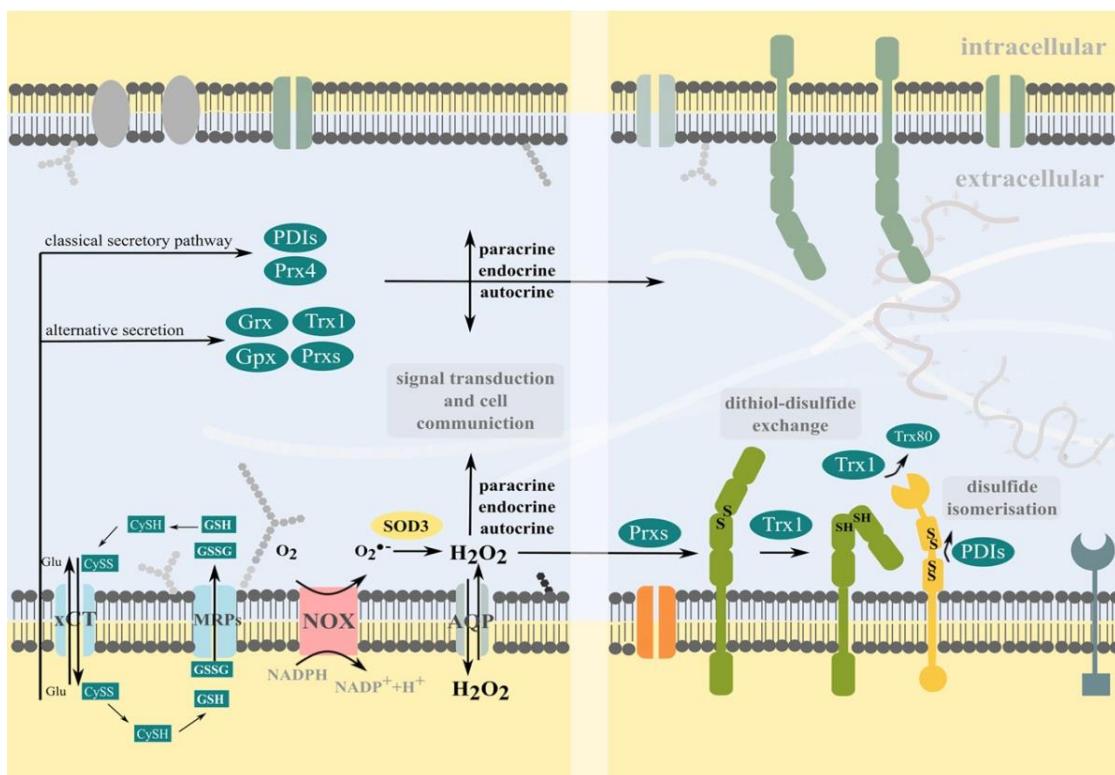


Рисунок 10. Внеклеточная окислительно-восстановительная передача сигналов и клеточная коммуникация.

(Lorenzen I., Eble J.A., Hanschmann E.-M. Thiol switches in membrane proteins – Extracellular redox regulation in cell biology. Biological Chemistry. 2021;3(402):253-269).

Потенциальными внеклеточными субстратами, служащими мишениями окислительно-восстановительной модификации, являются растворимые перицеллюлярные белки и эктодомены трансмембранных белков. Окислительно-восстановительные изменения в растворимых белках изменяют их конформацию и функцию в биологических процессах, таких как клеточная передача сигналов, адгезия, миграция, коагуляция и воспаление.

Глутатионовая система. Вторая тиол-дисульфидная антиоксидантная система – глутатионовая. Глутатионовая система, так же, как и тиоредоксиновая, является НАДФ-зависимой. Она состоит из глутатиона (GSH), глутатион-редуктазы (G(S)R) и глутаредоксинов (Grx) [186].

Глутатион представляет собой трипептид (с-L-глутамил-L-цистеинилглицин), который может существовать в восстановленной (GSH) или окисленной (GSSG) форме. Окисленный глутатион постоянно восстанавливается в GSH НАФД-зависимой редуктазой [121].

Соотношение уровней окисленного и восстановленного глутатиона в клетке находится в постоянном балансе. Переход одной формы в другую и обратно описывается реакциями, приведенными на рис. 11 [175].

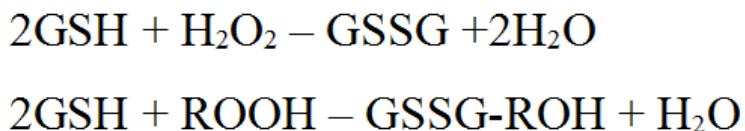


Рисунок 11. Схема реакций, определяющих глутатионовый баланс.

В нормальных условиях восстановленный глутатион составляет примерно 98% от общего внутриклеточного количества глутатиона. Глутатион содержится в клетках в миллимолярных концентрациях и, таким образом, количественно является наиболее представленным антиоксидантом. Он работает как редокс-буфер, сохраняющий внутриклеточную среду в восстановленном состоянии [187].

Изменение глутатионового баланса в сторону окисленного глутатиона влияет на многие клеточные процессы. Например, посредством него активируется ряд сигнальных путей, включая связанные с протеинкиназами B, транскрипционным фактором NF-кB, ASK-1 и митоген-активируемыми протеинкиназами (MAPK), которые снижают пролиферацию клеток и увеличивают риск апоптоза [172]. Поэтому соотношение уровней восстановленного глутатиона к окисленному является значимым индикатором состояния клетки.

В качестве антиоксиданта глутатион напрямую нейтрализует АФК и ингибирует пероксидацию липидов. Он участвует в детоксикации пероксида

водорода различными глутатион-пероксидазами. Также он восстанавливает ряд экзогенных антиоксидантов, например, витамины С и Е, переводя их в активную форму [188].

Известно, что глутатион и глутатион-пероксидаза могут регулировать функционирование белков, в том числе и активность ферментов, путем обратимого S-глутатионилирования, с последующим восстановлением глутаредоксинами. Глутатионилирование наблюдается как в физиологических условиях, так и при окислительном стрессе, когда количество связанного с белками глутатиона достигает 20–50% от общего количества глутатиона в клетке. При окислительном стрессе глутатионилирование белков защищает цистеиновые остатки в них от необратимой оксидации в сульфиновые или сульфоновые кислоты и таким образом служит превентивным антиоксидантным механизмом [189].

Глутатионилирование может осуществляться прямым окислением белка и глутатиона, тиол-дисульфидным обменом между цистеином и GSSG, посредством S-нитрозоглутатиона и еще через ряд схожих процессов. На данный момент неизвестно, какой из механизмов *in vivo* является преобладающим. Таким образом, редокс-состояние клетки, опосредованное глутатионом как буфером, регулирует функционирование различных белков.

Глутатион необходим для нормальной работы систем как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Он участвует в пролиферации Т-лимфоцитов, фагоцитарной активности полиморфноядерных нейтрофилов, функционировании дендритных клеток, а также важен для антиген-презентации – первой ступени адаптивного иммунного ответа [188, 190-192].

Активность тиоредоксиновой и глутатионовой систем направлена на защиту от окислительного стресса и репарацию клеточных макромолекул, так что неудивительно, что эти системы работают согласованно и способны к предоставлению электронов друг другу и взаимному подстраховыванию.

Как тиоредоксиновая, так и глутатионовая система являются НАДФ-зависимыми. Тиоредоксин- и глутатион-редуктазы восстанавливают окисленные состояния тиоредоксина и глутатиона, соответственно. Восстановленный тиоредоксин и метионин-сульфоксид-редуктазы осуществляют репарацию белков. Цитозольно-ядерная тиоредоксиновая система предоставляет электроны тиоредоксин-зависимым пероксидазам, участвующим в репарации окисленных фрагментов ДНК. Пероксиредоксины и глутатион-пероксидазы нейтрализуют АФК. Тиоредоксин регулирует активность многих редокс-чувствительных транскрипционных факторов, например, NF-кВ, Nrf-2 и P53. Глутатионовая система используется как запасной способ восстановления тиоредоксина, когда перенос электронов на тиоредоксин-редуктазу оказывается заблокирован.

Как тиоредоксины, так и глутаредоксины могут восстанавливать рибонуклеотид-редуктазу, фермент, катализирующий превращение рибонуклеотидов в 2-дезоксирибонуклеотиды, и тем самым влиять на процессы репарации и синтеза ДНК [193-195].

Митохондриальный глутаредоксин Grx2, так же как и Trx2, благодаря только одному активному цистеиновому центру в меньшей степени инактивируется АФК и GSSG. Grx2 восстанавливается как митохондриальной тиоредоксин-редуктазой (TrxR2), так и глутатионом, что указывает на его способность действовать в более окисленной внутримитохондриальной среде [121]. Основной функцией глутаредоксина является деглутатионилирование смешанных дисульфидных связей между белками и глутатионом и тем самым регулирование функций митохондриальных белков в зависимости от редокс-статуса. Глутаредоксин является примером наиболее тесной взаимосвязи между глутатионом и митохондриальными тиолами как в отношении антиоксидантной защиты, так и редокс-сигналинга (рис. 12).

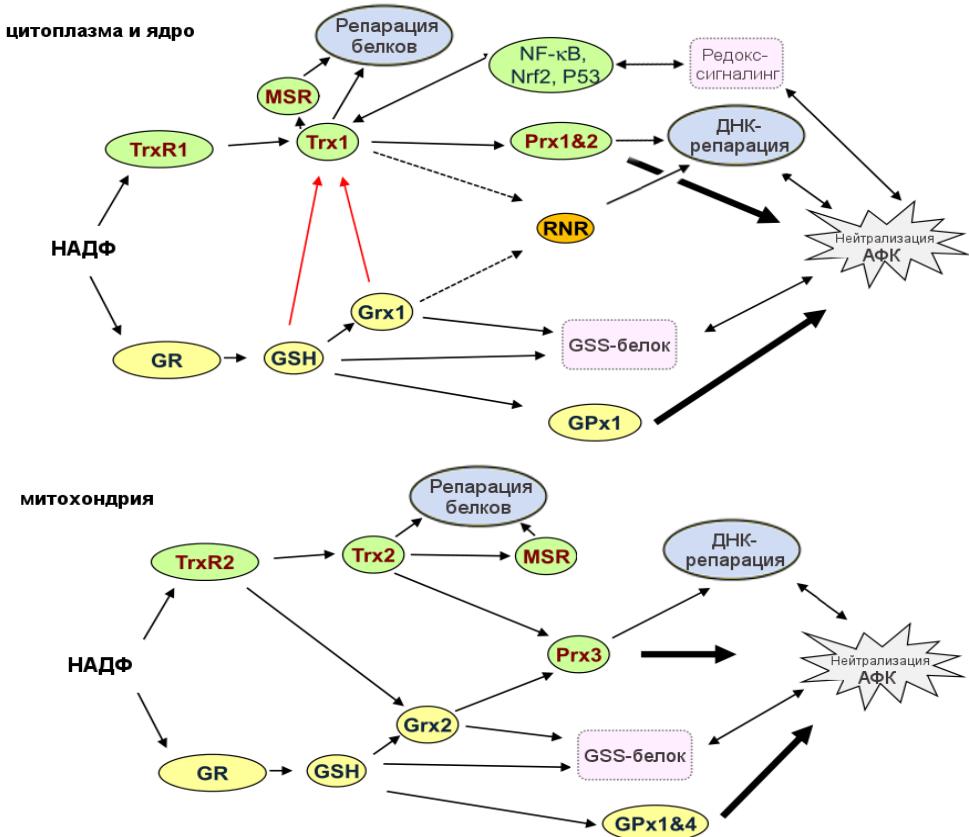


Рисунок 12. Взаимосвязь тиоредоксиновой и глутатионовой систем
(Holmgren A., Lu J. Thioredoxin and thioredoxin reductase: Current research with special reference to human disease. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2010;1(396):120-124).

Митохондриальная пероксидаза (Prx3) может быть восстановлена как митохондриальным тиоредоксином (Trx2), так и митохондриальным глутаредоксином (Grx2). Таким образом, взаимное дублирование тиоредоксиновой и глутатионовой систем наиболее выражено в митохондриях [196].

В силу специфики функционирования, согласно которой эндогенные АФК являются неизбежным побочным продуктом работы митохондрий, неудивительно, что согласованная работа тиоредоксиновой и глутатионовой систем в митохондриях имеет особое значение для поддержания окислительного гомеостаза клетки. В целом, можно говорить о том, что митохондриальные тиол-дисульфидные системы образуют сложную общую надсистему, которая позволяет эффективно нейтрализовать АФК, поддерживать митохондриальный редокс-статус и клеточный гомеостаз и регулировать сигнальные пути, необходимые для поддержания функций и жизнеспособности клетки [197].

Известно, что тиоредоксиновая и глутатионовая системы избирательно контролируют активность определенных белков и сигнальных путей, при этом тиоредоксиновая система имеет больше мишней действий, чем глутатионовая [194]. Вместе с тем, многие белки являются общими объектами регуляции и тиоредоксиновой, и глутатионовой систем: с одной стороны, через восстановление дисульфидных связей посредством Trx/Grx и, с другой стороны, глутатионилированием цистеинов [197]. Тиоредоксины, глутаредоксины и глутатион также могут взаимодействовать напрямую. Так, тиоредоксин тоже подвержен глутатионилированию [193]. Оно не только снижает ферментативную активность тиоредоксина, но и может оказывать влияние на другие его свойства, включая сродство к определенным белкам.

Таким образом, тиол-дисульфид-зависимые антиоксидантные системы вносят существенный вклад в защиту организма от действия окислительного стресса. Основная функция тиоредоксиновой системы – репарация и защита белков и ДНК от окисления. Глутатионовая система оказывает прямое антиоксидантное действие и служит наиболее значимым редокс-буфером, сохраняющим внутриклеточную среду в восстановленном состоянии.

На данный момент практически не изучена роль тиоредоксиновой системы в поддержании редокс-баланса при окислительном стрессе, вызываемом долговременным воздействием микрочастиц атмосферныхзвесей. Учитывая, что в настоящее время загрязнение атмосферного воздуха является одним из наиболее опасных факторов экологического риска для здоровья населения, установление закономерностей поддержания редокс-баланса клеток и организма в целом на уровне, соответствующем хронической экологической нагрузке, является значимой исследовательской задачей.

ГЛАВА 2. РОЛЬ ТИОЛДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ НА ВОЗДЕЙСТВИИ МИКРОРАЗМЕРНЫХ ВЗВЕСЕЙ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

Выявление наиболее патогенных компонентов и изучение патогенетических механизмов воздействия микрочастиц делает исследование в этой области крайне актуальным и требует применения новых методологических приемов. Разработанные нами новые методологические подходы к оценке воздействия микроразмерных взвешенных частиц на организм включают в себя следующие позиции:

- Оценку качества воздушной среды. Разработана методика определения размерности твердых взвешенных частиц содержащихся в приземном слое атмосферы, позволяющая избежать изменения ТВЧ в процессе отбора и хранения проб и проводить исследование дисперсности в широком диапазоне.
- Разработку экспериментальной модели для оценки действия основных компонентов атмосферных взвесей на триггерные параметры организма. Изучение воздействия частиц микроразмерного ряда проводили в соответствии с их реальным содержанием в окружающей среде.
- Комплексную оценку ответной реакции организма *in vivo* и *in vitro* на воздействие микроразмерных взвешенных частиц по ключевым параметрам тиолдисульфидного метаболизма, пероксидативного баланса, генотоксичности, энергетического состояния лейкоцитов.

Атмосферные взвеси твёрдых частиц содержатся в воздухе в относительно небольшом количестве, однако они являются крайне опасными веществами для человеческого организма. Их способность накапливаться в клетках и индуцировать образование активных форм кислорода и азота может приводить к развитию различных респираторных патологий, в патогенезе которых важную роль играет окислительный стресс. Состав ТВЧ атмосферного воздуха крайне неоднороден. В нем могут быть обнаружены как очень крупные частицы диаметром более 1000 мкм, так и очень мелкие, диаметр которых не превышает 0,5 мкм. От размера частиц зависит их проходимость через физиологические барьеры. Избыточное накопление ТВЧ в макрофагах может способствовать значительному ухудшению функциональной активности бронхолегочной системы, что, в свою очередь, приведет к летальному исходу. Косвенное влияние ТВЧ связано с их способностью генерировать АФК и свободные радикалы (СР), что играет важную роль в

патогенезе наиболее распространенных заболеваний воспалительной и токсической природы. Проведение нагрузочных тестов модельными взвесями позволило оценить влияние ТВЧ микроразмерного ряда на состояние окислительно-восстановительного гомеостаза в культуре альвеолярных макрофагов.

2.1. Ответная реакция систем, обеспечивающих пероксидативный баланс, в бронхоальвеолярном лаваже крыс линии Vistar на микротоксиканты воздушной среды

Исследование проводилось на крысах линии Вистар в контрольной (интактной) и опытной группе, подвергшейся воздействию модельных взвесей ТВЧ. *Морфофункциональная характеристика альвеолярных макрофагов при воздействии модельных взвесей атмосферных твердых частиц микроразмерного ряда.* Через одни сутки культивирования в 1-ой (контрольной) группе альвеолярные макрофаги имели округлую форму, образовывали небольшие скопления. Признаки прикрепления к субстрату проявляла небольшая часть клеток. На четвертые сутки культивирования макрофаги распластивались, образуя отростки, были заметны хорошо выраженные крупные ядра (рис. 13).

