

6. ОКСИДАНТНЫЙ СТРЕСС И СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ

Ведущую роль при детоксикации ксенобиотиков играют метаболические и иммунные механизмы, обезвреживающие токсические вещества экзогенного и эндогенного происхождения. Однако в процессе биотрансформации, защитной реакции иммунокомпетентных клеток и прямого воздействия ксенобиотиков на органы-мишени могут образовываться свободные радикалы, вызывающие окислительный (оксидантный) стресс [Ю. А. Владимиров, 2000; В. А. Гусев, Е. В. Даниловская, 1987; Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, 2006].

6.1 Свободно-радикальное окисление. Оксидантный стресс

Свободно-радикальное окисление - многообразный биохимический процесс превращений кислорода, липидов, нуклеиновых кислот, белков и других соединений под действием свободных радикалов, а перекисное окисление липидов (ПОЛ) – одно из его последствий [Активация липопероксидации, 2012; Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, 2006].

Свободные радикалы — это активные частицы, имеющие неспаренный электрон на внешней электронной оболочке и обладающие высокой реакционной способностью. Основные радикалы, образующиеся в клетках — это радикалы кислорода, монооксид азота, радикалы ненасыщенных жирных кислот, радикалы, образующиеся в окислительно-восстановительных реакциях (например, убихинол).

Повышение генерации свободных радикалов, ПОЛ при поступлении ксенобиотиков в организм может вызывать изменение структуры белков, нуклеотидов, инактивацию ферментов, в том числе биотрансформации экзогенных веществ, мембранотропный и другие эффекты [Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, 2006; M. Kihara, K. Noda, 1994].

Внутриклеточными источниками активных форм кислорода являются дыхательная цепь митохондрий, пероксисомы, ксантинооксидаза, миелопероксидаза, разобщенная NO-синтеза, циклооксигеназы, липоксигеназы, цитохромы P450 и NADPH-оксидазы.

Во многих случаях АФК-индуцированной дисфункции клеток предшествует дисбаланс внутриклеточного кальция.

Многие сигнальные молекулы чувствительны к редокс-модуляции, среди них киназы, фосфатазы и транскрипционные факторы [А. Д. Надеев и др., 2014]. Ферменты цитохрома P450 могут продуцировать супероксид-анион,

H_2O_2 и гидроксил-радикал. Это происходит при NADPH-зависимом переносе электронов, предназначенных для восстановления гемового железа, на молекулу кислорода. В цитозоле клеток супероксидный анион-радикал генерируется от ксантиноксидазы. Среди неферментативных путей образования АФК следует отметить аутоокисление гидрохинонов, лейкофлавинов, катехоламинов, тиолов. В инициации свободнорадикального окисления могут участвовать катион-радикалы молибдена, марганца, кобальта, железосерные кластеры.

Биологический эффект в зависимости от образуемой концентрации АФК может быть регуляторным или токсическим. Низкие концентрации АФК постоянно образуются практически во всех клетках организма и выполняют сигнальные функции в качестве вторичных посредников в редокс-чувствительных сигнальных путях. Они выполняют сигнальную функцию в клеточной регуляции — модуляторы ионных каналов и сигнальных систем [Окислительный (оксидантный) стресс [Электронный ресурс].

АФК стимулируют деление различных типов клеток, участвуют в пролиферативных процессах. Способствуют накоплению цАМФ и цГМФ, ионов Ca^{2+} в цитозоле, активируют протеинкиназы, протеинтирозинкиназы и подавляют активность протеинфосфатаз. Помимо стимуляции процессов фосфорилирования белков, АФК активируют и белок Ras, участвующий в передаче сигналов в ядро клетки. АФК способны инициировать цепные реакции липопероксидации в норме, а их избыток — усиливать цепные процессы при лучевом поражении и других физических и химических воздействиях. Патогенетически значимые высокие уровни АФК кроме печени образуются при участии гемоглобина эритроцитов, миелопероксидазы нейтрофилов, NADPH-оксидазы нейтрофилов, макрофагов и тромбоцитов, а также в эндотелии сосудов.

К АФК относятся супероксид-анион (O_2^-), пероксид водорода (H_2O_2), гидроксил-радикал ($\bullet OH$), пероксил-радикал ($ROO\bullet$), алкоксил-радикал ($RO\bullet$), озон (O_3) и синглетный кислород (1O_2), гипохлорит ($HOCl$) и др.

Супероксид анион-радикал (O_2^-)

Ключевой активной формой кислорода является супероксид анион-радикал (O_2^-), образующейся при присоединении одного электрона к молекуле кислорода в основном состоянии.

Супероксид радикал сам по себе обладает малой реакционной способностью. Он может действовать как окислитель (акцептор электрона), как восстановитель (донор электрона). В водной среде может спонтанно дисмутировать (один атом может выступать в качестве акцептора электрона, а другой в качестве донора).

Супероксид-анион является предшественником большинства АФК в клетке, дисмутируя в пероксид водорода (H_2O_2) либо спонтанно, либо посредством супероксиддисмутаза (СОД). Образующийся на цитохроме Р450 супероксид одновременно может быть источником перекиси водорода и генератором ионов железа из ферритина — компонентов, необходимых для образования различных активных форм кислорода. При окислении гемоглобина в метгемоглобин также образуется супероксид.

Для некоторых тканей, в частности, для мозга, характерен повышенный синтез простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов, который требует участия супероксид-аниона, взаимодействующего с другим компонентом этой системы, арахидоновой кислотой — соединением, высвобождающимся из мембранных фосфолипидов в ходе индуцируемого АФК ПОЛ.

Время его жизни в биологических субстратах составляет около 10^{-6} с. При кислых значениях рН супероксид анион-радикал может протонироваться с образованием более реакционноспособного пероксильного радикала, представляющего собой слабую кислоту.

Супероксид анион-радикал представляет опасность тем, что способен повредить белки, содержащие железосерные кластеры, такие как аконитаза, сукцинатдегидрогеназа и НАДН-убихинон оксидоредуктаза.

Перекись водорода (H_2O_2)

Присоединение двух электронов к молекуле кислорода или одного электрона к супероксид-аниону приводит к образованию перекиси водорода, которая является окислителем умеренной силы.

Однако из перекиси водорода может образовываться гидроксид-радикал, который является весьма сильным окислителем. Гидроксид-радикал может образовываться при трехэлектронном восстановлении кислорода или при взаимодействии перекиси водорода с супероксид радикал-анионом – реакция Габера-Вейса.

В процессе реакции генерируется $\bullet OH$ (гидроксил-радикал) из пероксида водорода и супероксида. Реакция проходит довольно медленно, может возникать в клетке и вызывать окислительный стресс. Катализируется ионами железа. Токсичность перекиси водорода резко возрастает в присутствии металлов переменной валентности, что объясняется ускорением образования $\bullet OH$.