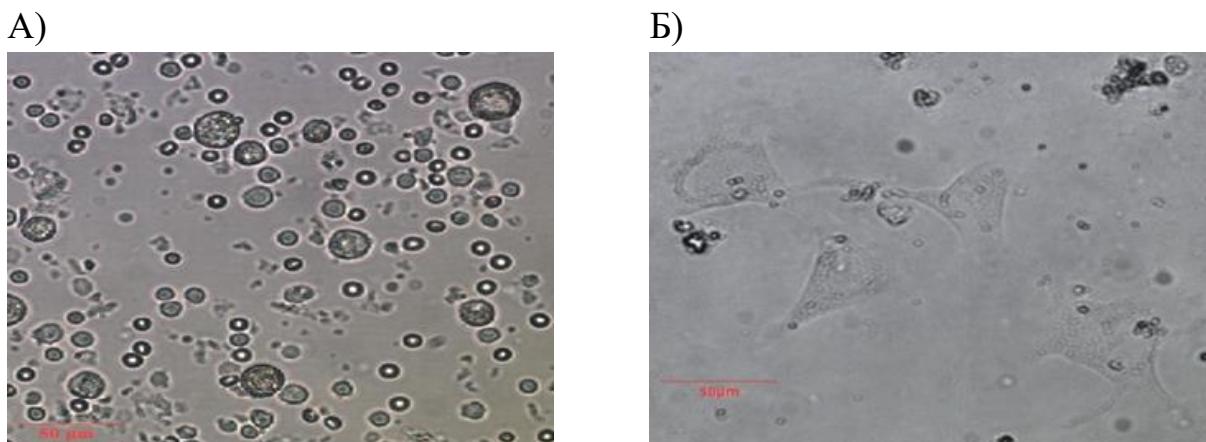


Рисунок 13. Культура альвеолярных макрофагов крыс без нагрузочных тестов (контроль). А) первые сутки культивирования, Б) четвертые сутки культивирования.

В культуральную среду для 2-ой группы на трети сутки культивирования добавляли модельную взвесь, состоящую преимущественно из твердых взвешенных частиц крупных размеров (>PM10), идентичную по составу ТВЧ взвеси района с незначительной техногенной нагрузкой. Таким образом, культуру

инкубировали со взвесью в течение 2 суток. Через 2 суток культивирования со взвесью (4 сутки культивирования в целом) наблюдали слабую фагоцитарную активность альвеолярных макрофагов, которые поглощали небольшое количество взвешенных частиц (рис. 14).

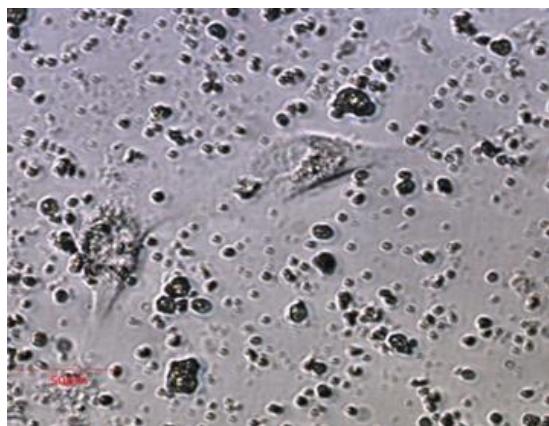


Рисунок 14. Культура альвеолярных макрофагов с добавлением модельной взвеси № 1, идентичной по составу ТВЧ взвеси района с незначительной техногенной нагрузкой (четвертые сутки культивирования, вторые сутки культивирования со взвесью).

В культуральную среду для 3-ей группы на трети сутки культивирования добавляли модельную взвесь твердых взвешенных частиц мелких размеров (PM1 и PM10), идентичную по составу ТВЧ взвеси района с высокой техногенной нагрузкой, и оставляли на 2 суток для инкубации. Через 2 суток культивирования наблюдали усиление фагоцитарной активности, цитоплазма некоторых макрофагов практически полностью была заполнена этими частицами (рис. 15).

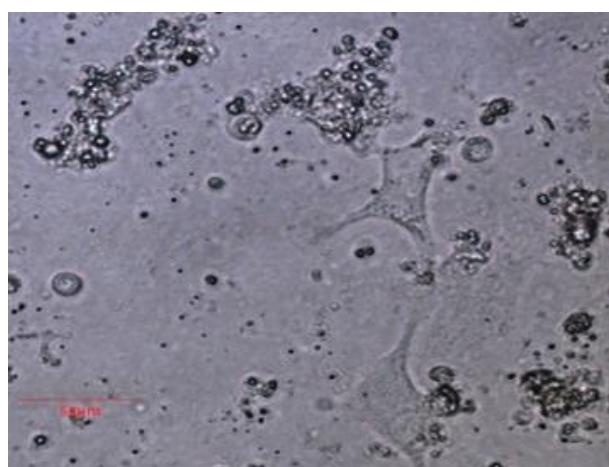


Рисунок 15. Культура альвеолярных макрофагов с добавлением модельной взвеси № 2, идентичной по составу ТВЧ взвеси района с высокой техногенной нагрузкой (четвертые сутки культивирования, вторые сутки культивирования со взвесью).

Фагоцитарная активность альвеолярных макрофагов 1-ой группы по сравнению с макрофагами двух других сравнительно была ниже, что хорошо видно на рисунках 14, 15 и 16. Это связано с отсутствием в среде трудно разлагаемых частиц, от чего цитоплазма клеток довольно прозрачная, и, кажется, что макрофаги слабо активны. В то же время во 2-ой и 3-ей группах были обнаружены разрушенные клетки, ранее фагоцитировавшие частицы. Наличие таких клеток может свидетельствовать о нарушениях как фагоцитоза, так и окислительно-восстановительного гомеостаза. Визуальная оценка фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов 2-ой и 3-ей групп при воздействии частиц различного размера и качества не выявила резких отличий в количестве фагоцитирующих клеток, однако кониофаги 3-ей группы проявляли более высокую фагоцитарную активность, чем кониофаги 2-ой группы.

Динамика содержания продуктов пероксидации липидов в альвеолярных макрофагах при воздействии модельных взвесей атмосферных твердых частиц микроразмерного ряда. Ответную реакцию дыхательной системы на воздействие ТВЧ микроразмерного ряда изучали по содержанию продуктов пероксидации липидов в культурах альвеолярных макрофагов БАЛ с нагрузочными тестами. Определяли первичные (гидропероксиды липидов (ГПЛ)) и конечные (малоновый диальдегид (МДА)) продукты пероксидации липидов в полученных культурах клеток и культуральной среде (табл. 2, 3, рис. 16).

Таблица 2. Содержание ГПЛ в культурах макрофагов БАЛ при действии модельных взвесей твердых частиц микроразмерного ряда

Содержание ГПЛ, усл. ед.	1 группа, интактная, n=17	2 группа, нагрузка модельной микровзвесью № 1, n=17	3 группа, нагрузка модельной микровзвесью № 2, n=17
культура клеток	1,36 1,14–1,62	1,75 1,06–2,18	2,06 1,58–3,08 p ₁₋₃ =0,028
культуральная среда	1,86 1,54–2,62	1,31 0,96–1,72	1,74 1,28–2,60 p ₂₋₃ =0,035
суммарное содержание	3,22 3,14–4,20	3,03 2,56–3,76	4,18 2,94–5,28 p ₁₋₃ =0,048 p ₂₋₃ =0,007

Примечание: Здесь и в таблицах 3–6 данные представлены как Мe (нКВ, вКВ), где Мe – медиана, НКВ – нижний quartиль, ВКВ – верхний quartиль). р – статистическая значимость различий между группами.

В 1-ой группе наблюдается наименьшее содержание ГПЛ в культуре клеток. Возможно, это связано с нормальной физиологической активностью макрофагов, которая позволяет им контролировать окисление липидов (табл. 2).

Однако в культуральной среде содержание ГПЛ выше, что, скорее всего, связано с разрушением части клеток при культивировании (рис. 16).

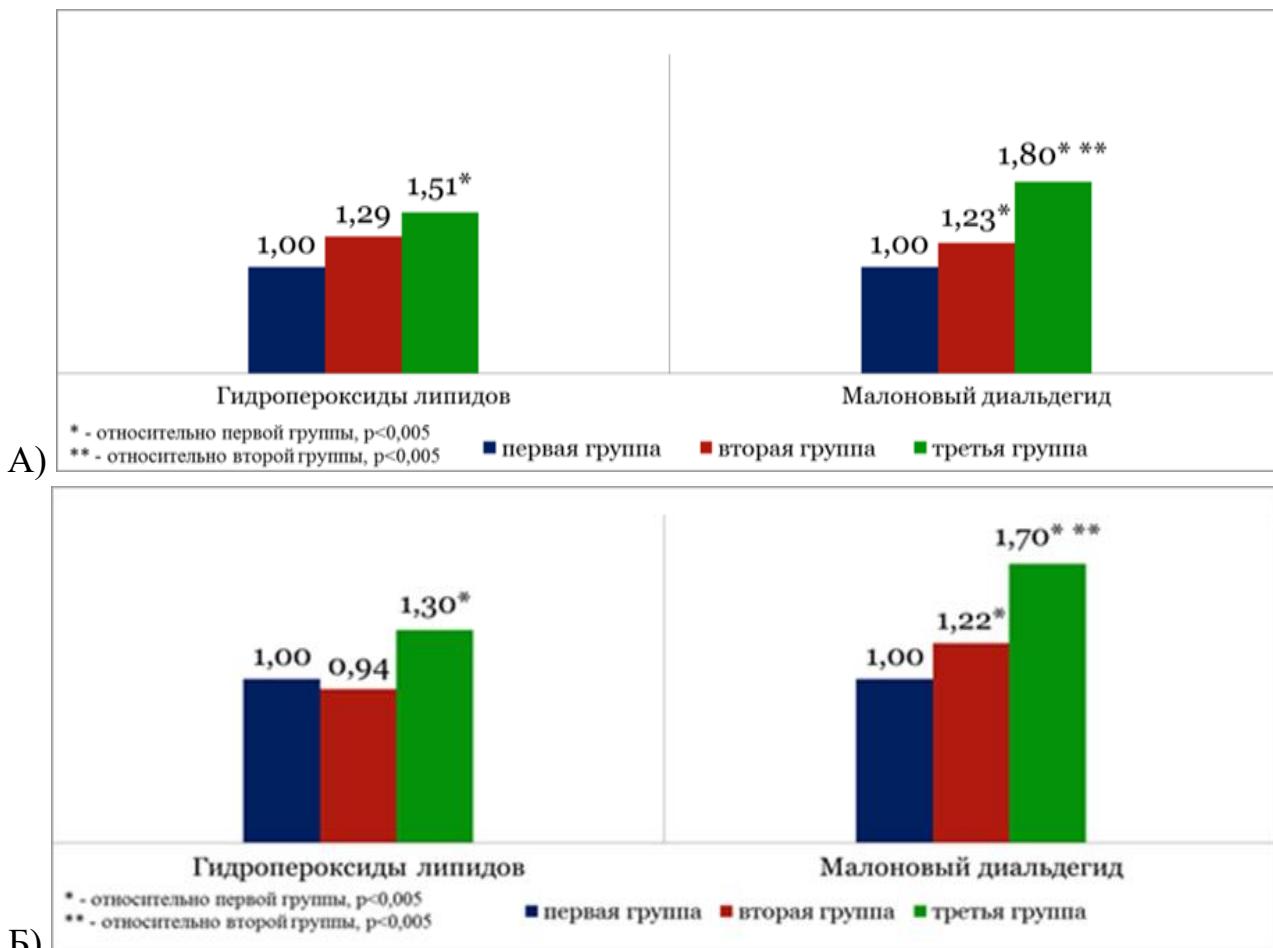


Рисунок 16. Содержание продуктов пероксидации липидов при воздействии модельных взвесей атмосферных ТВЧ относительно 1-ой группы (кон-троль): А – в культуре клеток, Б – суммарное содержание (в культуре клеток и в культуральной среде)

Во 2-ой группе содержание ГПЛ в культуре клеток и культуральной среде не отличается от 1-ой группы. Это говорит о том, что частицы, входящие в состав взвеси № 1, не оказывают выраженного воздействия на макрофаги. Вероятно, это обусловлено преобладанием (78 %) во взвеси частиц достаточно больших размеров (10–140 мкм), которые не могут фагоцитироваться клетками (табл. 3, рис. 13А). В то же время поглощение макрофагами незначительного количества (5 %) частиц мелкодисперсной фазы (0,1–2,5 мкм) не вызывает статистически значимых изменений в содержании ГПЛ по сравнению с физиологическим уровнем.

Таблица 3. Содержание МДА в культурах макрофагов БАЛ при действии модельных взвесей твердых частиц микроразмерного ряда

Содержание МДА, ммол/л	1 группа интактная n=17	2 группа нагрузка модельной микровзвесью № 1 n=17	3 группа нагрузка модельной микровзвесью № 2 n=17
культура клеток	1,30 1,25-1,31	1,60 1,54-1,72 p ₁₋₂ =0,042	2,34 1,97-2,48 p ₁₋₃ =0,0006 p ₂₋₃ =0,003
культуральная среда	1,44 1,30-1,54	1,74 1,66-1,81 p ₁₋₂ =0,035	2,31 2,18-2,42 p ₁₋₃ =0,007 p ₂₋₃ =0,028
суммарное содержание	1,37 1,27-1,43	1,67 1,60-1,77 p ₁₋₂ =0,032	2,33 2,08-2,45 p ₁₋₃ =0,0065 p ₂₋₃ =0,024

Уровень ГПЛ в культуре клеток 3-ей группы увеличен примерно в полтора раза (на 51 %) по сравнению с интактной группой. Поскольку во взвеси № 2 содержится около двух третей взвешенных твердых частиц малого размера (PM1-PM10 – 70 %), из которых фагоцитозу поддаются более трети (PM1-PM2,5 – 34%) (табл. 3), в клетках начинают усиливаться процессы, интенсифицирующие ПОЛ, о чем свидетельствует повышение содержания первичных продуктов в макрофагах. В культуральной среде содержание ГПЛ не различается между 2-ой и 1-ой группами, в то же время существуют статистически значимые различия содержания ГПЛ (на 33 %, p=0,03) между 2-ой и 3-ей группами. Можно предположить, что воздействие взвеси, идентичной по составу ТВЧ атмосферному воздуху района с незначительной техногенной нагрузкой, не вызывает разрушение макрофагов в связи с незначительным количеством фагоцитируемых микрочастиц. Увеличение содержания ГПЛ в культуральной среде при воздействии взвеси, идентичной по составу ТВЧ атмосферному воздуху района с высокой техногенной нагрузкой, может быть обусловлено разрушением части макрофагов, поглотивших большое количество мелкодисперсных частиц. По суммарному содержанию продуктируемых макрофагами ГПЛ, содержащихся в культуре клеток и культуральной среде, 1-ая и 2-ая группы не отличаются между собой, но в 3-ей группе различия статистически значимы: на 30 % (p=0,05) и 38 % (p=0,01) выше по сравнению с 1-ой и 2-ой группами, соответственно. Возможно, что взвешенные твердые частицы, содержащиеся во взвеси № 2, усиливают

генерацию АФК клеткой и, как следствие, пероксидацию липидов, что подтверждается динамикой продукции ГПЛ макрофагами.

Уровень МДА в 1-ой группе как в культуре клеток, так и в культуральной среде имеет наименьшее значение по отношению к двум другим группам (табл. 3). Поскольку МДА является конечным продуктом перекисного окисления липидов, такие небольшие значения говорят об относительно слабом течении ПОЛ. Во 2-ой группе содержание МДА повышенено по отношению к 1-ой: на 23 % для культуры клеток ($p=0,042$), на 21 % для культуральной среды ($p=0,035$). Это связано, по-видимому, с действием мелкодисперсных фракций частиц, входящих в модельную взвесь № 1 (табл. 3).

Увеличение продукции МДА закономерно, так как микрочастицы могут повышать количество свободных радикалов, способствуя прохождению окислительных реакций. Уровень МДА в 3-ей группе в наибольшей степени отличается от 1-ой группы: на 80% для культуры клеток ($p=0,0006$), на 60% для среды ($p=0,007$) и на 70 % для суммарного содержания в культуре и среде ($p=0,0065$). ТВЧ, входящие в состав модельной взвеси № 2 и представляющие собой смесь преимущественно мелкодисперсных фракций (PM1, PM2,5, PM10) (табл. 3), обладают выраженным прооксидантным эффектом, что закономерно повышает уровень продукции МДА. Это также хорошо заметно во 2-ой группе: уровень МДА в 3-ей группе выше уровня во 2-ой на 46% для культуры ($p=0,003$), на 33 % для среды ($p=0,028$) и на 40 % для культуры клеток и среды вместе ($p=0,024$), что, вероятно, связано с преобладанием в 7 раз в модельной взвеси № 2 легко фагоцитируемых мелкодисперсных ТВЧ по сравнению со взвесью № 1. Полученная динамика содержания ГПЛ и МДА в культуре альвеолярных макрофагов БАЛ и среде культивирования свидетельствует об усилении процессов пероксидации липидов при воздействии модельных взвесей ТВЧ. При этом уровень интенсификации ПОЛ наиболее выражен при действии модельной взвеси № 2, идентичной по содержанию ТВЧ атмосферного воздуха района с высокой техногенной нагрузкой.

Изменение содержания показателей тиолдисульфидного звена при воздействии модельных взвесей атмосферных твердых частиц микроразмерного ряда. Окисление макромолекул в клетках происходит постоянно, поскольку большинство реакций связано с окислением и восстановлением. Однако увеличение числа окислительных процессов способно привести к образованию большого количества конечных метаболитов, дестабилизирующих и разрушающих структуру клетки. Для предотвращения реакций подобного рода существует антиоксидантная система, включающая обширную группу веществ белковой и небелковой природы, реагирующих с продуктами окисления, в частности с продуктами ПОЛ. Изучение содержания показателей тиолдисульфидного звена

позволяет определить, как антиоксидантная система справляется с постоянно образующимися высоко реакционноспособными соединениями. В качестве показателей были выбраны глутатион (общий, окисленный (GSSG) и свободный (GSH)) и тиоредоксин (Trx), являющиеся основными компонентами тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы (табл. 4 и 5, рис. 17).

Таблица 4. Содержание глутатиона (общий, окисленный и свободный) в макрофагах БАЛ у крыс линии Вистар при воздействии модельных взвесей атмосферных твердых частиц микроразмерного ряда

Глутатион	Наименование биологического материала	Содержание глутатиона, мкмоль/л		
		группа 1, интактные	группа 2, модельная взвесь № 1	группа 3, модельная взвесь № 2
Общий	культура клеток	31,34 24,16-38,07	38,67 31,62-45,82	31,36 29,01-33,05
	среда культивирования	44,13 43,25-54,13	25,67 20,65-29,44 $p_{1-2}=0,0495$	30,34 25,62-36,11 $p_{1-3}=0,0495$
	суммарное содержание	80,73 69,33-93,66	66,28 61,06-71,49	64,04 55,96-68,48 $p_{1-3}=0,0495$
Окисленный GSSG	культура клеток	2,95 2,93-2,96	6,41 6,25-6,46 $p_{1-2}=0,034$	6,20 6,09-6,31 $p_{1-3}=0,034$
	среда культивирования	6,30 6,13-6,88	4,81 3,05-6,78	6,77 6,33-7,14
	суммарное содержание	9,15 9,01-10,29	11,27 9,48-13,06	12,98 12,64-13,22 $p_{1-3}=0,034$
Свободный GSH	культура клеток	31,29 26,48-33,21	27,13 25,14-32,23	23,52 24,02-26,07
	среда культивирования	38,89 36,99-44,16	26,23 22,67-26,35 $p_{1-2}=0,034$	23,52 21,01-27,05 $p_{1-3}=0,0495$
	суммарное содержание	71,53 65,38-79,84	51,76 51,49-62,11	50,28 46,48-53,38 $p_{1-3}=0,0495$

Установлено различное содержание GSSG в культуре клеток для контрольной группы и групп, нагруженных модельными взвесями. Уровень GSSG во 2-ой и 3-ей группах выше уровня 1-ой в 2 раза ($p=0,034$). Такое отличие от 1-ой группы может свидетельствовать об интенсификации ПОЛ и достаточно высокой активности глутатионзависимого ферментативного звена системы АОЗ (глутатионпероксидаза), которые приводят к образованию окисленного глутатиона.

Таблица 5. Содержание тиоредоксина в культурах макрофагов БАЛ при действии модельных взвесей твердых частиц микроразмерного ряда

Содержание тиоредоксина, нг/мл	1 группа интактная, n=17	2 группа нагрузка модельной микровзвесью № 1, n=17	3 группа нагрузка модельной микровзвесью № 2, n=17
культура клеток	2,60 2,20-2,80	4,30 3,10-5,50 $p_{1-2}=0,0021$	5,20 4,20-5,47 $p_{1-3}=0,0006$
культуральная среда	5,35 4,49-6,80	49,00 34,00-56,00 $p_{1-2}=0,00004$	70,50 63,70-79,20 $p_{1-3}=0,00002$ $p_{2-3}=0,0045$
суммарное содержание	3,98 3,35-4,80	16,57 14,20-18,12 $p_{1-2}=0,000035$	37,85 33,95-42,34 $p_{1-3}=0,00002$ $p_{2-3}=0,0013$

Однако содержание свободного глутатиона в культурах клеток, для которых не выявлено статистически значимых различий, указывает на способность макрофагов за счет действия глутатионредуктазы частично восстанавливать окисленный глутатион и поддерживать редокс-потенциал клеток на стационарном уровне. Следовательно, повышение содержания окисленного глутатиона в культуре клеток во 2-ой и 3-ей группах является следствием усиленной детоксикации макрофагами избыточного количества гидропероксидов и одним из признаков усиления пероксидации липидов.

В среде культивирования статистически значимых различий в содержании окисленного глутатиона не выявлено, поскольку макрофаги не экзоцитируют его. Обратная картина наблюдается для восстановленного глутатиона: содержание GSH во 2-ой группе снижено на 33 % ($p=0,034$), а в 3-ей на 40 % ($p=0,0495$) по сравнению с 1-ой группой. Для общего глутатиона изменения аналогичны: во 2-ой группе уровень снижен на 42 % ($p=0,0495$), в 3-ей группе – на 31 % ($p=0,0495$). Снижение содержания общего и свободного глутатиона в культуральной среде для 2-ой и 3-ей групп может быть связано с уменьшением экзоцизоза GSH, так как он больше необходим клеткам внутри для осуществления антиоксидантной защиты.

Суммарное содержание общего, окисленного и свободного глутатиона для 1-ой и 2-ой групп не отличается, что говорит о достаточно эффективной работе системы восстановления глутатиона. В 3-ей группе наблюдаются отличия по

сравнению с 1-ой: содержание общего глутатиона снижено на 21 % ($p=0,0495$), GSH – на 30 % ($p=0,0495$), GSSG повышенено на 42 % ($p=0,034$). Причиной уменьшения уровней общего и свободного глутатиона и увеличения уровня GSSG, по-видимому, является возрастание концентрации ГПЛ при воздействии ТВЧ.

Содержание Trx в культуральной среде для всех трех групп выше, чем в культуре клеток, что, скорее всего, указывает на активный экзоцитоз белка во внешнюю среду. Это может быть связано с тем, что тиоредоксин является фактором хемотаксиса, к тому же он препятствует запуску апоптоза в клетках, который способен активироваться от огромного количества разнообразных факторов, включая АФК.

В культуре клеток содержание Trx различается между контрольной группой и группами, нагруженными модельными взвесями: уровень Trx увеличен на 65 % ($p=0,0021$) для 2-ой и в 2 раза для 3-ей группы ($p=0,0006$) относительно 1-ой. Повышение уровня Trx, вероятно, говорит об усилении протекания окислительных реакций, связанных с фагоцитозом частиц мелкодисперсных фракций. В культуральной среде наблюдаются более сильные различия в содержании Trx. Во 2-ой группе содержание Trx выше, чем в первой, в 9 раз ($p=0,00004$). Скорее всего, это связано с активным синтезом и экзоцитозом Trx макрофагами. Обладая хемотактической активностью, он «привлекает» клетки к скоплениям частиц, от которых необходимо избавиться. Для 3-ей группы уровень Trx в 13 раз ($p=0,00002$) превышает уровень контроля и на 44 % ($p=0,0045$) уровень 2-ой группы, что, возможно, также связано с активным синтезом и секрецией белка в ответ на воздействие частиц PM1 и PM2,5, содержащихся в модельной взвеси № 2. Суммарное содержание Trx также отлично для всех групп: уровень во 2-ой группе в 4 раза ($p=0,000035$), а в 3-ей в 9 раз ($p=0,00002$) больше, чем в 1-ой. Судя по всему, увеличение концентрации Trx прямо зависит от количества мелкодисперсных частиц, способных фагоцитироваться клетками. Повышение уровня в 3-ей группе в 2 раза ($p=0,0013$) по сравнению со 2-ой подтверждает это предположение.

Таким образом, динамика содержания основных компонентов тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы показывает, что воздействие частиц модельных взвесей мелкодисперсных фракций уменьшает содержание общего глутатиона, повышая при этом уровень GSSG. Одновременно с этим происходит усиление синтеза Trx, участвующего в восстановлении GSSG, хемотаксисе макрофагов и инактивирующего запуск апоптоза в макрофагах.

Динамика изменения общей антиоксидантной активности в альвеолярных макрофагах при воздействии модельных взвесей атмосферных твердых частиц микроразмерного ряда. Антиоксидантная система (АОС) представляет собой

комплекс различных веществ, как высокомолекулярных, например, тиоредоксин, глутаредоксин, глутатионредуктаза, так и низкомолекулярных – глутатион, витамины С и Е. Определение изменения уровней каждого из них довольно затруднительно, вследствие чего было принято использовать показатель, описывающий общую антиоксидантную активность (АОА), или общий антиоксидантный статус. Благодаря этому показателю можно выяснить резервы антиоксидантной защиты (АОЗ) и обнаружить наличие отклонений в окислительно-восстановительном гомеостазе, не прибегая к более длительным и затратным методикам определения каждого компонента АОС. Данные о содержании показателя общей АОА в культуре макрофагов при воздействии модельных взвесей ТВЧ микроразмерного ряда представлены на рисунке 17 и в таблице 6.

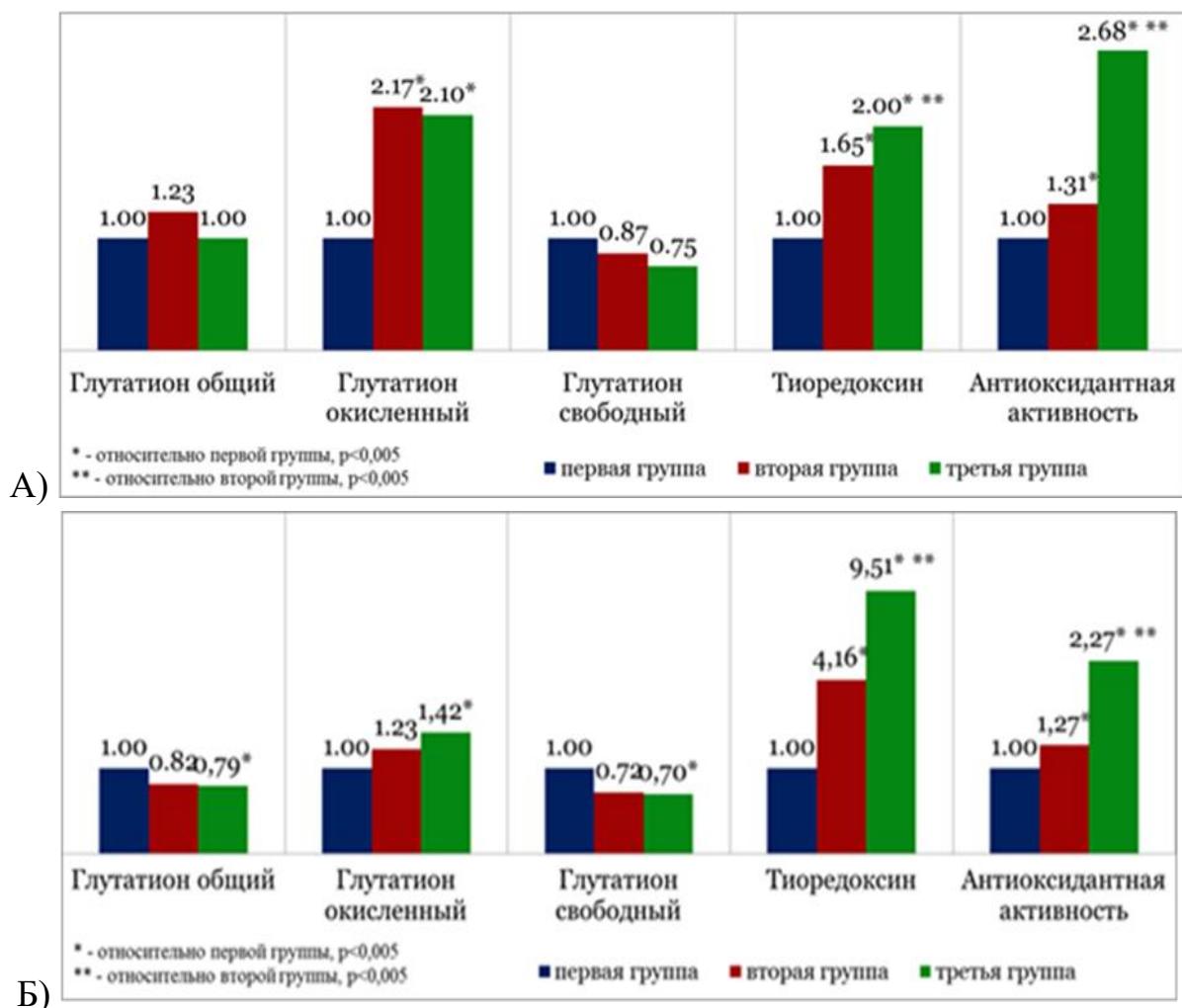


Рисунок 17. Содержание показателей тиолдисульфидного звена при воздействии модельных взвесей атмосферных твердых частиц микроразмерного ряда относительно 1-ой группы (контроль):

А – в культуре клеток, Б – суммарное содержание.

Таблица 6. Содержание показателя общей АОА в культурах макрофагов БАЛ при действии модельных взвесей твердых частиц микроразмерного ряда

АОА, ммоль/л	1 группа интактная	2 группа нагрузка модельной взвесью № 1	3 группа нагрузка модельной взвесью № 2
культура клеток	1,43 1,12-1,59	1,87 1,77-1,94 $p_{1-2}=0,0012$	3,83 3,25-4,35 $p_{1-3}=0,0001$ $p_{2-3}=0,0002$
культуральная среда	1,65 1,25-1,72	2,05 1,79-2,36 $p_{1-2}=0,04$	3,16 2,91-3,79 $p_{1-3}=0,0002$ $p_{2-3}=0,0066$
суммарное содержание	1,54 1,27-1,66	1,96 1,78-2,15 $p_{1-2}=0,036$	3,49 3,27-4,07 $p_{1-3}=0,0002$ $p_{2-3}=0,0057$

В культуре клеток наблюдаются статистически значимые отличия между всеми тремя группами, что говорит об изменении гомеостаза. Во 2-ой группе показатель АОА увеличен на 31 % ($p=0,0012$), а в 3-ей – в 2,7 раза ($p=0,0001$) по сравнению с 1-ой. АОА в 3-ей группе относительно 2-ой также выше в 2,1 раза ($p=0,0002$). Наличие частиц мелкодисперсных фракций обеих модельных взвесей в клетках усиливает ответную реакцию со стороны АОС, что можно видеть по увеличению показателя АОА.

В культуральной среде также имеются различия в активности: показатель АОА во 2-ой группе выше на 24 % ($p=0,04$) относительно 1-ой. Для 3-ей группы АОА увеличена на 92 % ($p=0,0002$) относительно 1-ой и на 54 % ($p=0,0066$) относительно 2-ой. Видно, что АОС активна даже во внеклеточной среде и эффективно справляется с постоянно образующимися под воздействием ТВЧ микроразмерного ряда высоко реакционноспособными соединениями. Анализ суммарного содержания показателя АОА для культуры клеток и культуральной среды также показал изменение окислительно-восстановительного гомеостаза: уровень АОА во 2-ой группе выше на 27 % ($p=0,036$) относительно 1-ой, а в 3-ей – в 2,3 раза ($p=0,0002$) по сравнению с 1-ой и на 78 % по сравнению со 2-ой группой. Наличие даже небольшого числа (4,9 %) частиц PM1 и PM2,5, как в модельной взвеси № 1 (табл. 3), активирует клетки, при этом их вредное воздействие успешно нивелируется за счет усиления действия антиоксидантной системы, направленной на ликвидацию

последствий этого воздействия. В случае ТВЧ модельной взвеси № 2 увеличение АОА подтверждает прооксидантный эффект частиц микроразмерного ряда.

Компоненты АОС в норме всегда присутствуют в цитоплазме клеток, во внеклеточном матриксе и в тканевой жидкости. Повышение их уровня говорит об увеличении количества свободных радикалов, что и происходит в присутствии частиц мелкодисперсных фракций. Генерацию АФК, АФА и других радикалов клетка стабилизирует за счет активного синтеза антиоксидантных веществ. И пока у клеток имеется достаточно ресурсов для поддержания такого «нестабильного» гомеостаза, они не разрушаются. Воздействие мелкодисперсных частиц модельных взвесей на культуру макрофагов бронхоальвеолярного лаважа можно разделить на два этапа (рис. 18).