Гидроксил и гидроксид-радикалы ($\bullet OH$ и OH^-)

Гидроксил-радикал относится к реактивным формам кислорода. Является наиболее активным компонентом оксидативного стресса. Он образуется в клетке в основном при восстановлении перекиси водорода в присутствии переходного металла (железо). Время полужизни гидроксильного радикала *in*

in vivo — очень короткое — около 10^9 с, что в совокупности с его высокой реактивной способностью приводит к тому, что он является одним из наиболее опасных агентов, образующихся в организме.

В отличие от супероксида, который может быть детоксифицирован супероксиддисмутазой, не существует фермента, который бы элиминировал гидроксильный радикал, из-за слишком короткого времени жизни, недостаточного для диффузии его в активный центр фермента. Единственная защита клетки от этого радикала — высокий уровень низкомолекулярных антиоксидантов, таких как глутатион. Образовавшийся гидроксильный радикал мгновенно реагирует с любой окисляемой молекулой в ближайшем окружении.

Из наиболее биологически важных компонентов клетки гидроксильный радикал способен окислять углеводы, нуклеиновые кислоты (что может привести к мутации или повреждению генов), липиды (вызывая перекисное окисление липидов) и аминокислоты.

Гидроксид-ион (*гидроксид-анион, гидроксильный ион*) — отрицательно заряженный ион гидроксида (OH^-).

Гидроксид-радикал практически не участвует в образовании других АФК, но является важным фактором окислительной модификации многих клеточных структур.

Основной реакцией, в которой принимает участие гидроксид-ион, является реакция нейтрализации кислот и оснований.

Гидроксид-радикал — чрезвычайно активный окислитель, который способен разрушать фактически любую находящуюся рядом с ним молекулу в клетке.

Константы скоростей его взаимодействия с большинством биологически важных молекул близки к диффузионным. Вследствие высокой химической активности гидроксид-радикала, время его жизни в клетке составляет 100 нс, а расстояние, которое он может пройти от места образования до места взаимодействия с мишенью ~100 нм. Он может окислять молекулы белков и липидов, особенно активно атакуя мембранные липиды, которые содержат ненасыщенные двойные связи. Этот процесс приводит к образованию липидных гидроперекисей и изменению свойств клеточных мембран.

Гидроксид-радикал внедряется в липидный слой, инициирует цепные реакции липопероксидации, приводит тем самым к нарушениям структуры и функции мембран, инициируя процессы гибели клеток.

Так как время жизни OH^- небольшое, то гидроксид-радикал успевает диффундировать лишь на один-два молекулярных диаметра, взаимодействуя лишь с молекулами близлежащих компонентов клетки.

Гидроксид-радикал принимает участие в реакциях бимолекулярного ну-

клеофильного замещения, вызывает разрыв связей в молекуле ДНК, что может вызывать глубокие повреждения генетического аппарата и гибель клеток. Диффундирующей «скрытой» формой гидроксид-радикала является пероксид водорода — более длительно живущая АФК, содержащаяся в клетке в относительно больших количествах. Молекула H_2O_2 (вступая в реакцию с ионом металла) «доставляет» OH^- в мембранные структуры и ядро клетки.

Гипохлорит-анион (OCl^-). Гипохлорит-анион, представляющий собой активную форму хлора и условно относимый к АФК, является мощным окислителем.

Гипохлорит-анион опасен сам по себе, а также может взаимодействовать с O_2^- с образованием гидроксид-радикала и с перекисью водорода с образованием синглетного кислорода.

NO-радикал. К радикальным компонентам клетки относится NO-радикал, образуемый ферментом NO-синтетаза (индуцибельной, 1 и 3 типов) из L-аргинина и участвующий в образовании пероксинитрита при взаимодействии с супероксид-анионом.

Активация индуцибельной NO-синтетазы эндотелия и макрофагов осуществляется лишь в условиях патологии под влиянием таких биологически активных веществ и гормонов, как адреналин, норадреналин, ацетилхолин, гистамин, АДФ, брадикинин, эндотелин и др.

NO выполняет функции регулятора многих ключевых физиологических и биохимических процессов, выступая в качестве антагониста адренергической нервной системы, регулирующего по эфферентным нервам деятельность дыхательной, мочеполовой, мышечной, секреторной, сосудистой и других систем.

Установлено активирующее действие NO на растворимую форму важнейшего внутриклеточного регуляторного белка — гуанилатциклазы — фермента, ответственного за синтез одного из вторичных мессенжеров — цГМФ.

Малые размеры двухатомной газообразной молекулы NO и отсутствие заряда позволяют ей легко проникать через плазматические и внутриклеточные мембраны. Молекулы монооксида азота легко диффундируют в биологических средах и являются относительно долгоживущими.

Наряду с регуляторными функциями, NO, образуясь в фагоцитах в больших концентрациях, проявляет цитотоксическую активность, обнаруживая эффекторные свойства системы клеточного иммунитета. Длительная генерация NO способна вызывать патологию различного генеза.

Оксид азота и его производные являются ключевыми факторами воспаления, инфекции, канцерогенеза, а также развития радиационных, стрессорных и адаптивных ответов клеток и организма на соответствующие воздействия. Показано, что цитотоксические и цитогенетические эффекты обусловлены образованием чрезвычайно активного окислителя — пероксинитрита, возникающего в реакции взаимодействия оксида азота с супероксидным анион-радикалом.

Протонированный пероксинитрит так же, как и пероксид водорода, выполняет функции диффундирующей «скрытой» формы гидроксид-радикала.

Пероксинитрит и его протонированная форма, диффундируя в клетке и проникая через мембраны с помощью переносчиков анионов, вызывают разрывы цепочек и окисление оснований ДНК, нитрование гуанина и белков, окисление липидов биологических мембран и т.д. Результатом таких реакций могут быть мутагенез, цитогенетические и другие эффекты.

В настоящее время большое значение придается изучению роли кислородных радикалов в возникновении многих патологических процессов в организме.

В норме окислительно-восстановительные процессы регулируются с помощью антиоксидантной системы.

Если равновесие в организме смещается в сторону окислительных процессов, то это называется окислительным стрессом. То есть окислительный (оксидативный) стресс является следствием дисбаланса про- и антиоксидантных систем.

Оксидативный стресс повышает проницаемость гематотканевых барьеров. Нарушение проницаемости эндотелия может быть связано с воздействием активных форм кислорода или азота на ключевые ферменты метаболизма, а также на различные звенья сигнальных и эффекторных путей: это рецепторы плазматической мембраны, киназы и фосфатазы, транскрипционные факторы и процесс их взаимодействия с ДНК, трансляция, процессинг и секреция интегринов и белков адгезии, цитоскелет и его взаимодействие с плазматической мембраной.