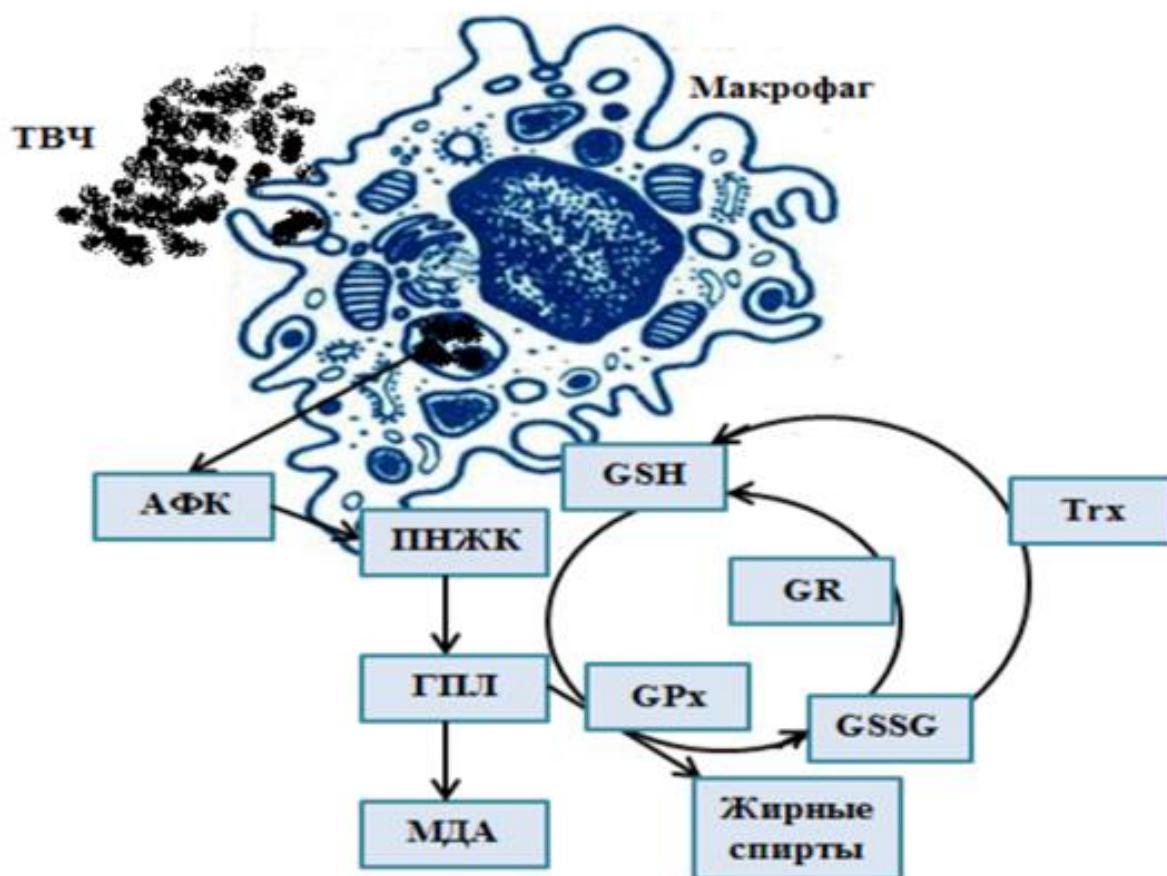


Рисунок 18. Схема воздействия ТВЧ на макрофаги.

Первый этап – фагоцитарный, представляет собой фагоцитоз ТВЧ. Эти частицы, являясь в основном минеральными веществами, металлами, сажей и пеплом (таблица 2.1), сопоставимыми по размерам с бактериями, не перевариваются в процессе фагоцитоза, а продолжают поглощаться клетками.

В результате этого цитоплазма макрофагов может быть полностью заполнена ТВЧ (рисунки 3.2, 3.3), что может в дальнейшем приводить к их механическому разрушению. Второй этап – метаболический, включает в себя изменения, происходящие в макрофагах и обусловленные фагоцитированными ТВЧ. Образованные в макрофагах БАЛ при воздействии частиц АФК и АФА взаимодействуют с различными молекулами, в первую очередь, с липидами и белками, вызывая их окислительную модификацию и биодеградацию макромолекул. Одновременно с этим в клетке протекают процессы, препятствующие прооксидантному действию ТВЧ и направленные на сохранение окислительно-восстановительного гомеостаза клетки благодаря функционированию глутатионовой и тиоредоксиновой систем.

Полученные результаты свидетельствуют, что модельные взвеси, идентичные районам с незначительной и высокой техногенной нагрузкой по составу и содержанию мелкодисперсных ТВЧ, вызывают дисбаланс в системе «ПОЛ-АОЗ». Интенсивность оказанного воздействия модельными взвесями зависит от содержания легко фагоцитируемых фракций ТВЧ РМ1 и РМ2,5, усиливающих продукцию свободных радикалов в клетках.

Обобщив результаты проведенных исследований, можно заключить, что воздействие ТВЧ мелкодисперсных фракций модельной взвеси № 2, идентичной по составу частиц атмосферному воздуху района с высокой техногенной нагрузкой, вызывает наиболее выраженную окислительную модификацию липидов макрофагов БАЛ и способствует развитию окислительного стресса. Интенсивность ответной реакции системы «ПОЛ-АОЗ» обусловлена различным содержанием в модельных взвесях частиц, фагоцитируемых макрофагами БАЛ и способных усиливать выработку АФК. Изучение динамики содержания основных компонентов тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы показывает, что при воздействии ТВЧ модельной взвеси № 2 уменьшается содержание свободного глутатиона в среде культивирования, повышая при этом уровень окисленного глутатиона в культуре клеток. ТВЧ модельной взвеси № 1 повышают содержание окисленного глутатиона в культуре макрофагов, однако уровни общего и свободного глутатиона остаются в пределах нормы и в культуре, и в среде культивирования. Влияние частиц обеих взвесей затрагивает синтез тиоредоксина, участвующего в восстановлении окисленного глутатиона и хемотаксисе макрофагов, увеличивая его концентрацию в культуральной среде в несколько раз. Тиолдисульфид-зависимые антиоксидантные процессы вносят существенный вклад в защиту макрофагов от действия окислительного стресса, индуцированного воздействием частиц микроразмерного ряда, благодаря поддержанию редокс-баланса.

2.2. Ответная реакция систем, обеспечивающих пероксидативный баланс у населения, проживающего на территориях с разным уровнем загрязнения атмосферного воздуха частицами микроразмерного ряда

Воздействие микроразмерных частиц на живой организм принципиально отличается от влияния крупноразмерных поллютантов. Одним из основных механизмов токсического действия микроразмерных частиц является их способность индуцировать выработку АФК. Умеренные уровни АФК модулируют передачу сигнала, пролиферацию и экспрессию генов. Когда АФК разрушают системы антиоксидантной защиты клеток, за счет увеличения уровня АФК или за счет уменьшения клеточной антиоксидантной способности, развивается окислительный стресс. Оксидательный стресс приводит к прямому или косвенному повреждению ключевых клеточных компонентов, таких как липиды, белки и нуклеиновые кислоты, а также ингибирует репарацию ДНК. Способность клетки противостоять патогенному воздействию микроразмерных ксенобиотиков во многом зависит от адекватности репаративных механизмов индивидуумов.

Исследована роль микроразмерных частиц атмосферных взвесей в развитии окислительного стресса у здоровых людей, проживающих в условиях индустриального города (таблицы 7, 8).

Таблица 7. Параметры прооксидантной системы, энергетического состояния клеток у здоровых людей, проживающих в относительно благоприятной и неблагоприятной зоне промышленного города-порта

Параметры / Группа	МДА, мкмоль/л	МДА/АОА, у.е.	ПК, нмоль/мг	8-OHdG, нг/мл	МПМЛ, %
Группа 1 (относительно- благоприятная), N=125	2,2±0,03	0,81±0,04	0,42±0,03	7,12±0,07	0,67±0,03
Группа 2 (неблагоприят- ная), N=130	3,1±0,22*	1,05±0,15	0,51±0,02*	7,98±0,23*	1,03±0,05*

Примечания: 1 статистическая значимость различий между группами при $p \leq 0,05$ – *; 2 МДА – малондиальдегид; АОА – антиоксидантная активность; ПК – протеин карбонил; 8-OHdG – 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин; МПМЛ – мембранный потенциал митохондрий лейкоцитов.

Выявленные нарушения у здоровых жителей, проживающих в неблагоприятном районе промышленного города-порта, характеризуются значительным возрастанием уровня окислительного повреждения белков (на 21 % относительно населения условно-благоприятного района) и ДНК (на 12 %), содержания лейкоцитов с пониженным уровнем мембранных потенциала митохондрий (на 53%). Об активации процессов свободнорадикального окисления липидов и смещении баланса в системе перекисного окисления липидов-антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) в сторону пероксидации у населения неблагоприятного района свидетельствует повышение уровня МДА (на 41 %) и индекса МДА/АОА (на 29 %).

Таблица 8. Параметры антиоксидантной системы у здоровых людей, проживающих в относительно благоприятной и неблагоприятной зоне промышленного города-порта.

Параметры / Группа	TP 1, нг/мл	TPP 1, нг/мл	Г, мкг/мл	ГП, нг/мл	ГР, нг/мл	АОА, ммоль/л	СОД, нг/мл
Группа 1 (относительно-благоприятная), N=125	6,87±0,08	2,09±0,01	41,59±1,76	0,82±0,01	1,33±0,13	2,1±0,22	13,27±0,20
Группа 2 (неблагоприятная), N=130	9,12±0,28 **	2,27±0,02	54,06±2,81 **	0,54±0,05 *	1,38±0,31	3,82±0,06 **	15,33±0,18*

Примечания: 1 статистическая значимость различий между группами при $p \leq 0.05 - *$, $p \leq 0.01 - **$; 2 TP 1 – тиоредоксин 1; TPP 1 – тиоредоксин-редуктаза 1; Г – глутатион; ГП – глутатион-пероксидаза; ГР – глутатион-редуктаза; АОА – антиоксидантная активность; СОД – супероксиддисмутаза.

Одним из основных механизмов, посредством которого микроразмерные частицы неблагоприятно влияют на здоровье, является их способность индуцировать выработку АФК, что приводит к развитию окислительного стресса. Микрочастицы могут проникать в респираторный тракт намного глубже, чем большие частицы. К тому же, микроразмерные частицы способны сорбировать токсические вещества, в том числе металлы. Увеличение уровней прооксидантных маркеров (MDA, 8-OHdG, PC) в нашем исследовании у лиц, проживающих в индустриальной зоне по сравнению с лицами из парковой зоны (табл. 7),

возможно связано с различиями в содержании металлов переменной валентности в частицах твердых воздушных поллютантов. Эти металлы усиливают процессы генерации АФК, способствуя образованию в реакциях Фентона или Хабера–Вайса высокореактивных гидроксильных радикалов, реагирующих практически со всеми биомолекулами.

Интенсификация процессов пероксидации у здоровых жителей индустриального района вызывает ответную реакцию со стороны системы АОЗ. Увеличение общей антиоксидантной активности (АОА на 82%) позволяет в некоторой степени сдерживать процессы окислительной модификации вышеперечисленных макромолекул и поддерживать редокс-потенциал на уровне, соответствующем напряженной ответной реакции организма в процессе воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды. У жителей условно-неблагоприятного района для поддержания антиоксидантной защиты увеличивается синтез СОД (на 15%), осуществляющей инактивацию свободных радикалов и уменьшающей образование гидроперекисей, что обуславливает снижение продукции ГП (на 20%). Обеспечение восстановительного потенциала тиол-дисульфидного звена происходит за счет увеличения тиреодоксина (на 33%) и глутатиона (на 30%) при стабильном содержании редуктаз (ГР и TPP1).

Проведение корреляционного анализа позволило установить взаимодействие основных участников процесса у здоровых людей в условиях неблагоприятного качества воздушной среды. Наиболее высокий уровень корреляционной связи (-0,84, $p=0,0001$; выявлен для общей антиоксидантной активности (АОА) и содержания малонового диальдегида (МДА) (табл. 9).

Негативная направленность связи отражает сдерживающее воздействие компонентов АОЗ на накопление продуктов пероксидации липидов на данном этапе взаимодействия систем. Как для МДА (-0,54, $p=0,022$; 0,71, $p=0,001$), так и для индекса МДА/АОА – параметра, характеризующего соотношение систем ПОЛ и АОЗ (-0,54, $p=0,023$; 0,71, $p=0,0001$), зафиксированы корреляционные связи с показателями глутатионового звена антиоксидантной защиты. Это обусловлено тем, что за счет активации глутатионового звена АОЗ прерывается цепная реакция окисления липидов, что позволяет сдерживать стресс-индуцированное лавинообразное накопление продуктов пероксидации липидов вследствие того, что глутатион обеспечивает восстановление гидроперекисей фосфолипидов мембран глутатион-S-трансферазами и ГП.

Уровень окислительного повреждения белков в значительной степени зависит от активности тиоредоксинового звена АОЗ (-0,58, $p=0,011$). ТР система препятствуют образованию липопероксидов, конъюгирующих с аминокислотными остатками и приводящих к окислительной модификации белков.

Таблица 9. Корреляционные связи исследуемых параметров

Пара- метры	8-OHdG	TP1	ПС	TPP1	СОД	МДА	AOA	МПМЛ	ГП
TP1	0,63 p=0,004								
ПС		0,52 p=0,027							
TPP1	0,53 p=0,022		-0,58 p=0,011						
СОД	0,72 p=0,001	0,66 p=0,002							
AOA				-0,84 p=0,0001					
МПМЛ					-0,55 p=0,02				
ГР					0,71 p=0,001	-0,62 p=0,005	0,71 p=0,0001		
ГП	0,54 p=0,021	0,55 p=0,017		0,51 p=0,035				-0,57 p=0,002	
Г			0,53, p=0,022		-0,54 p=0,022		-0,54 p=0,023	0,51 p=0,006	-0,55 p=0,002

Примечание: 8-OHdG – 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин; ТР1 – тиоредоксин 1; ПК – протеин карбонил; ТРР1 – тиоредоксин редуктаза 1; СОД – супероксиддисмутаза; МДА – малониальдегид; АОА – антиоксидантная активность; МПМЛ – мембранный потенциал митохондрий лейкоцитов; ГР – глутатион-редуктаза; ГП – глутатион пероксидаза; Г – глутатион.

Помимо этого, тиоредоксин восстанавливает дисульфидные связи в окисленно-модифицированных белках. Основную роль в поддержании уровня мембранных потенциала митохондрий лейкоцитов при воздействии микротоксикантов атмосферного воздуха играет глутатионовое звено АОЗ – глутатионпероксидаза и глутатион (-0,57, $p=0,002$; 0,51, $p=0,006$). Окислительное повреждение ДНК у здоровых жителей промышленного центра вызывает активный отклик со стороны тиоредоксиновой системы (0,63, $p=0,004$; 0,53, $p=0,022$) и СОД (0,72, $p=0,001$). Тиоредоксиновое звено обеспечивает защиту целостности ядерного материала за счет поддержания редокс-потенциала клеток, передачи сигнала остальным участникам АОЗ, участвуя в reparации возникших повреждений молекулы ДНК. СОД обеспечивает первую линию защиты от свободнорадикального повреждения макромолекул за счет инактивации супероксид-анион радикалов.

Наблюдаемая динамика исследуемых процессов, на наш взгляд, свидетельствует о развитии ранней стадии повреждения в ответ на воздействие АФК. На этом этапе окислительные повреждения в наибольшей степени затрагивают наиболее чувствительные параметры организма – структурно-функциональное состояние белков и степень предрасположенности лейкоцитов к апоптотическим изменениям. Избыток АФК вместе с ростом концентрации продуктов перекисного окисления в крови способствует индукции процессов окислительной модификации белков, в том числе необратимой – карбонилированию. Окислительное повреждение ДНК вызывает нарушение считывания информации и опосредует синтез белков с измененными физико-химическими свойствами, меняя метаболизм и структурно-функциональный статус клетки. Выраженные нарушения каталитических способностей и процессов reparации белков могут приводить к активации апоптоза клетки, а дальнейший рост деструкции протеинов – к некротическому лизису. Подобный характер нарушений, обусловленный воздействием мелкодисперсных частиц атмосферного воздуха, свидетельствует о смещении оксидантно-антиоксидантного баланса. Здоровый организм может частично сдерживать уровень повреждений в условиях окислительного стресса. Наибольший вклад в механизмы защиты вносит глутатионовое звено – ГП как основной утилизатор гидропероксидов, и СОД, поддерживающая стационарную концентрацию супероксидных радикалов на определенном уровне, защищая тем самым клеточные структуры от повреждающего действия супероксидрадикалов и гидроксильных радикалов и создавая условия для нормализации энергетической функции клеток и снижения окислительного повреждения белков. Тиоредоксиновое звено АОС подключается при возрастании уровня окислительного повреждения ДНК как основной reparативный фактор (восстановление тиол-дисульфидных связей). Процессы адаптации к окислительному стрессу, скорее всего, связаны с повышением H_2O_2 -деградирующей активности и оптимальным распределением таковой

среди антиперекисных ферментов, что осуществляется посредством активации фактора транскрипции NF-кВ и роста экспрессии генов ферментов антиоксидантной защиты, ограничивающих реакции окисления белков и липидов.

Таким образом, экологическая ситуация в модельных точках г. Владивостока характеризуется различным содержанием крупнодисперсных и мелкодисперсных частиц в атмосферном воздухе, а также их качественным наполнением, что сказывается на ответной реакции организма. Воздействие мелкодисперсных частиц атмосферного воздуха на организм относительно здоровых жителей промышленного города-порта вызывает развитие окислительных модификаций белков и ДНК, способствующих изменению энергетического потенциала лейкоцитов. Выраженный ответ со стороны тиол-дисульфидной системы АОЗ позволяет поддерживать баланс пероксидативных-антиоксидантных процессов, тем самым защищая клеточные и субклеточные структуры от значительных окислительных повреждений. Однако длительное, стресс-индуцирующее воздействие микроразмерных частиц может привести к стойким изменениям в трансдукции сигнала и экспрессии генов, истощению адаптационных и репарационных возможностей организма и способствовать развитию патологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы значительно возросло понимание роли влияния воздушной среды, как важнейшего фактора, определяющего здоровье городского населения, активно реагирующего на системное воздействие неблагоприятных природно-климатических и экологических условий. Проведенные в стране исследования по оценке вклада средовых факторов в формирование здоровья населения показывают, что наибольшее бремя неинфекционных заболеваний (около 70%) связано с воздействием атмосферного воздуха, загрязненного различными химическими соединениями, при этом основным источником загрязнения атмосферного воздуха в Российской Федерации является автотранспорт [1, 198].

Мониторинг за качеством воздушной среды является одной из важных проблем санитарно-гигиенической политики государства. Технические и экономические сложности проведения полноценного мониторинга (с длинными рядами наблюдения) за качеством атмосферы требует альтернативного поиска эффективных методов оценки качества среды, учитывающих условия загрязнения воздушной среды промышленными, транспортными источниками загрязнения на фоне региональных и локальных климатических особенностей территории городской среды, определяющих условия рассеивания и накопления загрязняющих веществ в воздухе [198]. Волкодав и др., 2016). Загрязнение атмосферы города происходит за счет общего загрязнения окружающей среды автомобильным транспортом, выбросами теплоэлектростанций, котельных, а также загрязнением почвы и воды предприятиями с различным классом опасности. В целом эти источники обеспечивают формирование воздушных пылевых частиц разных фракций, в том числе микроразмерного ряда, адсорбирующих тяжелые металлы. Атмосферные взвеси из относительно-благоприятного района состоят из природных компонентов, с которыми человек и животные на Земле находятся в контакте с момента появления - частиц минералов и горных пород, органических компонентов (пыльца, детрит, фрагменты насекомых, аэропланктон). Техногенные взвеси в неблагоприятном районе города Владивостока насыщены токсичными компонентами, в числе которых одни из самых опасных техногенных частиц - сажа и микрочастицы металлов. Немаловажным является зависимость содержания ТВЧ от ряда условий. Муссонный тип погодно-климатических условий с характерным влажностным, температурным, ветровым режимом, создает достаточно высокий уровень самоочищения атмосферы города, особенно в 100-500 м от транспортных магистралей. Однако уровень высоко патогенных

твердых взвешенных частиц РМ1-10 в атмосферном воздухе в значительной степени зависит от плотности селитебной застройки и автомобильных дорог. Таким образом, в совокупности особенностей рельефа, автомобильного трафика, климатических параметров формируется локальная неоднородность условий, способствующих загрязнению атмосферного воздуха ТВЧ [23-44; 198].

Взаимодействие человека со средой вызывает в организме ответные реакции, обеспечивающие возможность существования в разнообразных условиях среды. В пределах диапазона толерантности человек приспосабливается к условиям окружающей среды благодаря многочисленным защитным и приспособительным (адаптивным) реакциям организма. За пределами выносливости человека неизбежно, в зависимости от времени и интенсивности внешнего воздействия, формируется физиологический сдвиг, вызывающий формирование различных экологически зависимых заболеваний. При техногенном загрязнении городской среды наибольшую опасность для здоровья представляют нано- и микроразмерные частицы атмосферных взвесей. Микрочастицы обладают более высокой токсичностью, чем обычные частицы, способны проникать в неизменном виде через клеточные барьеры, циркулировать и накапливаться в органах и тканях, вызывая более выраженные патоморфологические поражения внутренних органов, при этом они крайне тяжело выводятся из организма [199].

Одним из основных механизмов, посредством которых микроразмерные частицы вызывают неблагоприятные последствия для здоровья, является их способность индуцировать генерацию активных форм кислорода, что приводит к окислительному стрессу в клетках. Проведенные нами исследования свидетельствуют о развитии ранней стадии повреждения у населения промышленного города-порта в ответ на воздействие АФК. На этом этапе окислительные повреждения в наибольшей степени затрагивают наиболее чувствительные параметры организма – структурно-функциональное состояние белков и степень предрасположенности лейкоцитов к апоптотическим изменениям. Избыток АФК вместе с ростом концентрации продуктов перекисного окисления в крови способствует индукции процессов окислительной модификации белков, в том числе необратимой – карбонилированию. Оксидательное повреждение ДНК вызывает нарушение считывания информации и опосредует синтез белков с измененными физико-химическими свойствами, меняя метаболизм и структурно-функциональный статус клетки. Выраженные нарушения каталитических способностей и процессов reparации белков могут приводить к активации апоптоза клетки, а дальнейший рост деструкции протеинов – к некротическому лизису [23-35, 46].

Подобный характер нарушений, обусловленный воздействием мелко-дисперсных частиц атмосферного воздуха, свидетельствует о смещении

оксидантно-антиоксидантного баланса. Здоровый организм может частично сдерживать уровень повреждений в условиях окислительного стресса. В частности, организм путем активации естественных приспособительных реакций может увеличить продукцию антиоксидантных молекул, блокируя процессы перекисного окисления и репарации повреждений, индуцированных окислительным стрессом. Тиоредоксиновая и глутатионовая системы избирательно контролируют активность определенных белков и сигнальных путей, при этом тиоредоксиновая система имеет больше мишеней действия, чем глутатионовая. Вместе с тем, многие белки являются общими объектами регуляции и тиоредоксиновой, и глутатионовой систем: с одной стороны, через восстановление дисульфидных связей посредством TRX/GRX и, с другой стороны, глутатионилированием цистеинов. Высокая активность антиоксидантных систем у здоровых жителей относительно неблагоприятного района показывает наличие адаптационных ресурсов, позволяя до определенной степени компенсировать стресс-индуцированные повреждения [200].

Как показали исследования, наибольший вклад в механизмы защиты вносит глутатионовое звено – ГП как основной утилизатор гидропероксидов, и СОД, поддерживающая стационарную концентрацию супероксидных радикалов на определенном уровне, защищая тем самым клеточные структуры от повреждающего действия супероксидрадикалов и гидроксильных радикалов и создавая условия для нормализации энергетической функции клеток и снижения окислительного повреждения белков. Тиоредоксиновое звено АОС подключается при возрастании уровня окислительного повреждения ДНК как основной репаративный фактор (восстановление тиол-дисульфидных связей) [23-35].

Результаты, полученные в ходе экспериментального блока исследования согласуются с этим положением – модельные взвеси, идентичные районам с незначительной и высокой техногенной нагрузкой по составу и содержанию мелкодисперсных ТВЧ, вызывают дисбаланс в системе ПОЛ-АОЗ. Интенсивность оказанного воздействия модельными взвесями зависит от содержания легко фагоцитируемых фракций ТВЧ РМ1 и РМ2,5, усиливающих продукцию свободных радикалов в клетках [23-35, 201-202].

Дисбаланс про- и антиоксидантных процессов в макрофагах БАЛ наиболее выражен при действии модельной взвеси, соответствующей району с высоким уровнем техногенного загрязнения, частицы мелкодисперсных фракций (РМ1, РМ2,5) которой составляют около 34 %, что подтверждается динамикой изученных показателей. Несмотря на значительное увеличение общей АОА, в макрофагах происходит накопление начальных (ГПЛ) и конечных (МДА) метаболитов окисления полиненасыщенных жирных кислот. Это свидетельствует о наиболее сильном воздействии ТВЧ и несостоятельности антиоксидантной защиты

противостоять этому воздействию, что приводит к развитию окислительного стресса. Количественная динамика между всеми группами суммарного содержания каждого из изученных продуктов ПОЛ, образующихся в культуре клеток, попадающих в культуральную жидкость либо в результате их экскреции, либо разрушения макрофагов и характеризующих общую продукцию этих метаболитов, подтверждает более интенсивное воздействие модельной взвеси с наибольшим содержанием фракции фагоцитируемых ТВЧ. Со стороны изученных показателей АОС также отмечены изменения баланса: в культуре клеток содержание окисленного глутатиона повышенено по причине активного расходования глутатиона на восстановление ГПЛ. В условиях окислительного стресса глутатионовый баланс сдвигается в сторону окисленной формы глутатиона, что означает необходимость активации восстановительных процессов. Индуцированная активация систем восстановления GSSG, в том числе и Trx, приводит к сохранению содержания восстановленного глутатиона в макрофагах на физиологическом уровне. Это, по-видимому, также связано с прекращением экзоцитоза глутатиона, необходимого для транспорта аминокислот из внеклеточной среды в клетки, что подтверждают полученные данные о снижении содержания свободного и общего глутатиона в культуральной среде. Вклад тиоредоксиновой системы в защиту иммунокомпетентных клеток органов дыхания от патологического действия мелкодисперсных частиц значителен. Trx участвует во многих процессах: в восстановлении дисульфидных связей белков, окисленного глутатиона, клеточном сигналинге. Установлено, что тиоредоксин проявляет себя как хемотаксический фактор для макрофагов. Исходя из этого, увеличение уровня белка закономерно при действии ТВЧ микроразмерного ряда [23-35, 202].

Этот процесс можно расценивать как повышение напряженности функционирования триггерных физиологических систем за счет перестройки адаптационных механизмов, изменения порога их реагирования. Установленная нами зависимость может быть расценена как модуляция реактивности одной из основных гомеостатических систем организма, обусловленная адаптацией к неблагоприятным факторам окружающей среды. В неблагоприятных районах города на фоне сильного общего загрязнения среды и воздуха адаптационная способность организма снижается. Хронический воспалительный процесс и поллютанты, содействуя активации и рекрутированию фагоцитирующих клеток в легкие, способствуют развитию и поддержанию оксидативного стресса. Действие радикальных форм кислорода, в свою очередь, создает благоприятную основу для бактериальных воздействий и нарушения функций легких, поддерживает хронизацию БОД [23-35]. Процессы адаптации к окислительному стрессу, скорее всего, связаны с повышением H_2O_2 -деградирующей активности и оптимальным

распределением таковой среди антиперекисных ферментов, что осуществляется посредством активации фактора транскрипции NF-κB и роста экспрессии генов ферментов антиоксидантной защиты, ограничивающих реакции окисления белков и липидов [23-35].

Таким образом, исследование позволило установить механизм влияния ТВЧ микроразмерных фракций на формирование экологообусловленных нарушений и выделить протективную роль тиолдисульфидной системы. Полученные результаты являются основой для разработки комплекса лечебно-профилактических мероприятий, направленных на снижение воздействия неблагоприятных факторов на организм населения Приморского края.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рахманин Ю.А. Окружающая среда и здоровье: приоритеты профилактической медицины / Ю.А. Рахманин, Р.И. Михайлова // Гигиена и санитария – 2014. – Т. 93, № 5. – С. 5–10.
2. WHO global air quality guidelines: Particulate matter (PM_{2.5} and PM₁₀), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2021. – режим доступа: <https://iris.who.int/bit-stream/handle/10665/345334/9789240034433-eng.pdf>.
3. Air Pollution—the Silent Killer: Infographic [Internet]. World Health Organization; 2019 – режим доступа <http://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/air-quality/news/news/2018/5/over-half-a-million-premature-deaths-annually-in-the-european-region-attributable-to-household-and-ambient-air-pollution/infographic-air-pollution-the-silent-killer>.
4. Global Burden of Disease Study 2020 [Internet]. Institute for Health Metrics and Evaluation; 2021 – режим доступа <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>.
5. The Lancet commission on pollution and health / P.J. Landrigan, R. Fuller, N.J.R. Acosta, O. Adeyi, R. Arnold, N.N. Basu et al // Lancet. – 2018. – Vol.391, N 10119. – P. 462–512.
6. Air pollutants and early origins of respiratory diseases / D. Kim, Z. Chen, L.F. Zhou, S.X. Huang // Chronic Dis Transl Med. – 2018. – Vol 4, N 2. – P. 75–94. <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2018.03.003>
7. Global, regional, and national deaths, prevalence, disability-adjusted life years, and years lived with disability for chronic obstructive pulmonary disease and asthma, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. // Lancet Respir Med. – 2017. – Vol. 9, N 5. – 691–706. [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(17\)30293-X](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(17)30293-X).
8. A work group report on ultrafine particles (American Academy of Allergy, Asthma & Immunology): why ambient ultrafine and engineered nanoparticles should receive special attention for possible adverse health outcomes in human subjects / N. Li et al // J. Allergy Clin. Immunol. – 2016. – N 138. – P. 386–396.
9. Некоторые аспекты моделирования атмосферных взвесей исходя из вещественного состава / К.С. Голохваст, И.Ю. Чекрыжов, И.Л. Ревуцкая и др. // Известия Самарского НЦ РАН. – 2012. – Т. 14, № 1(9). – С. 2401–2404.

10. Голохваст К.С. Атмосферные взвеси городов Дальнего Востока России / К.С. Голохваст // Владивосток: Дальневосточный федерал. ун-т. – 2013. – 178 с.
11. Голохваст К.С. Профиль атмосферных взвесей в городах и его экологическое значение / К.С. Голохваст // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – № 49. – С. 87–91.
12. Изменение профиля атмосферных взвесей как фактор роста иммуноаллергических заболеваний / К.С. Голохваст, В.В. Чайка, С.Ю. Борисов и др. // Аллергология и иммунология. – 2013. – Т. 14, № 1. – С. 22–23.
13. Cellular internalization and release of polystyrene microplastics and nanoplastics / Liu Ling, Xu Kexin, Zhang Bowen et al // Science of The Total Environment – 2021. – Volume 779. – P. 146523. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146523>.
14. The impact of multi-walled carbon nanotubes with different amount of metallic impurities on immunometabolic parameters in healthy volunteers / T.I. Vitkina, V.I. Yankova, T.A. Gvozdenko et al // Food Chem. Toxicol. – 2016. – Vol.87. – P. 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.11.023>.
15. Iron-rich air pollution nanoparticles: An unrecognised environmental risk factor for myocardial mitochondrial dysfunction and cardiac oxidative stress / B.A. Maher, A. González-Maciel, R. Reynoso-Robles et al // Environmental Research. – 2020. – Volume 188. – P. 109816. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109816>.
16. ГОСТ Р ИСО 7708-2006. Качество воздуха. Определение гранулометрического состава частиц при санитарно-гигиеническом контроле. – М.: Стандартинформ. – 2006. – 10 с. <http://docs.cntd.ru/document/1200046160>.
17. Report on the European Environment and Health Process (2010-2013) [Internet]. World Health Organization; 2013. – режим доступа WHO.RC63.ReportEHP.e.pdf (unece.org).
18. Aeroparticles, Composition, and Lung Diseases / C.I. Falcon-Rodriguez, A.R. Osornio-Vargas, I. Sada-Ovalle et al / Front Immunol – 2016. – Vol.7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00003>.
19. The pathophysiological and molecular mechanisms of atmospheric PM2.5 affecting cardiovascular health: A review / Feng Shaolong, Huang Fangfang, Zhang Yuqi et al // Ecotoxicology and Environmental Safety – 2023. – Volume 249. – P. 114444. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114444>.
20. Half the world's population are exposed to increasing air pollution / G. Shaddick, M.L. Thomas, P. Mudu, et al. // npj Clim Atmos Sci – 2020. – Vol.3, N 23. <https://doi.org/10.1038/s41612-020-0124-2>.