АФК вносят решающий вклад в развитие патологии легких и мозга при гипероксии и гипоксии. Они обладают промоторными свойствами при воздействии канцерогенов. Считается, что высокие концентрации АФК и липидных гидропероксидов ингибируют синтез ДНК и деление клеток и могут активировать апоптоз, что полезно для организма, так как ценой гибели части клеток предупреждает прогрессирование злокачественных процессов и гибель целого организма. Однако нет однозначного ответа на вопрос, чем является окислительный стресс: следствием или индуктором функциональных

изменений, сопровождающих развитие запрограммированной гибели клеток.

Последствия оксидативного стресса, обусловленного АФК, включают в себя ПОЛ клеточных мембран, разрыв нитей ДНК, окисление белков. Однако действие оксидативного стресса не сводится к ПОЛ; так, в кардиомиоцитах пероксид водорода (H_2O_2) в первую очередь ингибирует митохондриальную аконитазу и, как следствие, цикл Кребса, даже если концентрации H_2O_2 недостаточно для запуска ПОЛ [А. Д. Надеев и др., 2014]. АФК — ключевые факторы патофизиологии кровеносных сосудов.

При остром воспалении, АФК в большом количестве образуются в активированных эндотоксинами клетках эндотелия и нейтрофилах. Обычно при этом снижается соотношение GSH : GSSG, повышается уровень GSSG и происходит мобилизация ионов Ca^{2+} из IP3-чувствительного пула эндоплазматического ретикулума.

Окислительная модификация белков, вызванная АФК, не только изменяет аминокислотные остатки, но и нарушает третичную структуру и даже вызывает агрегацию и денатурацию [Окислительный (оксидантный) стресс [Электронный ресурс]. В результате снижается или исчезает их многообразная функциональная активность (ферментативная, регуляторная, участие в матричных синтезах, транспорт ионов и липидов), а некоторые из них способствуют мутациям или становятся аутоантигенами.

Чувствительность или резистентность клеток к действию цитокинов (ФНО) коррелирует со сниженным или повышенным уровнем супероксиддисмутазы в этих клетках.

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе широкого спектра сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе кардиомиопатии, атеросклероза, ИБС, канцерогенеза и т.д. [Активация липопероксидации, 2012; А. А. Подколзин и др., 2000]. Накопление большого количества АФК, а также снижение концентрации клеточного глутатиона является распространенной причиной возникновения таких заболеваний, как диабет, инсульт, болезни Альцгеймера и Паркинсона.

Развитие окислительного стресса обусловлено повышением образования производных кислорода и других окислителей и снижением количества антиоксидантов вследствие истощения их в организме при нейтрализации свободных радикалов, образующихся при действии прооксидантов (химические вещества, курение, ионизирующее излучение и т.д.), а также при дефиците антиоксидантных компонентов в пище. Активными прооксидантами являются нафтохиноны, витамины А и D, липоевая кислота, продукты метаболизма простагландинов и катехоламинов, ионы двухвалентного железа. Ведущее значение в активации ПОЛ играют фосфолипиды.

При расстройстве баланса окислительных процессов и антиоксидантной защиты свободнорадикальное окисление вызывает повреждения липопротеинов клеточных мембран, тяжелые нарушения метаболизма, старение клеток, тканей, органов, модификацию липопротеинов крови, атеросклероз, аутоиммунные и воспалительные заболевания, генотоксические процессы и т.д.

6.2 Антиоксидантная система

Постоянное образование прооксидантов в организме уравновешено их дезактивацией антиоксидантной системой, непрерывной регенерацией антиоксидантов, необходимых для постоянного поддержания гомеостаза [Н. Р. Асадуллина и др., 2010; Ю. А. Владимиров, 2000; Е. Б. Меньщикова, 2006; А. Д. Надеев и др., 2014; Г. И. Сидорин, 1991; Л. А. Тиунов, 1995].

При действии разных эндогенных и экзогенных факторов, которые являются причиной окислительного стресса, баланс между антиоксидантной системой и активными формами кислорода в клетках может нарушаться, либо в результате снижения уровня антиоксидантов, либо вследствие гиперпродукции активных форм кислорода.

В обезвреживании оксидантов участвуют ферменты 1 и 2 фазы биотрансформации (NQO1, GST, SULT и др.). Антиоксидантная защита также представлена ферментами, метаболизирующими конечные продукты перекисного окисления липидов (альдегидов, эпоксидов, алкенов, алкоголя); в нее могут быть отнесены эпоксидгидролазы, альдегидредуктазы, цитохром P-450; системы ингибирования перекисных и свободнорадикальных процессов, включающие циклические нуклеотиды, простагландины, лейкотриены; а также репаративной регенерации поврежденных молекул.

Антиоксиданты — биологически активные вещества, связывающие свободные электроны, угнетая свободные радикалы. Антиоксиданты контролируют в организме реакции окисления и количество свободных радикалов. Препятствуют процессам свободнорадикального окисления органических веществ в организме.

Различают высокомолекулярные и низкомолекулярные антиоксиданты. К высокомолекулярным антиоксидантам относят мембраносвязанные и цитозольные ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионзависимые пероксидазы, трансферазы и др.), альбумин и т.д.

Низкомолекулярные антиоксиданты разделяют на жирорастворимые (токоферолы, каротиноиды, убихинон и др.) и водорастворимые (аскорбиновая кислота, глутатион, тиоредоксин, билирубин и др.). Следует

отметить, что антиоксиданты бывают внутри- и внешнеклеточные.

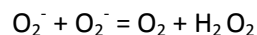
Повреждения, вызванные оксидантным стрессом, могут быть минимальными благодаря наличию в организме молекул-восстановителей и ферментов антиоксидантной защиты: цистеина, глутатиона, супероксиддисмутазы, каталазы и ряда других защитных механизмов, среди которых стоит отметить токоферол, альбумин, тиреоидные гормоны, эстрогены, андрогены, мелатонин [О. И. Антимонова и др., 2012; Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, 2006; А. Д. Надеев и др., 2014].

Антиоксидантная система подразделяется на ферментативную и неферментативную подсистемы.

Ферментативная АОС

К антиоксидантным ферментам относятся супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и др. Для ферментативных антиоксидантов характерны высокая специфичность, строго определенная органная и клеточная локализация. Ферменты антиоксидантной системы содержат в активном центре в качестве катализаторов ионы металлов с переменной валентностью (Cu, Fe, Mn, Zn, Se), которые в зависимости от условий выступают как окислитель, так и восстановитель.

Супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1) катализирует реакцию дисмутации супероксидных анион-радикалов:



В ходе реакции образуется пероксид водорода, который способен инактивировать СОД, поэтому она всегда функционирует в паре с каталазой, которая быстро и эффективно расщепляет пероксид водорода на кислород и воду.

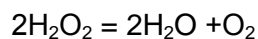
Обнаружено несколько изоэнзимных форм СОД, отличающихся строением активного центра. Изоферментные формы СОД являются внутриклеточными ферментами, в межклеточной жидкости (плазма крови, лимфа, синовиальная жидкость) они разрушаются в течение 5-10 минут. Cu-, Zn-содержащие СОД локализуются в основном в цитозоле эритроцитов, в межмембранном пространстве митохондрий, в цитоплазме и ядре нервных клеток. Mn-СОД локализована в митохондриях печени и миокарда, вблизи анионных каналов.

Экстрацеллюлярная высокомолекулярная форма СОД (ММ 120000 Д) хорошо связывается гепаринсульфатом гликокаликс эндотелиоцитов, локально защищая их от свободных радикалов. Экстрацеллюлярная СОД не связывается с лейкоцитами и эритроцитами, не участвует в регуляции продукции активных форм кислорода гранулоцитами в процессе киллинга.

СОД существенно ускоряет дисмутации супероксид анион-радикала. Однако, несмотря на высокую специфичность фермента, при определенных

условиях, Cu-СОД может взаимодействовать с H_2O_2 и выступать в качестве прооксиданта.

Каталаза (КФ 1.11.1.6) — гемопrotein, который катализирует реакцию обезвреживания пероксида водорода, образующегося в результате реакции дисмутации супероксидного радикала:



Реакции дисмутации супероксид анион-радикала и разложения H_2O_2 экзотермичны, а катализирующие эти реакции СОД и каталаза не нуждаются в кофакторах, что делает их активность не зависящей от функционирования других клеточных структур. СОД ускоряет спонтанную реакцию в 200 раз.

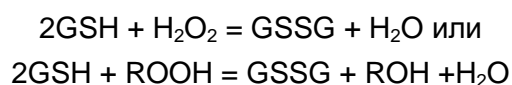
Полагают, что уровень активности внутриклеточных ферментативных антиоксидантных систем генетически детерминирован, причем избыточное накопление в клетках супероксидного анион-радикала или перекиси водорода сопровождается депрессией участков генома, ответственного за активность внутриклеточных ферментативных антиоксидантных систем.

Система глутатионзависимых ферментов

Данная система глутатиона включает: селеновую глутатионпероксидазу (ГПО), глутатионредуктазу (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ), а также недавно обнаруженный фосфолипидгидропероксид интерлейкин ГПО.

Центральный метаболит системы — трипептид глутатион — глутамил-цистеинилглицин (GSH) восстановленный обладает не только собственной антиоксидантной активностью, но и выступает в роли кофактора антиоксидантных ферментов, донора водорода, метаболита и субстрата с ферментами системы, «работает» совместно с СОД и каталазой, а также ферментами, содержащими тиоловую группу. Система глутатиона принимает участие в транспорте аминокислот, влияет на функции почечных мембран и резистентность клеток. Считают, что эта система — один из защитных механизмов против старения организма. GSH-зависимые ферменты работают во всех частях клетки, включая ядро, митохондрии и эндоплазматическую сеть. Известный антиоксидантный эффект селена также в основном опосредован ферментами – обеими ГПО.

Глутатионпероксидаза (КФ 1.11.1.9) катализирует реакции, в которых фермент восстанавливает пероксид водорода до воды, а также органических гидропероксидов (ROOH) — до гидроксипроизводных и в результате переходит в окисленную дисульфидную форму GSSG:

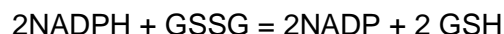


Глутатионпероксидаза обезвреживает разные органические липидные пероксиды, которые образуются в организме при активации ПОЛ. ГПО вос-

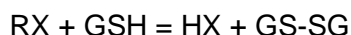
становливаются и органические гидропероксиды нуклеотидов, нуклеиновых кислот и, вероятно, белков.

Глутатионредуктаза (КФ 1.8.1.7) — флавопротеин с простетической группой флавинадениндинуклеотидом, состоит из двух идентичных субъединиц.

ГР катализирует реакцию NADPH-зависимого восстановления глутатиона из окисленной его формы GSSG:



Глутатионтрансфераза (КФ 2.5.1.18) катализируют реакцию:



Глутатионтрансферазы восстанавливают только ROOH, но важно, что один из изоферментов находится прямо в хроматине и восстанавливает ROOH ДНК в ядре. Фосфолипидгидропероксид восстанавливает ROOH жирных кислот в составе фосфолипидов (для этого не требуется предварительный гидролиз последних). Это уменьшает или даже предупреждает прогрессирование ПОЛ и окислительной модификации нуклеиновых кислот и белков. Однако необходимо обезвреживание вторичных метаболитов окислительной модификации — это четвертая линия защиты. ГТ конъюгирует с GSH ряд окисленных веществ, в том числе главный продукт ПОЛ — 4-гидроксиалкены и опасные эпоксиды. За исключением глутатионредуктазы ферменты глутатионсинтеза используют GSH.

Формальдегиддегидрогеназа и глиоксалаза, использующие GSH в качестве кофермента, окисляют свои субстраты до органических кислот.

Кроме того, *альдегиддегидрогеназа* окисляет малоновый диальдегид.

Хинон-редуктаза (ДТ-диафараза) обеспечивает двухэлектронное восстановление хинонов в дигидрохиноны, что предупреждает образование вредных продуктов одноэлектронного восстановления — семихинонов; эпоксидгидролаза гидратирует эпоксиды с образованием диолов.

Ферментативная АОС обеспечивает мощный и эффективный метаболизм не только АФК, но и активных окисленных соединений. В АОС особенно важна роль GSH: это главный восстановитель клетки, его концентрация (1-10 мМ) выше, чем большинства органических веществ; как и другие низкомолекулярные антиоксиданты, он прямо восстанавливает АФК; функционирует на трех линиях ферментативной защиты (восстановление H₂O₂, ROOH и обезвреживание вторичных метаболитов окислительной модификации) из четырех; GSH-зависимые ферменты располагаются во всех частях клетки, включая ядро, митохондрии и эндоплазматическую сеть. Известный антиоксидантный эффект Se также в основном опосредован

ферментами — обеими ГПО.

Неферментативная АОС

В эту систему входят низкомолекулярные и высокомолекулярные антиоксиданты. Антиоксидантной активностью обладают микроэлементы (медь, цинк, селен), гормон мелатонин, некоторые пуриновые соединения и др.

Низкомолекулярными антиоксидантами являются некоторые аминокислоты (глицин, аргинин, таурин, гистидин и др.), полиамины, мочевины, мочевая кислота, глутатион, аскорбиновая кислота, билирубин, токоферол, витамины группы А, К, Р. Данные соединения участвуют в своеобразных антиоксидантных цепях переноса электронов, эффективность функционирования которых определяется работой всех компонентов.