21. Schraufnagel, D.E. The health effects of ultrafine particles / D.E. Schraufnagel // *Exp Mol Med.* – 2020. – Vol.52, N 3. – P. 311–7.
22. Misiukiewicz-Stepien, P. Biological effect of PM(10) on airway epithelium-focus on obstructive lung diseases / P. Misiukiewicz-Stepien, M. Paplinska-Goryca // *Clin Immunol.* – 2021. – Vol.227. – P. 108754.
23. Формирование оксидативных нарушений, вызванных воздействием микрочастиц атмосферных взвесей у населения г. Владивостока / Т.И. Виткина, В.И. Янькова, Т.А. Гвозденко и др. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2016. – Т. 1, № 3-2(109). – С. 82-85.
24. О роли тиолдисульфидной системы в защите организма человека от действия аэрозольного загрязнения воздуха / Т.И. Виткина, Т.А. Гвозденко, В.Н. Ракитский и др. // *Гигиена и санитария.* – 2017. – Т. 96, № 8. – С. 701-706. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-8-701-706>.
25. Виткина, Т. И. Динамика содержания гидропероксидов липидов в альвеолярных макрофагах при воздействии модельных взвесей атмосферных твердых частиц микроразмерного ряда / Т.И. Виткина, В.И. Янькова, В.А. Городный // *Биорадикалы и антиоксиданты.* – 2016. – Т. 3, № 3. – С. 22-23.
26. Оценка reparативных возможностей альвеолярных макрофагов при воздействии микрочастиц воздушной среды / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова, Т.А. Гвозденко, К.С. Голохваст // Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов: Материалы Восьмой Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. / Ответств. ред. В.А. Шкурупий. – Новосибирск: Издательство Сибирского отделения РАН. – 2018. – С. 17-18.
27. Оценка воздействия микроразмерных загрязнителей атмосферного воздуха урбанизированной территории на население с бронхолегочной патологией / Т.И. Виткина, Л.В. Веремчук, Е.Е. Минеева, К.А. Сидлецкая // Современные проблемы оценки, прогноза и управления экологическими рисками здоровью населения и окружающей среды, пути их рационального решения: Материалы III Международного форума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды. – Москва. – 2018. – С. 55-59.
28. Виткина, Т.И. Окислительный стресс как ответ на воздействие микроразмерных твердых взвешенных частиц атмосферного воздуха / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова // *Онкология – XXI век: Материалы XXII Международной научной конференции по онкологии, VIII Итало-российской научной конференции по онкологии и эндокринной хирургии, XXII Международной научной конференции «ЗДОРОВЬЕ НАЦИИ – XXI ВЕК».* – Подгорица, Черногория. – 2018. – С. 30-32.

29. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019620089 Российской Федерации. Динамика показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы макрофагов бронхоальвеолярного лаважа крыс линии Вистар, подвергнутых воздействию микровзвесей атмосферного воздуха различной дисперсности: опубл. 17.01.2019 / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова, Т.А. Гвозденко, К.А. Сидлецкая.
30. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019621687 Российской Федерации. Показатели тиол-дисульфидного звена антиоксидантной защиты альвеолярных макрофагов экспериментальных животных при воздействии микровзвесей атмосферного воздуха различной дисперсности: опубл. 01.10.2019 / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова, Т.А. Гвозденко, Л.В. Веремчук.
31. Bioindicators of early stage of alveolar macrophages damage induced by exposure to air micro-toxicants / T.I. Vitkina, L.S. Barskova, Yu.K. Denisenko et al // Respirology. – 2019. – Vol. 24, No. S2. – P. 111. https://doi.org/10.1111/resp.13700_40.
32. Баланс глутатионзависимых процессов в альвеолярных акрофагах 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. <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-2-200-205>.
33. Виткина, Т.И. Взаимосвязь окислительно-восстановительных параметров альвеолярных макрофагов с характеристиками загрязнения микротоксикантами атмосферного воздуха г. Владивостока / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова, Л.В. Веремчук // Материалы I Национального конгресса с международным участием по экологии человека, гигиене и медицине окружающей среды «СЫСИНСКИЕ ЧТЕНИЯ – 2020»: Сборник тезисов. – Москва: ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью». – 2020. – С. 74-77.
34. Виткина, Т.И. Влияние микроразмерных твердых взвешенных частиц сажи на прооксидантно-антиоксидантную систему альвеолярных макрофагов крыс линии Вистар / Т.И. Виткина, Л.С. Барскова, Л.В. Веремчук // «СЫСИНСКИЕ ЧТЕНИЯ – 2021»: Материалы II Национального конгресса с международным участием по экологии человека, гигиене и медицине окружающей среды. – Москва: ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью». – 2021. – С. 77-82.
35. Vitkina, T.I. Interaction of inflammatory parameters and thiol/disulfide system of antioxidant protection in chronic obstructive pulmonary disease /

T.I. Vitkina, E.E. Mineeva, K.A. Sidletskaya // Russian Open Medical Journal. – 2022. – Vol. 11, N 4. – P. 411. <https://doi.org/10.15275/rusomj.2022.0411>.

36. Urban air pollution, climate and its impact on asthma morbidity / L.V. Veremchuk, V.I. Yankova, T.I. Vitkina et al // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2016. – Vol. 6, N 1. – P. 76-79. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.10.001>.

37. Оценка влияния климато-техногенной среды на степень бронхиальной обструкции при хронической обструктивной болезни легких / Л.В. Веремчук, Е.Е. Минеева, Т.А. Виткина, К.С. Голохваст // Экология, здоровье и образование в XXI веке. Глобальная интеграция современных исследований и технологий: Материалы III Кавказского экологического форума, Грозный. – Грозный: Чеченский государственный университет. – 2017. – С. 126-129.

38. Impact of atmospheric microparticles and heavy metals on external respiration function of urbanized territory population / L.V. Veremchuk, E.E. Mineeva, T.I. Vitkina et al // Russian Open Medical Journal. – 2017. – Vol. 6, N 4. – P. 402. <https://doi.org/10.15275/rusomj.2017.0402>.

39. Веремчук, Л.В. Методология прогнозирования тяжести заболевания хронической обструктивной болезнью легких под воздействием факторов окружающей среды / Л.В. Веремчук, Е.Е. Минеева, Т.И. Виткина // Системный анализ в медицине (САМ 2017): материалы XI международной научной конференции. – Благовещенск: Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания. – 2017. – С. 30-32.

40. Методология интегральной оценки влияния факторов окружающей среды на функциональное состояние органов дыхания здоровых лиц и больных с бронхолёгочной патологией / Л.В. Веремчук, Е.Е. Минеева, Т.И. Виткина и др. // Гигиена и санитария. – 2018. – Т. 97, № 3. – С. 269-273. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-3-269-273>.

41. Impact evaluation of environmental factors on respiratory function of asthma patients living in urban territory / L.V. Veremchuk, T.I. Vitkina, E.E. Mineeva et al // Environmental Pollution. – 2018. – Vol. 235. – P. 489-496. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.122>.

42. Веремчук, Л.В. Методология системного моделирования экологической зависимости развития заболеваний органов дыхания / Л.В. Веремчук // Системный анализ в медицине: Материалы XIII международной научной конференции. – Благовещенск: Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания. – 2019. – С. 27-30.

43. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620681 Российская Федерация. Воздействие климатических факторов на

параметры адаптивного иммунитета у населения города Владивостока с бронхолегочной патологией, опубл. 12.04.2021 / Л.В. Веремчук, Т.И. Виткина, К.А. Сидлецкая и др..

44. Метеореакции у лиц с заболеваниями органов дыхания, проживающих в условиях морского климата Владивостока / Л.В. Веремчук, Т.И. Виткина, Е.Е. Минеева и др. // Гигиена и санитария. – 2022. – Т. 101, № 12. – С. 1438-1442. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1438-1442>.

45. ГН 2.1.6.2604-10. – 2010; Приказ Министерства природных ресурсов РФ от 31.12.2010 № 579.

46. Гранулометрический анализ атмосферных взвесей экологически благополучного и неблагополучного районов г. Владивостока / В.И. Янькова, Т.А. Гвозденко, К.С. Голохваст и др. // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2014. – № 2(56). – С. 62-66.

47. Air pollution and children's health-a review of adverse effects associated with prenatal exposure from fine to ultrafine particulate matter / N.M. Johnson, A.R. Hoffmann, J.C. Behlen et al // Environ Health Prev Med. – 2021. – Vol. 26, N 72. <https://doi.org/10.1186/s12199-021-00995-5>.

48. An integrated functional and transcriptomic analysis reveals that repeated exposure to diesel exhaust induces sustained mitochondrial and cardiac dysfunctions / Ahmed Karoui, Clement Crochemore, Paul Mulder et al // Environmental Pollution. – 2019. – Vol. 246. – P. 518-526. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.12.049>.

49. Role of PM2.5 in the development and progression of COPD and its mechanisms / J. Zhao, M. Li, Z. Wang, J. Chen, Y. Xu, X. Wei et al // Respir Res. – 2019 – N 20(1). – P. 120.

50. Lim, C.C. Air pollution, oxidative stress, and diabetes: a life course epidemiologic perspective / C.C. Lim, G.D Thurston // Curr. Diab. Rep. – 2019. – Vol. 19, N 58. <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1181-y>.

51. Healthy air, healthy brains: advancing air pollution policy to protect children's health / D.C. Payne-Sturges, M.A. Marty, F. Perera, M.D. Miller, M. Swanson, K. Ellickson, D.A. Cory-Slechta, B. Ritz, J. Balmes, L. Anderko et al // Am. J. Public. Health. – 2019. – N 109(4). – P. 550–554. <https://doi.org/10.2105/ajph.2018.304902>.

52. Global burden of COPD attributable to ambient PM2.5 in 204 countries and territories, 1990 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 / X Yang, T Zhang, Y Zhang, H Chen, S Sang // Sci. Total Environ. – 2021. – Vol. 796. – 148819.

53. Risk estimates of mortality attributed to low concentrations of ambient fine particulate matter in the Canadian community health survey cohort / L. Pinault,

M. Tjepkema, D.L. Crouse et al // Environ Health. – 2016. – Vol. 15, N 18. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0111-6>.

54. Leikauf, G.D. Mechanisms of ultrafine particle-induced respiratory health effects / G.D. Leikauf, S.H. Kim, A.S Jang // Exp Mol Med. – 2020. – 52(3). – P. 329-37. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0394-0>.

55. Short-term effects of ambient PM(1) and PM(2.5) air pollution on hospital admission for respiratory diseases: case-crossover evidence from Shenzhen, China / Y. Zhang, Z. Ding, Q. Xiang, W. Wang et al // Int J Hyg Environ Health. – 2020. – Vol. 224. – 113418. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.11.001>.

56. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 109: Outdoor Air Pollution. – Lyon: IARC. – 2016. – P. 448.

57. Losacco, C. Particulate matter air pollution and respiratory impact on humans and animals / C. Losacco, A. Perillo // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2018. – Vol. 25. – P. 33901-33910. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3344-9>.

58. Ling, S.H. Particulate matter air pollution exposure: Role in the development and exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease / S.H. Ling, S.F. van Eeden // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. – 2009. – N 4. – P. 233–243. <https://doi.org/10.2147/copd.s5098>.

59. Cooper, D.M. Particulate matter and the airway epithelium: The special case of the underground? / D.M. Cooper, M. Loxham // Eur. Respir. Rev. – 2019. – 28(153). – 190066. <https://doi.org/10.1183/16000617.0066-2019>.

60. Vargas Buonfiglio, L.G. Mechanism of ambient particulate matter and respiratory infections / L.G. Vargas Buonfiglio, A.P. Comellas // J. Thorac. Dis. – 2020. – 12(3). – P. 134–136. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.12.33>.

61. Aesculetin Inhibits Airway Thickening and Mucus Overproduction Induced by Urban Particulate Matter through Blocking Inflammation and Oxidative Stress Involving TLR4 and EGFR / S.-Y. Oh, Y.-H. Kim, M.-K. Kang, E.-J. Lee et al // Antioxidants. – 2021. – 10 (3). – P. 494. <https://doi.org/10.3390/antiox10030494>.

62. Exposure to air pollution and cognitive functioning across the life course-a systematic literature review / A. Clifford, L. Lang, R. Chen, K.J. Anstey, A. Seaton // Environ. Res. – 2016. – Vol. 147. – P. 383-398. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.01.018>.

63. PM2.5 exposure stimulates COX-2-mediated excitatory synaptic transmission via ROS-NF-κB pathway / Ben Li, Lin Guo, Tingting Ku, Minjun Chen, Guangke Li, Nan Sang // Chemosphere. – 2018. – Volume 190. – P. 124-134. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.098>.

64. Nicholson, Stacia Role of brain extracellular vesicles in air pollution-related cognitive impairment and neurodegeneration / Stacia Nicholson, Andrea

Baccarelli, Diddier Prada // Environmental Research. – 2022. – Volume 204, Part C. – 112316. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112316>.

65. Particulate matter and hypertensive disorders in pregnancy: systematic review and meta-analysis / L. Cao, L. Wang, L. Wu, T. Wang et al // Public Health. – 2021. – Vol. 200. – P. 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2021.08.013>.

66. Mortality risk attributable to wildfire-related PM2.5 pollution: a global time series study in 749 locations / G. Chen, Y. Guo, X. Yue, S. Tong, A. Gasparrini, M.L. Bell, et al // Lancet Planet Health. – 2021. – Vol. 5, Iss 9. – P. e579-e587. [https://doi.org/10.1016/s2542-5196\(21\)00200-x](https://doi.org/10.1016/s2542-5196(21)00200-x).

67. Association of Long-Term Exposure to Fine Particulate Matter and Cardio-Metabolic Diseases in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review / S. Jaganathan, L.M. Jaacks, M. Magsumbol, G.K. Walia, N.L. Sieber et al // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2019. – 16(14). – P. 2541. <https://doi.org/10.3390/ijerph16142541>.

68. Spatiotemporal and probability variations of surface PM2.5 over China between 2013 and 2019 and the associated changes in health risks: An integrative observation and model analysis / Z. Jiang, M.D. Jolleys, T.M. Fu, P.I. Palmer, Y. Ma et al // Sci Total Environ. – 2020. – Vol. 723. – 137896. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137896>.

69. Associations among plasma metabolite levels and short-term exposure to PM2.5 and ozone in a cardiac catheterization cohort / S. Breitner, A. Schneider, R.B. Devlin, C.K. Ward-Caviness, D. Diaz-Sanchez et al // Environ Int. – 2016. – Vol. 97. – P. 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.10.012>.

70. Association of long-term PM2.5 exposure with traditional and novel lipid measures related to cardiovascular disease risk / L.A. McGuinn, A. Schneider, R.W. McGarrah, C. Ward-Caviness, L.M. Neas et al // Environ Int. – 2019. – Vol. 122. – P. 193-200. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.001>.

71. The influence of PM2.5 exposure on non-alcoholic fatty liver disease / J. Chen, L. Wu, G. Yang, C. Zhang et al // Life Sciences. – 2021. – Vol. 270. – 119135. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119135>.

72. MicroRNA-26a-CD36 signaling pathway: Pivotal role in lipid accumulation in hepatocytes induced by PM2.5 liposoluble extracts / D. Ding, G. Ye, Y. Lin, Y. Lu et al // Environmental Pollution. – 2019. – Vol. 248. – P. 269-278. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.01.112>.

73. Illuminating a time-response mechanism in mice liver after PM2.5 exposure using metabolomics analysis / R. Wang, X. Han, H. Pang, Z. Hu, C. Shi // Science of the Total Environment. – 2021. – Vol. 767. – P. 144485. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144485>.

74. Association of PM2. 5 with Insulin Resistance Signaling Pathways on a Microfluidic Liver–Kidney Microphysiological System (LK-MPS) Device / X. Duan, X. Zhang, J. Chen, Xiao, M. Zhao et al // Analytical Chemistry. – 2021. – 93(28). – P. 9835-9844. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c01384>.
75. Air pollution and diabetes-related biomarkers in non-diabetic adults: A pathway to impaired glucose metabolism? / S. Lucht, F. Hennig, S. Moebus, D. Führer-Sakel, C. Herder, K.-H. Jöckel, B. Hoffmann, Heinz Nixdorf Recall Study Investigative Group // Environment international. – 2019. – Vol. 124. – P. 370-392. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.005>.
76. NLRP3 inflammasome is involved in ambient PM2.5-related metabolic disorders in diabetic model mice but not in wild-type mice / L. Song, L. Lei, S. Jiang, K. Pan et al // Inhalation toxicology. – 2021. – Vol. 33, Iss. 6-8. – P. 260-267. <https://doi.org/10.1080/08958378.2021.1980637>.
77. PM2.5 and diabetes and hypertension incidence in the Black Women's Health Study / P. F. Coogan, L. F. White, J. Yu, R. T. Burnett et al // Epidemiology. – 2016. – Vol. 27(2). – P. 202-10. <https://doi.org/10.1097/ede.0000000000000418>.
78. Type 2 diabetes attributable to PM2.5: A global burden study from 1990 to 2019 / C. Liu, B. Wang, S. Liu, S. Li, K. Zhang, B. Luo, A. Yang // Environment International. – 2021. – Vol. 156. – P. 106725. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106725>.
79. Genotoxic and epigenotoxic effects in mice exposed to concentrated ambient fine particulate matter (PM2.5) from São Paulo city, Brazil / A.A.F. de Oliveira, T.F. de Oliveira, M.F. Dias et al // Particle and Fibre Toxicology. – 2018. – 15, N 40. <https://doi.org/10.1186/s12989-018-0276-y>.
80. Epigenetic alterations induced by genotoxic occupational and environmental human chemical carcinogens: a systematic literature review / G. Chappell I.P. Pogribny, K.Z. Guyton, I. Rusyn // Mutat Res/Rev Mutat Res. – 2016. – Vol. 768. – P. 27-45. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.03.004>.
81. An in vitro cytotoxicities comparison of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons in human pulmonary alveolar epithelial cells HPAEpiC / S. Ke, Q. Liu, Yu. Yao, X. Zhang, G. Sui // Toxicol Lett. – 2018. – Vol. 290. – P. 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.03.005>.
82. Associations of long-term exposure to ultrafine particles and nitrogen dioxide with increased incidence of congestive heart failure and acute myocardial infarction / L. Bai, S. Weichenthal, J.C. Kwong et al // Am. J. Epidemiol. – 2019. – Vol. 188, Iss. 1. – P. 151–159. <https://doi.org/10.1093/aje/kwy194>.
83. Long-term exposure to low ambient air pollution concentrations and mortality among 28 million people: results from seven large European cohorts within the

ELAPSE project / M. Stafoggia, B. Oftedal, J. Chen, S. Rodopoulou, M. Renzi, R.W. Atkinson et al // *The Lancet Planetary Health.* – 2022. – Vol. 6, Iss. 1. – P. e9-e18. [https://doi.org/10.1016/s2542-5196\(21\)00277-1](https://doi.org/10.1016/s2542-5196(21)00277-1).