Жирорастворимые биоантиоксиданты включают: фосфолипиды, токоферолы, витамин А, каротиноиды, убихинон, витамины группы К, стероидные гормоны.

Водорастворимые биоантиоксиданты: аскорбиновая, лимонная, никотиновая кислоты; глутатион; альбумин; тиоредоксин; билирубин; меланин; серосодержащие соединения (цистеин, гомоцистеин; липоевая кислота, церулоплазмин); фенольные соединения (полифены, флавоноиды, трансферрин, лактоферрин, эллаговая кислота, кверцетин, эпигаллокатехин); мочевины, мочевая, галловая кислоты и др..

Альфа-дигидролипоевая кислота — универсальный антиоксидант, который действует в жирной и водной средах, накапливается в мозге и усиливает активность других ингибиторов свободных радикалов (глутатион, витамины С и Е) и аскорбиновая кислота, карнозин — находятся в водной фазе клетки, защищают вещества гиалоплазмы и матрикса митохондрий, а гидрофобные антиоксиданты защищают мембраны. Эти вещества перехватывают свободные радикалы, восстанавливают АФК и продукты окислительной модификации.

Среди низкомолекулярных антиоксидантов важную роль играют такие нутриенты, как витамины С и Е и каротины. Такими же свойствами обладают ураты и билирубин.

К числу высокомолекулярных органических соединений — белков, обладающих способностью связывать металлы с переменной валентностью и соответственно обладающих антиоксидантными свойствами, относят альбумины крови, трансферрин, ферритин, лактоферрин. Многие из них весьма эффективны в ингибировании свободнорадикальных процессов, но слабо проникают через мембраны и тканевые барьеры.

Альбумин не включен в систему классификации ферментов, однако важ-

нейшей его особенностью является каталитическая активность, в том числе антиоксидантного и прооксидантного характера. Поэтому альбумин был охарактеризован как тиоэстераза, глутатионзависимая тиол-пероксидаза или цистеинпероксидаза, пероксидаза по отношению к гидроперекисям липидов. В этих процессах участвуют два цистеина альбумина: Cys392 и Cys438, образующих редокс-активный дисульфид в комплексе альбумина с пальмитоил-КоА.

Альбумин является ловушкой радикалов благодаря шести метиониновым остаткам, особенно за счет цистеина Cys34. N-концевой участок альбумина человека Asp- Ala-His-Lys в комплексе с ионами меди обладает выраженной супероксиддисмутазной активностью.

Альбумин может стехиометрически инактивировать пероксид водорода и пероксинитрит за счет обратимого окисления Cys34 до производного сульфеновой кислоты. Связанные с альбумином ионы меди Cu^{2+} усиливают образование аскорбат-радикала. Молекулярный кислород и протоны окисляют образовавшиеся при этом ионы Cu^+ до Cu^{2+} .

Глутатион является субстратом синтеза фермента 2 фазы биотрансформации глутатион-S-трансферазы, который, как и каталаза, разрушает только перекись водорода.

Глутатион постоянно синтезируется в печени и выделяется в кровь, откуда поступает ко всем тканям, кроме эритроцитов. Глутатион восстановленный выделяется в желчь. Он принимает участие в синтезе белков и нуклеиновых кислот; защищает от активных форм кислорода; восстанавливает и изомеризует дисульфидные связи; влияет на активность ферментов и других белков; поддерживает функции мембран; выполняет некоторые коферментные функции; принимает участие в обмене эйкозаноидов; является резервом цистеина; принимает участие в метаболизме ксенобиотиков; повышает резистентность клеток к вредным воздействиям; влияет на пролиферацию.

Уровень GSH, его оборот и редокс-статус зависят от врожденных или приобретенных нарушений функций ферментов и переносчиков, спектра сигнальных молекул и метаболитов.

В АОС действие ферментных антиоксидантов дополняется в целостном организме естественными антиоксидантами, в частности, витаминами группы E, стероидными гормонами, серосодержащими аминокислотами, аскорбиновой кислотой, витаминами группы A, K и P, коэнзимом Q (убихиноном), пептидами, производными гаммааминомасляной кислоты, фосфолипидами, продуктами метаболизма эйкозаноидов, а также тиолами, в частности, эрготионеином, содержащимся в эритроцитах печени, мозге.

Витамин А необходим для образования серосодержащих биомолекул, связывания и обезвреживания эндогенных веществ и ксенобиотиков. Как антиоксидант он тормозит превращение сульфгидрильных групп в дисульфидные, нормализует функционально-структурные свойства мембран, тормозит микросомальное окисление бензпирена и других канцерогенов.

Из каротиноидов, являющихся предшественниками ретинола, β -каротин обладает наибольшей биохимической активностью. Он, помимо выраженного антиоксидантного эффекта, принимает участие в процессах деления иммунокомпетентных клеток, синтезе иммуноглобулинов, в том числе секреторного иммуноглобулина А, интерферона, лизоцима и других факторов специфической и неспецифической защиты от инфекций, активирует ферменты лизосом. Коэнзим Q превосходит другие естественные антиоксиданты [В. З. Ланкин и др., 2004].

КоQ является незаменимым компонентом клеток, принимающим участие в синтезе АТФ и энергообеспечении организмов с аэробным метаболическим циклом. КоQ синтезируется во всех клетках с помощью ферментов эндоплазматического ретикулума, замедляет гибель клеток и имеет определенное число изопреноидов. Число последних определяется видовой специфичностью организма. У человека их 10 (КоQ10), а у грызунов — 9 (КоQ9).

Восстановленная форма КоQ называется убихиноном. В этой форме КоQ выступает в качестве антиоксиданта, предотвращающего повреждение мембран в липосомах, липопротеинах низкой плотности, в протеинах, ДНК и биологических мембранах [W. H. Ibrahim и соавт., 2000]. Дефицит убихинона наблюдается при старении, расстройствах сердечно-сосудистой системы, таких как атеросклероз и дислипидемии, острая и хроническая ИБС, недостаточность кровообращения различной этиологии, включая кардиомиопатии, артериальную гипертонию.

В антиоксидантной защите участвуют карнозин и его производные. Карнозин является природным дипептидом, метаболизирующимся в организме человека и животных; стабилизирует pH среды; взаимодействует с ОН, супероксиданионрадикалом и гипохлориданионом с последующей их инактивацией. За счет антиоксидантных свойств он регулирует поведенческие реакции.

Токоферол и карнозин обладают синергетическим эффектом торможения ПОЛ. Показано, что свойства липидных антиоксидантов определяются биохимическим окружением карнозина, и в случае отсутствия системы регенерации возможно появление его прооксидантных эффектов [Активация липопероксидации..., 2012]. Образующиеся в организме свободные радикалы

антиоксидантов малоактивны и выводятся из организма в виде продуктов взаимодействия с другими антиоксидантами — токоферолами, хинонами, витаминами группы К, Se-содержащими соединениями.