84. Systemic inflammatory markers associated with cardiovascular disease and acute and chronic exposure to fine particulate matter air pollution (PM2.5) among US NHANES adults with metabolic syndrome / A. Dabass, E.O. Talbott, J.R. Rager, G.M. Marsh et al // *Environmental research.* – 2018. – Vol. 161. – P. 485-491. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.11.042>.

85. Estimation of PM2.5-associated disease burden in China in 2020 and 2030 using population and air quality scenarios: a modelling study / Q. Wang, J. Wang, J. Zhou, J. Ban, T. Li // *The Lancet Planetary Health.* – 2019. – Vol. 3, Iss.2. – P. e71-e80. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(18\)30277-8](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(18)30277-8).

86. The health effects of ambient PM2.5 and potential mechanisms / S. Feng, D. Gao, F. Liao, F. Zhou, X. Wang // *Ecotoxicology and Environmental safety.* – 2016. – Vol. 128. – P. 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.01.030>.

87. A county-level estimate of PM2.5 related chronic mortality risk in China based on multi-model exposure data / Q. Wang, J. Wang, M.Z. He, P.L. Kinney, T. Li, // *Environment international.* – 2018. – Vol. 110. – P. 105-112. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.015>.

88. Spatio-temporal evolution and the influencing factors of PM 2.5 in China between 2000 and 2015 / L. Zhou, C. Zhou, F. Yang, L. Che, B. Wang & D. Sun // *Journal of Geographical Sciences.* – 2019. – Vol. 29. – P. 253-270. <https://doi.org/10.1007/s11442-019-1595-0>.

89. Association between metabolic and hormonal derangements and professional exposure to urban pollution in a high intensity traffic area / A. Molfino, M.I. Amabile, M. Muscaritoli, A. Germano et al // *Front. Endocrinol.* – 2020. – Vol. 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00509>.

90. NADPH oxidase 2-mediated NLRP1 inflammasome activation involves in neuronal senescence in hippocampal neurons in vitro / T. Xu, L. Sun, X. Shen, Y. Chen et al // *Int. Immunopharmacol.* – 2019. – Vol. 69. – P. 60-70. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.025>.

91. Air pollution-derived particulate matter dysregulates hepatic Krebs cycle, glucose and lipid metabolism in mice / H. Reyes-Caballero, X. Rao, Q. Sun, M.O. Warmoes et al // *Scientific reports.* – 2019. – N 9. – P. 17423. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53716-y>.

92. Comprehensive metabolic responses of HepG2 cells to fine particulate matter exposure: Insights from an untargeted metabolomics / G. Ye, D. Ding, H. Gao,

Y. Chi et al // *Science of the total environment*. – 2019. – Vol. 691. – P. 874-884. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.192>.

93. Effects of the ambient fine particulate matter (PM2.5) exposure on urinary metabolic profiles in rats using UPLC-Q-TOF-MS / L. Zhang, T. Xu, Z. Pi et al // *Chinese Chemical Letters*. – 2019. – Vol. 30, Iss. 1. – P. 90-94. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2017.11.019>.

94. Omics approach reveals metabolic disorders associated with the cytotoxicity of airborne particulate matter in human lung carcinomacells / C. Zhao, L. Zhu, R. Li, H. Wang, Z. Cai // *Environmental Pollution*. – 2019. – Vol. 246. – P. 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.108>.

95. Effects of air pollution particles (ultrafine and fine particulate matter) on mitochondrial function and oxidative stress—Implications for cardiovascular and neurodegenerative diseases / A. Daiber, M. Kuntic, O. Hahad, L.G. Delogu et al // *Archives of Biochemistry and Biophysics* – 2020. – Vol. 696. – P. 108662. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108662>.

96. Wang, Y. Urban particulate matter disturbs the equilibrium of mitochondrial dynamics and biogenesis in human vascular endothelial cells / Y. Wang, L. Kong, T. Wu, M. Tang // *Environmental Pollution*. – 2020. – Vol. 264. – P 114639. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114639>.

97. Fine particles cause the abnormality of cardiac ATP levels via PPAR α -mediated utilization of fatty acid and glucose using in vivo and in vitro models / X. Jin, B. Xue, R.Z. Ahmed, G. Ding, Z. Li, // *Environmental Pollution*. – 2019. – Vol. 249. – P. 286-294. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.083>.

98. National Particle Component Toxicity (NPACT) initiative report on cardiovascular effects / S. Vedal, M.J. Campen, J.D. McDonald, T.V. Larson et al // *Res. Rep. Health Eff. Inst.* – 2013. – Vol. 178. – P. 5-8.

99. Impact of Atmospheric Microparticles on the Development of Oxidative Stress in Healthy City/Industrial Seaport Residents / K. Golokhvast T. Vitkina T. Gvozdenko et al // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2015. – N 91. – P. 1-10. <https://doi.org/10.1155/2015/412173>.

100. Urban particulate matter triggers lung inflammation via the ROS-MAPK-NF- κ B signaling pathway / J. Wang, J. Huang, L. Wang et al // *J. Thorac. Dis.* – 2017. – Vol. 9, N. 11. – P. 4398-412. <https://doi.org/10.21037/jtd.2017.09.135>.

101. Lu, J. The thioredoxin antioxidant system / J. Lu, A. Holmgren // *Free Radical Biology Medicine* – 2014. – Vol. 66 – P. 75-87. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036>.

102. Jastrzab, A. Thioredoxin-dependent system. Application of inhibitors / A. Jastrzab & E. Skrzydlewskia // *J. of Enzyme Inhib. and Med. Chem.* – 2021. – Vol. 36, Iss. 1. – P. 362-371. <https://doi.org/10.1080/14756366.2020.1867121>.
103. Understanding Cellular Redox Homeostasis: A Challenge for Precision Medicine / V. Tretter, B. Hochreiter, M.L. Zach, K. Krenn, K.U. Klein // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – 23(1). – 106. <https://doi.org/10.3390/ijms23010106>.
104. Potential health impact of ultrafine particles under clean and polluted urban atmospheric conditions: a model-based study / L.D. Martins, J.A. Martins, E.D. Freitas, C.R. Mazzoli, F.L.T. Gonçalves et al // *Air Quality, Atmosphere & Health.* – 2010. – Vol. 3. – P. 29-39. <https://doi.org/10.1007/s11869-009-0048-9>.
105. Air pollution, oxidative damage to DNA, and carcinogenesis / P. Møller, J.K. Folkmann, L. Forchhammer, E.V. Bräuner et al // *Cancer Lett.* – 2008. – Vol. 266, Iss. 1. – P. 84-97. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.02.030>.
106. . Particle size affects the cellular response in macrophages / H. Yue, W. Wei, Z. Yue, P. Lv et al // *Eur. J. Pharm Sci.* – 2010. – Vol. 41, Iss. 5. – P. 650-657. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.09.006>.
107. Gutteridge, J.M.C. Mini-review: Oxidative stress, redox stress or redox success? / J.M.C. Gutteridge, B. Halliwell // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2018. – Vol. 502, Iss. 2. – P 183-186. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.045>.
108. Stone, J.R. Hydrogen peroxide: A signaling messenger / J.R. Stone, S. Yang // *Antioxidants & Redox Signaling* – 2006. – Vol. 8, N 3-4. – P. 243-270. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.243>.
109. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis / T.B. Kryston, A.B. Georgiev, P. Pissis, A.G. Georgakilas // *Mutat. Res.* – 2011. – Vol. 711, Iss. 1-2. – P. 193-201. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.12.016>.
110. Oxidative stress and cell signaling / G. Poli, G. Leonarduzzi, F. Biasi, E. Chiarpotto // *Curr. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 11. – P. 1163-1182. <https://doi.org/10.2174/0929867043365323>.
111. Redox homeostasis and cellular antioxidant systems: Crucial players in cancer growth and therapy / B. Marengo, M. Nitti, A.L. Furfaro, R. Colla et al // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2016. – Vol. 2016, Iss. 1. – P. 1-16. <https://doi.org/10.1155/2016/6235641>.
112. Hormesis and Oxidative Distress: Pathophysiology of Reactive Oxygen Species and the Open Question of Antioxidant Modulation and Supplementation / M. Nitti, B. Marengo, A.L. Furfaro, M.A. Pronzato et al // *Antioxidants.* – 2022. – Vol. 11(8). – P. 1613. doi: 10.3390/antiox11081613.

113. Redox signaling by reactive electrophiles and oxidants / S. Parvez, M.J.C. Long, J.R. Poganik, Y. Aye // Chem. Rev. – 2018. – Vol. 118(18). – P. 8798-8888. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00698>.
114. Winterbourn, C.C. Biological production, detection, and fate of hydrogen peroxide / C.C. Winterbourn // Antioxid. Redox Signal. – 2018. – Vol. 29, N 6. – P. 541-551. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7425>.
115. Biochemical basis and metabolic interplay of redox regulation / L. Zhang, X. Wang, R. Cueto, C. Effi, Y. Zhang et al // Redox Biology – 2019. – Vol. 26. – P. 101284. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101284>.
116. Sies, H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress / H.Sies // Redox Biology – 2017. – Vol. 11. – P. 613-619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>.
117. Sies, H. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents / H. Sies, D.P. Jones // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2020. – Vol. 21. – P. 363-383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>.
118. Sies, H. Oxidative Stress, 1st ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1985; Available online: <https://www.elsevier.com/books/oxidative-stress/sies/978-0-12-642760-8> (accessed on 28 June 2022).
119. Cheeseman, K.H. An introduction to free radical biochemistry / K.H. Cheeseman, T.F. Slater // Br. Med. Bull. – 1993. – Vol. 49(3). – P. 481-493. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625>.
120. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology / H. Sies, V.V. Belousov, N.S. Chandel et al // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. – 2022. – Vol. 23. – P. 499-515. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00456-z>.
121. Kohen, R. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification / R. Kohen, A. Nyska // Toxicologic Pathology. – 2002. – Vol. 30, Iss. 6. – P. 620-650. <https://doi.org/10.1080/01926230290166724>.
122. Salnikow, K. Genetic and Epigenetic Mechanisms in Metal Carcinogenesis and Cocarcinogenesis: Nickel, Arsenic, and Chromium / K. Salnikow, A. Zhitkovich // Chemical Research in Toxicology. – 2008. – Vol. 21(1). – P. 28-44. <https://doi.org/10.1021/tx700198a>.
123. Forman, H.J. Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy / H.J. Forman, H. Zhang // Nat. Rev. Drug. Discov. – 2021. – Vol. 20(9). – P. 689-709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>.
124. Oxidative stress-mediated atherosclerosis: Mechanisms and therapies / X. Yang, Y. Li, Y. Li, X. Ren, X. Zhang et al // Front. Physiol. – 2017. – Vol. 8. – P. 600. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00600>.

125. Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives / Y.A. Hajam, R. Rani, S.Y. Ganie, T.A. Sheikh, D. Javaid et al // Cells – 2022. – Vol. 11(3). – P. 552. <https://doi.org/10.3390/cells11030552>.
126. Srivastava, S. The mitochondrial basis of aging and age-related disorders / S. Srivastava // Genes – 2017. – Vol. 8(12). – P. 398. <https://doi.org/10.3390/genes8120398>.
127. Taylor, J.P. The role of NADPH oxidases in infectious and inflammatory diseases / J.P. Taylor, H.M. Tse // Redox Biol. – 2021. – Vol. 48. – P. 102159. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102159>.
128. NADPH Oxidases are essential for macrophage differentiation / Q. Xu, S. Choksi, J. Qu, J. Jang et al // J. Biol. Chem. – 2016. – Vol. 291, Iss. 38. – P. 20030-20041. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.731216>.
129. Oxysterol mixture and, in particular, 27-hydroxycholesterol drive M2 polarization of human macrophages / B. Marengo, F. Bellora, R. Ricciarelli, C. De Ciucis et al // Biofactors – 2016. – Vol. 42, Iss. 1. – P. 80-92. <https://doi.org/10.1002/biof.1243>.
130. Moderate increase of indoxyl sulfate promotes monocyte transition into profibrotic macrophages / C. Barisione, S. Garibaldi, A.L. Furfaro, M. Nitti, D. Palmieri et al // PLoS ONE. – 2016. – 11(2). – P. e0149276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149276>.
131. Trevelin, S.C. Beyond bacterial killing: NADPH oxidase 2 is an immuno-modulatory / S.C. Trevelin, A.M. Shah, G. Lombardi, // Immunol. Lett. – 2020. – Vol. 221. – P. 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2020.02.009>.
132. A novel danshensu derivative ameliorates experimental colitis by modulating NADPH oxidase 4-dependent NLRP3 inflammasome activation / L.-L. Pan, Z. Ren, Y. Liu, Y. Zhao et al // J. Cell. Mol. Med. – 2020. – 24(22). – P. 12955–12969. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15890>.
133. Retracted article: NOX4-dependent fatty acid oxidation promotes NLRP3 inflammasome activation in macrophages / J.-S. Moon, K. Nakahira, K.-P. Chung, G.M. DeNicola et al // Nat. Med. – 2016. – Vol. 22(9). – P. 1002-1012. <https://doi.org/10.1038/nm.4153>.
134. Cyclin J-CDK complexes limit innate immune responses by reducing pro-inflammatory changes in macrophage metabolism / Y.K. Chong, S. Tartey, Y. Yoshi-kawa, K. Imami, S. Li et al // Sci. Signal. – 2022. – Vol. 15, N 729. – P. eabm5011. <https://doi.org/10.1126/scisignal.abm5011>.
135. Dahiya, P. mtROS Induced via TLR-2-SOCE Signaling Plays Proapoptotic and Bactericidal Role in *Mycobacterium fortuitum*-Infected Head Kidney

- Macrophages of *Clarias gariepinus* / P. Dahiya, M.A. Hussain, S. Mazumder // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 748758. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.748758>.
136. Mitochondria-targeted supramolecular coordination container encapsulated with exogenous itaconate for synergistic therapy of joint inflammation / X. Chen, C. Li, X. Cao, X. Jia, X. Chen et al / *Theranostics* – 2022. – Vol. 12(7). – P. 3251-3272. <https://doi.org/10.7150/thno.70623>.
137. Physicochemistry and cardiovascular toxicity of metal fume PM2.5: a study of human coronary artery endothelial cells and welding workers / C.-Yu. Lai, C.-H. Lai, H.-C. Chuang, C.-H. Pan et al // *Scientific reports* – 2016. – Vol. 6. – P. 33515. <https://doi.org/10.1038/srep33515>.
138. Fine particulate matter inhibits phagocytosis of macrophages by disturbing autophagy / Y. Li, Y.-L. Yong, M. Yang, W. Wang, X. Qu et al // *The FASEB J.* – 2020. – Vol. 34, Iss. 12. – P. 16716-16735. <https://doi.org/10.1096/fj.202000657r>.
139. Prenatal particulate air pollution exposure and cord blood homocysteine in newborns: results from the ENVIRONAGE birth cohort / J.G.F. Hogervorst, N. Madhloum, N.D. Saenen, B.G. Janssen, J. Penders et al // *Environmental research* – 2019. – Vol. 168. – P. 507-513. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.08.032>.
140. PM2.5 promotes abdominal aortic aneurysm formation in angiotensin II-infused apoe/- mice / X. Jun, G. Jin, C. Fu, Z. Jinxuan, L. Xueling et al // *Biomedicine & Pharmacotherapy* – 2018. – Vol. 104. – P. 550-557. <https://doi.org/10.1016/j.biophys.2018.04.107>.
141. PM2.5 exposure induces systemic inflammation and oxidative stress in an intracranial atherosclerosis rat model / L. Guan, X. Geng, C. Stone, E.E.P. Cosky, Y. Ji et al // *Environmental toxicology* – 2019. – Vol. 34, Iss. 4. – P. 530-538. <https://doi.org/10.1002/tox.22707>.
142. Effects of fine particulate matter (PM2.5) on systemic oxidative stress and cardiac function in ApoE–/– mice / Y. Pei, R. Jiang, Y. Zou, Y. Wang, S. Zhang et al // *International journal of environmental research and public health* – 2016. – Vol. 13(5). – P. 484. <https://doi.org/10.3390/ijerph13050484>.
143. Toxicological effects of particulate matter (PM2.5) on rats: Bioaccumulation, antioxidant alterations, lipid damage, and ABC transporter activity / J. de Paula Ribeiro, A.C. Kalb, P.P. Campos, A.R.H. De La Cruz, P.E. Martinez et al // *Chemosphere* – 2016. – Vol. 163. – P. 569-577. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.094>.
144. Exposure to ultrafine particulate matter induces NF-κβ mediated epigenetic modifications / A. Bhargava, A. Shukla, N. Bunkar, R. Shandilya et al // *Environmental Pollution* – 2019. – Vol. 252, Part A. – P. 39-50. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.065>.