Такие известные антиоксиданты, как тиоредоксин и N-ацетилцистеин, так же как хелаторы ионов железа, ингибируют ФНО-индуцированный и опосредованный СОД, апоптоз.

Ослабление антиоксидантной защиты клеток может быть вызвано недостаточным поступлением в организм неферментных антиоксидантов, в частности, токоферола.

Недостаточность селена может быть одной из причин нарушения активности селензависимой глутатионпероксидазы. Дефицит Cu^{2+} и Zn^{2+} резко снижает активность СОД и значительно повышает чувствительность к оксидантному повреждению.

Из стероидных гормонов антиоксидантными свойствами обладают эстрогены. При патологических состояниях, которые сопровождаются чрезмерным усилением процессов свободнорадикального окисления, эстрогены предупреждают нарушения митохондриального окисления, противодействуют повреждению биомембран.

Важность АОС доказывается накоплением АФК и нарастанием ОМ при дефиците низкомолекулярных антиоксидантов: GSH, витаминов Е и С; гибелью нейронов спинного и головного мозга при инактивирующей мутации СОД (амиотрофический латеральный склероз); при серьезном дефиците GSH или GSH-зависимых ферментов — развитием гемолиза эритроцитов, катаракты хрусталика и поражения печени прооксидантными ядами (CCl_4 и др.).

6.3 Полиморфизм генов антиоксидантной системы

Во внутриклеточной регуляции соотношения прооксидантов и антиоксидантов большое значение имеет полиморфизм генов, кодирующих ферментные и другие белковые компоненты про- и антиоксидантные системы, оказывающий существенное влияние на индивидуальную предрасположенность (устойчивость) к развитию разнообразной патологии.

С полиморфизмом генов, обуславливающих функциональную вариативность белковых продуктов и широкий спектр биохимических реакций в системе антиоксидантной защиты, может быть связан риск реализации многообразных патологических состояний [Л. И. Колесникова и др., 2013; К. В. Морозова, Н. Н. Луценко, 2015; М. А. Солодилова, 2009; В. А. Спицын и др., 2006].

В настоящее время изучена роль генов супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, сульфотрансферазы, глутатион-S-трансферазы, глутатионредуктазы (GR), НАДФН-оксидазы (CYBA), NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы-1, миелопероксидазы (MPO), глутаматцистеина (GCL), параоксоназы в регулировании соответствующих про- и антиоксидантных ферментов и других субстратов. Из них наиболее исследованными являются гены, кодирующие SOD, CAT и GPX [М. М. Коляскина, 2011; В. А. Спицын и др., 2006]. Активность этих ферментов эволюционно и генетически запрограммирована для оптимизации баланса окислительных процессов и активности систем антиокислительной защиты.

Супероксиддисмутаза. Известно три типа супероксиддисмутазы: цитозольная (Cu/Zn-SOD; SOD1), митохондриальная (Mn-SOD; SOD2) и внеклеточная (EC-SOD; SOD3). SOD1 локализуется в ядре, цитоплазме. Ген *SOD1* человека, расположен на длинном плече 21-й хромосомы и регулирует выработку фермента супероксиддисмутаза 1.

Известно более 150 мутаций гена *SOD1*. Это преимущественно точечные мутации, характеризующиеся заменой одной аминокислоты из 153 аминокислотных белковых остатков.

Наиболее изучен полиморфный вариант G7958A (rs4998557) гена *SOD1*, при котором происходит замена гуанина на аргинин в 7958 последовательности нуклеотида.

Носительство минорного аллеля сопровождается снижением активности кодируемого фермента на 50%, что ассоциировано с риском развития бокового амиотрофического склероза, онкологических заболеваний различной локализации, с повышенным риском возникновения катаракты среди китайского населения.

В исследовании К. Mohammadi выявлена клинически значимая роль полиморфизма 13228C>T (rs1041740) с заменой цитозина на тимин в последовательности нуклеотида и полиморфного варианта 15069T>G (rs17880135) с заменой тимина на гуанин в развитии сердечно-сосудистой патологии и нефропатии при инсулинозависимом сахарном диабете.

Марганецзависимая супероксиддисмутаза (SOD2) располагается в митохондриях. Описано около 60 однонуклеотидных мутаций гена *SOD2*. Активность СОД2 может отличаться до 56 раз у носителей разных аллельных вариантов гена, кодирующего данный фермент.

У носителей T/C- и T/T-вариантов активность фермента выше на 33% по сравнению с носителями C/C-варианта. Наиболее полно исследован данный полиморфный вариант *SOD2* в генезе онкологических заболеваний, нейродегенеративных состояний, обусловленных повреждающим действием

на клетки оксидативного стресса.

Носительство супружеской парой аллельного варианта *CC* связано с развитием ранних репродуктивных потерь.

Полиморфизм *Ala16Val* (замена аланина на валин в 16-м положении последовательности пептида) ассоциирован с онкологической патологией: раком молочной железы, яичников, предстательной железы и легких, развитием гепатита *C*, ИБС.

Внеклеточная супероксиддисмутаза (*SOD3*) представляет собой тетрамономер, содержащий в каждой субъединице по одному атому меди и цинка. Наиболее изучен полиморфизм *Arg213Gly* гена *SOD3*, замена аргинина на глицин в 213-м положении полипептидной цепи. Этот полиморфизм ухудшает связывание *SOD3* с поверхностью клеток. Вызывает увеличение риска развития ИБС и ишемических цереброваскулярных заболеваний, связанных со снижением активности ферментов АОЗ.

Существует связь носительства гомозиготного минорного аллеля *GLY213* со снижением функциональной активности легочной ткани.

Каталаза — один из основных ферментов разрушения АФК. Экспрессия гена *CAT* и активность каталазы (гемопроtein — фермент класса оксиредуктаз) регулируется содержанием H_2O_2 . Известно несколько аллельных вариантов этого гена, ассоциированных со снижением каталитической активности фермента.

Наиболее изученным является полиморфизм *C262T* (*rs1001179*) в промоторной области гена каталазы. Данная нуклеотидная замена приводит к снижению экспрессии гена каталазы. Распространенность минорного аллеля *T* полиморфизма *C262T* гена *CAT* в разных популяциях мира варьирует от 3,4 до 23,9%. Наибольшая частота зарегистрирована в европеоидных популяциях (немцы, поляки), минимальная — у монголоидов.

Генотип *C/C* оказывает протективное действие в отношении развития ИБС. Генотип *T/T* является маркером повышенного риска развития неинсулинозависимого сахарного диабета, ИБС, при этом риск стенокардии у носителей данного генотипа увеличивается в 7 раз.