145. In vivo and in vitro evidence for the involvement of Nrf2-antioxidant response element signaling pathway in the inflammation and oxidative stress induced by particulate matter (PM10): the effective role of gallic acid / M. Radan, M. Dianat, M. Badavi et al // Free Radic. Res. – 2019. – Vol. 53, Iss. 2. – P. 210-225. <https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1563689>.
146. Particulate matter in COPD pathogenesis: an overview / M. Kaur, J. Chandel, J. Malik & A.S. Naura // Inflamm. Res. – 2022. – Vol. 71. – P. 797-815. <https://doi.org/10.1007/s00011-022-01594-y>.
147. Sources of particulate-matter air pollution and its oxidative potential in Europe / K.R. Daellenbach, G. Uzu, J. Jiang, L.-E. Cassagnes et al // Nature – 2020. – Vol. 587. – P. 414-419. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2902-8>.
148. Gehling, W. Environmentally persistent free radicals and their lifetimes in PM2.5 / W. Gehling, B. Dellinger // Environmental science & technology – 2013. – Vol. 47, Iss. 15. – P. 8172-8178. <https://doi.org/10.1021/es401767m>.
149. Gehling, W. Hydroxyl radical generation from environmentally persistent free radicals (EPFRs) in PM2.5 / W. Gehling, L. Khachatryan, B. Dellinger, // Environmental science & technology – 2014. – Vol. 48, Iss. 8. – P. 4266-4272. <https://doi.org/10.1021/es401770y>.
150. A multidisciplinary approach to characterise exposure risk and toxicological effects of PM10 and PM2.5 samples in urban environments / C. Reche, T. Moreno, F. Amato, M. Viana, B.L. van Drooge et al // Ecotoxicology and environmental safety – 2012. – Vol. 78. – P. 327-335. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.11.043>.
151. Chemical differences between PM1 and PM2.5 in highly polluted environment and implications in air pollution studies / Y. Sun, Y. He, Y. Kuang, W. Xu, S. Song et al // Geophysical Research Letters – 2020. – Vol. 47, Iss. 5. – P. 1-10. <https://doi.org/10.1029/2019GL086288>.
152. Nrf2 protects against diverse PM2.5 components-induced mitochondrial oxidative damage in lung cells / M. Pardo, F. Xu, M. Shemesh, X. Qiu et al // Sci. Total. Environ. – 2019. – Vol. 669. – P. 303-313. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.436>.
153. Lelieveld, J. Chemists can help to solve the air-pollution health crisis / J. Lelieveld, U. Pöschl // Nature – 2017. – Vol. 551(7680). – P. 291-293. <https://doi.org/10.1038/d41586-017-05906-9>.
154. Nrf2 deficiency aggravates PM2.5-induced cardiomyopathy by enhancing oxidative stress, fibrosis and inflammation via RIPK3-regulated mitochondrial disorder / C. Ge, L. Hu, D. Lou, Q. Li et al // Aging (Albany NY) – 2020. – Vol. 12, Iss. 6. – P. 4836-4865. <https://doi.org/10.18632/aging.102906>.

155. The cellular toxicity of PM2.5 emitted from coal combustion in human umbilical vein endothelial cells / F.F. Wang, C.M. Geng, W.D. Hao, Y.D. Zhao et al // Biomedical and Environmental Sciences – 2016. – Vol. 29, Iss. 2. – P. 107-116. <https://doi.org/10.3967/bes2016.012>.
156. Effect of TiO₂ nanoparticles on inflammasome-mediated airway inflammation and responsiveness / B.-G. Kim, P.-H. Lee, S.-H. Lee, M.-K. Park, A.-S. Jang, // Allergy, Asthma Immunol. Res. – 2017. – Vol. 9(3). – P. 257-264. <https://doi.org/10.4168/aaair.2017.9.3.257>.
157. Effects of nanoparticles on neuroinflammation in a mouse model of asthma / B.-G. Kim, M.-K. Park, P.-H. Lee, S.-H. Lee et al // Respir. Physiol. & Neurobiol. – 2020. – Vol. 271. – P. 103292. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2019.103292>.
158. Rat lung response to ozone and fine particulate matter (PM2.5) exposures / G. Wang, J. Zhao, R. Jiang, W. Song // Environmental toxicology – 2015. – Vol. 30, Iss. 3. – P. 343-356. <https://doi.org/10.1002/tox.21912>.
159. The influence of quercetin on maternal immunity, oxidative stress, and inflammation in mice with exposure of fine particulate matter during gestation / W. Liu, M. Zhang, J. Feng, A. Fan, Y. Zhou, Y. Xu // Int. J. Environ. Res. Public Health – 2017. – Vol. 14(6). – P. 592. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060592>.
160. Perturbation in cellular redox homeostasis: decisive regulator of T cell mediated immune responses / L. Gambhir, V. Sharma, P. Kandwal, S. Saxena // Int. Immunopharmacol. – 2019. – Vol. 67. – P. 449-457. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.12.049>.
161. PM2.5 triggered apoptosis in lung epithelial cells through the mitochondrial apoptotic way mediated by a ROS-DRP1-mitochondrial fission axis / X. Liu, X. Zhao, X. Li, S. Lv, R. Ma, Y. Qi et al // J. Hazard. Mater. – 2020. – Vol. 397. – P. 122608. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122608>.
162. Environmental exposures and asthma development: autophagy, mitophagy, and cellular senescence / K. Sachdeva, D.C. Do, Y. Zhang et al // Front. Immunol. – 2019. – Vol. 10. – P. 2787. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02787>.
163. PM2.5-induced oxidative stress increases adhesion molecules expression in human endothelial cells through the ERK/AKT/NF-κB-dependent pathway / W. Rui, L. Guan, F. Zhang et al // Journal of Applied Toxicology – 2016. – Vol. 36, Iss. 1. – P. 48-59. <https://doi.org/10.1002/jat.3143>.
164. Autophagy induced FHL2 upregulation promotes IL-6 production by activating the NF-κB pathway in mouse aortic endothelial cells after exposure to PM2.5 / W.-R. Xia, W. Fu, Q. Wang, X. Zhu et al // International journal of molecular sciences – 2017. – Vol. 18(7). – P. 1484. <https://doi.org/10.3390/ijms18071484>.

165. Comparison of wood smoke PM2.5 obtained from the combustion of FIR and beech pellets on inflammation and DNA damage in A549 and THP-1 human cell lines / E. Corsini, S. Budello, L. Marabini, V. Galbiati et al // Archives of toxicology – 2013. – Vol. 87. – P. 2187-2199. <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1071-z>.
166. PM2.5 exposure induces more serious apoptosis of cardiomyocytes mediated by Caspase3 through JNK/P53 pathway in hyperlipidemic rats / Q. Wang, X. Gan, F. Li, Y. Chen et al // International journal of biological sciences – 2019. – Vol. 15(1). – P. 24-33. <https://doi.org/10.7150/ijbs.28633>.
167. Ambient PM2.5 caused depressive-like responses through Nrf2/NLRP3 signaling pathway modulating inflammation / C. Chu, H. Zhang, S. Cui, B. Han, L. Zhou et al // Journal of hazardous materials – 2019. – Vol. 369. – P. 180-190. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.026>.
168. Sies, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants / H. Sies // Experimental physiology – 1997. – Vol. 82, Iss. 2. – P. 291-295. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>.
169. Lorenzen, I. Thiol switches in membrane proteins – Extracellular redox regulation in cell biology / I. Lorenzen, J.A. Eble, E.-M. Hanschmann // Biological Chemistry – 2021. – Vol. 402, Iss. 3. – P. 253-269. <https://doi.org/10.1515/hsz-2020-0266>.
170. Holmgren, A. Thioredoxin and thioredoxin reductase: Current research with special reference to human disease / A. Holmgren, J. Lu // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2010. – Vol. 396, Iss. 1. – P. 120-124. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.03.083>.
171. Thioredoxins, Glutaredoxins, and Peroxiredoxins – Molecular Mechanisms and Health Significance: from Cofactors to Antioxidants to Redox Signaling / E.-M. Hanschmann, J.R. Godoy, C. Berndt et al // Antioxid. & Redox Signal. – 2013. – Vol. 19, N 13. – P. 1539-1605. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4599>.
172. Laher I. Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants / In book: Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants (pp.2083-2126) Publisher: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, P. 2014. – 4141. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30018-9_208.
173. The Mammalian Testis-Specific Thioredoxin System / A. Miranda-Vizcute, C.M. Sadek, A. Jimenez et al // Antioxidants & Redox Signaling. – 2004. Vol. 6. N 1. – P. 25-40. <https://doi.org/10.1089/152308604771978327>.
174. Thiols: Role in Oxidative Stress-Related Disorders / K. Abdulsamed, G. Volkan, F.B. Ömer et al // Accenting lipid peroxidation – 2021. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96682>.

175. Lee, S. Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance / S. Lee, S.M. Kim, R.T. Lee // *Antioxid. & Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, N 10. – P. 1165-1207. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4322>.
176. Çenesiz, S. The Role of Oxidant and Antioxidant Parameters in the Infectious Diseases: A Systematic Literature Review / S. Çenesiz // *Kafkas universitesi veteriner fakultesi dergisi* – 2020. – Vol. 26(6). – P. 849-858. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2020.24618>.
177. Rhee, S.G. Peroxiredoxins: A historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling / S.G. Rhee, H.Z. Chae, K. Kim // *Free Radical Biology and Medicine* – 2005. – Vol. 38, Iss. 12. – P. 1543-1552. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.026>.
178. Matsuo, Y. Extracellular thioredoxin: A therapeutic tool to combat inflammation / Y. Matsuo, J. Yodoi // *Cytokine & Growth Factor Reviews* – 2013. – Vol. 24, Iss. 4. – P. 345-353. <https://doi.org/10.1016/j.cytofr.2013.01.001>.
179. Redox proteomics of the inflammatory secretome identifies a common set of redoxins and other glutathionylated proteins released in inflammation, influenza virus infection and oxidative stress / P. Checconi, S. Salzano, L. Bowler, L. Mullen, M. Mengozzi et al // *PloS One* – 2015. – Vol. 10, Iss. 5. – e0127086 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127086>.
180. The Thioredoxin System of Mammalian Cells and Its Modulators / A.A. Hasan, E. Kalinina, V. Tatarskiy, A. Shtil // *Biomedicines* – 2022. – Vol. 10, Iss. 7. – P. 1757. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10071757>.
181. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation / R. Zhou, A. Tardivel, B. Thorens, I. Choi, J. Tschopp // *Nature Immunology* – 2009. – Vol. 11. – P. 136-140. <https://doi.org/10.1038/ni.1831>.
182. Lee, S. Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance / S. Lee, S.M. Kim, R.T. Lee // *Antioxidants & Redox Signaling* – 2013. – Vol. 18, N 10. – P. 1165-1207. doi:10.1089/ars.2011.4322.
183. Imlay, J.A. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide / J.A. Imlay // *Annual Review of Biochemistry* – 2008. – Vol. 77. – P. 755-776. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.061606.161055>.
184. Alfadda, A.A. Reactive Oxygen Species in Health and Disease / A.A. Alfadda, R.M. Sallam // *Biomed Research International* – 2012. – Vol. 2012, Iss. 1. – P. 1-13. <https://doi.org/10.1155/2012/936486>.
185. Monteiro, H.P. Thioredoxin promotes survival signaling events under nitrosative/oxidative stress associated with cancer development / H.P. Monteiro,

- F.T. Ogata, A. Stern // Biomedical Journal – 2017. – Vol. 40, Iss. 4. – P. 189-199. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2017.06.002>.
186. Whayne, T.F. Thioredoxins in cardiovascular disease / T.F. Whayne, N. Parinandi, N. Maulik // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology – 2015. – Vol. 93(11). – P. 903-911. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0105>.
187. Aquilano, K. Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant / K. Aquilano, S. Baldelli M.R. Ciriolo // Frontiers in Pharmacology – 2014. – Vol. 5. – P. 196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>.
188. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes / R. Masella, R. Di Benedetto, R. Vari, C. Filesi, C. Giovannini // J. Nutr. Biochem. – 2005. – Vol. 16, Iss. 10. – P. 577-586. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.05.013>.
189. Lushchak, V.I. Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions / V.I. Lushchak // Journal of Amino Acids – 2012. – Vol. 2012, Iss. 1. – P. 1-26. <https://doi.org/10.1155/2012/736837>
190. Калинина, Е. В. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, М.Д. Новиков // Успехи биологической химии. – 2014. – Т. 54. – С. 299-348.
191. Influence of inflammation in the process of T lymphocyte differentiation: proliferative, metabolic, and oxidative changes / M. A. Moro-García, J.C. Mayo, R.M. Sainz, R. Alonso-Arias // Front. Immunol. – 2018. – Vol. 9. – P. 339. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00339>.
192. Fraternale, A. Glutathione and glutathione derivatives in immunotherapy / A. Fraternale, S. Brundu, M. Magnani // Biological Chemistry – 2016. – Vol. 398, Iss. 2. – P. 261-275. <https://doi.org/10.1515/hsz-2016-0202>.
193. Kelly, B. Amino assets: how amino acids support immunity / B. Kelly, E.L. Pearce // Cell Metabolism – 2020. – Vol. 32, Iss. 2. – P. 154-175. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.010>.
194. Glutathionylation of human thioredoxin: A possible crosstalk between the glutathione and thioredoxin systems / S. Casagrande, V. Bonetto M. Fratelli et al // PNAS – 2002. – Vol. 99. N 15. – P. 9745-9749. <https://doi.org/10.1073/pnas.15216859>.
195. Redox Signaling Mediated by Thioredoxin and Glutathione Systems in the Central Nervous System / X. Ren, L. Zou, X. Zhang, V. Branco et al // Antioxidants & Redox Signaling – 2017. – Vol. 27, N 13. – P. 989-1010. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6925>.

196. Human CD4+ T cells require exogenous cystine for glutathione and DNA synthesis / T.B. Levring, M. Kongsbak, A.K.O. Rode et al // Oncotarget – 2015. – Vol. 6, N 26. – P. 21853-21864. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5213>.
197. Glutathione and glutaredoxin act as a backup of human thioredoxin reductase 1 to reduce thioredoxin 1 preventing cell death by aurothioglucose / Y. Du, H. Zhang, J. Lu, A. Holmgren // Journal of Biological Chemistry – 2012. – Vol. 287, Iss. 45. – P. 38210-38219. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.392225>.
198. Dual targeting of the thioredoxin and glutathione systems in cancer and HIV / M. Benhar, I.L. Shytaj, J.S. Stamler, A. Savarino // The Journal of Clinical Investigation – 2016. – Vol. 126(5). – P. 1630-1639. <https://doi.org/10.1172/JCI85339>.
199. Загрязнение атмосферы урбанизированной территории как системный процесс взаимодействия факторов окружающей среды / Л. В. Веремчук, В. И. Янькова, Т. И. Виткина и др. // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2015. – № 3(61). – С. 35-42.
200. Hoet, P.H.M. Nanoparticles-known and unknown health risks / P.H.M. Hoet, I. Brüske-Hohlfeld, O.V. Salata // Journal of nanobiotechnology. – 2004. – Vol. 2(1). – P. 15. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-2-12>.
201. Голохваст, К. С. Выбросы автотранспорта и экология человека (обзор литературы) / К. С. Голохваст, В. В. Чернышев, С. М. Угай // Экология человека. – 2016. – № 1. – С. 9-14.
202. Ответная реакция системы перекисное окисление липидов - антиоксидантная защита на комплексное воздействие природно-экологических факторов при заболеваниях органов дыхания / В. И. Янькова, Л. В. Веремчук, Т. И. Виткина и др. // Сибирский научный медицинский журнал. – 2016. – Т. 36, № 3. – С. 94-102.
203. Влияние модельных взвесей микроразмерных твердых взвешенных частиц атмосферного воздуха на морфофункциональную характеристику и параметры пероксидации липидов альвеолярных макрофагов крыс линии Вистар / В. И. Янькова, Т. И. Виткина, Н. Е. Зюмченко, Л. С. Барскова, К. С. Голохваст // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2017. – Т. 4, № 71. – С. 80-86.