Носительство генотипов *T/T* и *G/T* предрасполагает к развитию рака молочной железы на фоне заместительной гормональной терапии у женщин в постменопаузе. Однако, присутствие минорного генотипа *T/T* может снижать риск развития невриномы слухового нерва.

Глутатионпероксидаза (ГП). Генетическая изменчивость семейства глутатионпероксидаз лежит в основе межиндивидуальной вариабельности метаболизма высокотоксичных продуктов свободнорадикального окисления. ГП способствует реакции взаимодействия перекисных радикалов друг с

другом с образованием воды и кислорода.

Существует 8 изоформ глутатионпероксидаз (GPX1-GPX8), отличающихся по локализации в клетке и по субстратной специфичности. Глутатионпероксидаза 1 является наиболее распространенной формой фермента, находящейся в цитоплазме практически всех тканей млекопитающих.

Ген *GPX1* состоит из двух экзонов. В литературе описано шесть вариантов полиморфизма гена *GPX1*, однако наибольшее доказанное клиническое значение несет аллельный вариант гена 5958C>T с заменой цитозина на тимин в структуре нуклеотида (Pro198Leu, rs1050450), при котором происходит замена пролина на лейцин в первичной структуре белка, в результате возникает полный либо частичный дефицит фермента. Полиморфизм *GPX1* вносит существенный вклад в формирование многих мультифакториальных заболеваний, таких как онкологические, нейроэндокринные расстройства, состояния, связанные с повреждением клеток в условиях оксидантного стресса.

Наиболее изученным является полиморфизм Pro198Leu. Установлено, что у носителей минорного аллеля 198Leu (наличие лейцина в 198-м положении полипептидной цепи) ферментативная активность глутатионпероксидазы на 40% ниже, чем у носителей аллели дикого типа *198Pro* (пролин в 198-м положении). Частота гетерозигот Pro198Leu выше среди больных аллергической БА мужчин. Сравнительный анализ распределения аллелей полиморфизма Pro198Leu гена *GPX1* в разных популяциях мира указывает на значимые межпопуляционные различия. Минорный аллель Leu реже встречается у представителей монголоидной расы (японцы) при практически равной частоте в европеоидной и негроидной популяциях.

Изучено три полиморфных варианта гена *GPX2*: 14362 A/G (rs4902346), при котором происходит замена аденина на гуанин, вариант 714 C/T (rs2737844) с заменой цитозина на тимин и 444 A/G (rs2071566) с заменой аденина на гуанин.

Установлена взаимосвязь носительства минорных генотипов G/G (rs4902346) и G/G (rs2071566) с риском развития предраковых заболеваний пищевода. Одним из 8-ми вариантов полиморфизма гена *GPX3* является 994A>G (rs3805435) с заменой аденина на гуанин в 994-й позиции нуклеотидной последовательности. Носительство варианта G ассоциировано с пониженным риском развития дифференцированного рака щитовидной железы среди китайского населения. Доказано повышение риска развития ишемического инсульта у подростков при носительстве минорного аллеля T/T полиморфизма 129 C/T (rs8177412).

Из пяти аллельных вариантов гена *GPX4* при замене тимина на цитозин в 718-й позиции: носительство генотипа *CC* значительно снижает активность ГП4, что приводит к повышенной уязвимости организма в условиях оксидантного стресса, развитию инсульта у больных гипертонической болезнью. Полиморфные варианты генов *GPX2*, *GPX3* и *GPX4* участвуют в формировании риска развития злокачественных опухолей.

Глутатионредуктаза (GSR). Ген *GSR* обеспечивает экспрессию данного фермента. Полиморфизм гена *287G>A*, при котором происходит замена гуанина на аденин, приводит к снижению минеральной плотности костной ткани у женщин в постменопаузе.

Отмечена взаимосвязь полиморфных вариантов гена *GSR* с риском развития рака молочной железы.

На основе генотипирования 20 полиморфизмов (SNP-маркеры) 15 генов ферментов АОС: *GPX1* (P198L), *GPX2* (G173V), *GPX3* (T39T), *GPX4* (T2650C), *SOD2* (A16V), *SOD3* (A40T), *CAT1* (-21A/T,-262C/T), *NQO1* (R139W, P187S), *CYBA* (C242T, A640G,-930A/G), *GCLM* (-588C/T,-23G/T), *MPO* (-463G/A), *FMO3* (E158K), *GSR* (T/C), *TXNRD1* (C/G) и *PRDX1* (C/A), 12 полиморфизмов 8 генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, обладающих антиоксидантной активностью: *CYP1A1* (I462V, T6235C), *CYP2E1* (-1259G/C, 7632T/A и 9896C/G), *PON1* (Q192R), *PON2* (S311C), *EPHX1* (Y113H, H139R), *GSTM1* (+/0), *GSTT1* (+/0) и *GSTP1* (I105V), 12 ДНК-маркеров 6 генов, ассоциированных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки: *PI* (M/S, M/Z, 1236G/A), *PGC* (I/D), *TGF1* (L10P, R25P, C-509T), *EGF* (+61G/A), *TNF* (-238G/A,-308G/A,-863C/A) и *IL1* (-511C/T); с бронхиальной астмой – 12 ДНК-маркеров 9 генов: *IL1* (-511C/T), *IL3* (S27P,-15G/T), *IL5* (C-703T), *IL5RB* (G1972A), *IL9* (T113M), *IL13* (-1111C/T), *GG16* (A38G), *PI* (M/S, M/Z, 1236G/A) и *TNFa* (-308G/A); с гипертонической болезнью – 11 ДНК-маркеров 8 генов: *ADD1* (G460W), *GNB3* (G272S, C825T), *NOS3* (E298D,-786T/C), *AGT* (T174M, M235T), *AGTR1* (1166A/C), *ACE* (I/D), *TGFb1* (R25P) и *MLR* (A4582C), показано, что гены ферментов антиоксидантной системы (*GPX1 P198L*, *GPX4 +26501>C*, *GSR T/C* и *CYBA 640A>G*) вызывали фенотипические эффекты, которые проявлялись не только в ассоциациях с различными патогенетическими формами МФЗ (бронхиальная астма, ИБС, язвенная болезнь и др.), но и зависели от времени манифеста болезней и полового диморфизма [М. А. Солодилова, 2009]. Подавляющее число установленных ассоциаций с МФЗ включало взаимодействия генов ферментов АОС с известными генами предрасположенности к рассмотренным патологиям.

К гену, кодирующему цитозольный фермент АОС НАДФ(Н) хинон оксидоредуктазу-1, участвующую в блокаде окислительно-восстановительных

процессов образования свободного радикала семихинона и АФК, относится *NQO1*. Генотип 609*СТ и аллель С полиморфного локуса 609С>Т гена *NQO1* является маркером повышенного риска хронического лимфолейкоза (А. Б. Бакиров и др., 2011). Вариант этого гена, характеризующийся однонуклеотидной заменой цитозина на тимин 800 в 609-м положении (609С>Т, rs1800566), ассоциирован с повышенной чувствительностью индивидов к воздействию бензидина. Генотип Т/Т (С609Т) целесообразно использовать для ранней диагностики развития тяжелого течения хронической сердечной недостаточности, а G аллеля — в качестве протективного фактора [Е. Н. Березикова, 2014].

В регуляции АОС принимает редокс-чувствительная система Nrf2/Keap1/ARE, которая контролирует экспрессию большой группы генов, защищающих клетки от оксидантов, электрофилов и генотоксических соединений [В. О. Ткачев и др., 2011; С. Е. Rockwell et al., 2012].

Nrf2, находящийся в клетках под постоянным контролем репрессорного белка Keap1, является «молекулярным сенсором» изменения внутриклеточного гомеостаза, содержит в своих промоторах антиоксидант-респонсивный элемент ARE (antioxidant respons(iv)e element). Nrf2/ ARE-регулируемые гены кодируют ферменты детоксикации и экспорта из клеток ксенобиотиков и токсичных продуктов метаболизма, ферменты репарации (утилизации) поврежденных макромолекул; ферменты АОС. Сигнальная система Nrf2/Keap1/ARE также подавляет зависимую от цитокинов индукцию провоспалительных генов, восстанавливая Th1/Th2-баланс, снижает продукцию активных форм кислорода.

В таблице 6.1 представлены некоторые аллельные варианты генов, кодирующих ферменты АОС, связанные с риском (резистентностью) развития различных патологических состояний.

Отмечено наличие этнической дифференциации распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов ферментов антиоксидантной защиты [Л. З. Ахмадишина, 2007; Л. И. Колесникова и др., 2013]. Так, носительство Т аллеля *NQO1* (С609Т) повышает риск хронических заболеваний легких у русского населения.

Например, имеется дифференциация распространенности генотипов и аллелей полиморфизма Ala6Val гена *SOD2*: среди европеоидов частота встречаемости аллеля Ala статистически значимо выше, у монголоидов. Выявлено увеличение в 1,5 раза риска реализации ИБС и ишемических цереброваскулярных заболеваний у жителей Дании — носителей полиморфизма Arg213Gly гена *SOD3*.

Таблица 6.1 – Некоторые аллельные варианты генов, кодирующих ферменты антиоксидантной системы, связанные с риском развития патологии

Ген (белок)	Аллель (генотип)	Предрасположенность (резистентность) к патологии
SOD2 (сукцинатдегидрогеназа)	C (T/C и C/C)	Онкологические заболевания, гипертоническая болезнь, нейродегенеративное состояние, дилатационная кардиомиопатия,
CAT (каталаза)	T (T/T и C/T); G (G/G)	Заболевания сердечно-сосудистой системы, бронхиальная астма, неинсулин-зависимый сахарный диабет, язвенный колит, рак молочной железы, рак простаты
	A (A/A)	Заболевания сердечно-сосудистой системы у курильщиков и злоупотребляющих алкоголем, детское
	T (T/A и T/T)	Протекторный эффект отсутствия заболеваний сердечно-сосудистой системы у мужчин, ведущих здоровый образ жизни
GPX4 (глутатионпероксидаза)	T (C/T и T/T)	Рак молочной железы, церебральный инсульт у больных эссенциальной гипертензией, остеоартропатия
	C (C/C)	Колоректальный рак, повышенный уровень лейкотриенов
GCLC (глутаматцистеинлигаза)	T (T/T)	Сахарный диабет 1 типа, ИБС
CYBA (НАДФН-оксидаза)	T(T/T) (640AA) (C242T)	ИБС, язвенная болезнь. Долгожительство (женщины)
NQO1 (NAD(P)H - хинон оксидоре-дуктаза)	T (C/T)	Хроническая обструктивная болезнь легких
NRF2 (транскрипционный фактор)	T (T/T)	Рак легких у курильщиков. рак молочной железы, венозный тромбоз
	A (A/A)	Рак молочной железы

Таким образом, АОС предупреждает большинство эффектов, вызываемых АФК и оксидативной модификацией макромолекул, в том числе уменьшает активность факторов (NF-κB), участвующих в транскрипции многочисленных цитокиновых и иммунорегуляторных генов. Антиоксиданты также снижают экспрессию протоонкогенов и апоптоза, действие гормонов, влияющих на факторы роста клеток, что обуславливает снижение токсических эффектов канцерогенов и других ксенобиотиков. Полиморфизм генов, участвующих в регуляции деятельности про- и антиоксидантных систем, существенно влияет на индивидуальную предрасположенность (устойчивость) к развитию химически обусловленной патологии.

7. ОСОБЕННОСТИ ЗАВИСИМОСТИ «ДОЗА — ЭФФЕКТ» БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В МАЛЫХ ДОЗАХ

Основополагающей закономерностью отмеченных в токсикологии и фармакологии явлений, является то, что большей дозе токсиканта соответствует, как правило, большая выраженность биоэффекта. Однако при изучении проявлений воздействия биологически (и физиологически) активных веществ получены неожиданные результаты наличия эффекта в области малых и субнижких (сверхмалых) доз или концентраций.

Сведения о фактах парадоксальных биологических откликов организма на физиологически активные вещества, воздействующие в малых и субмалых (общепринятый термин: сверхмалые дозы — СМД) дозах и концентрациях, сначала вызвали недоверие. Вместе с тем наличие лечебного или неблагоприятного действия БАВ в СМД уже не вызывает сомнений, хотя механизм этого явления не раскрыт.

Еще в древности царь Митридат систематически принимал небольшие дозы ядов, чтобы избежать острого отравления. Феномен митридатизма основан на формировании выносливости (устойчивости/толерантности или привыкания/адаптации) к химическим веществам (яду, лекарству и пр.) при предварительном их применении в малых дозах [В. Б. Прозоровский и др., 2004; А. И. Хавкин и др., 2006].

В настоящее время эффект действия различных веществ в малых и субмалых дозах стал предметом не только дискуссии, но и обстоятельных исследований специалистов в области фармакологии и токсикологии [В. В. Булатов и др., 2002; Е. Б. Бурлакова, 2000, 2010; С. В. Зенин, 1999; Н. П. Пальмина, 2009; О. М. Плотникова, 2011; В. Р. Рембовский и др., 2008; J. Benveniste et al., 1988; E. Davenas et al., 1987].

Оценка роли ксенобиотиков в малых и СМД в детоксикации или, наоборот, возможности формирования вредных, например, отдаленных эффектов (развитие канцерогенеза), требует анализа, систематизации полученных результатов экспериментальной токсикологии.

Феномен изучения действия биологически активных веществ в малых и сверхмалых дозах представляет трудно решаемую проблему на современном этапе развития медицинской науки. До настоящего времени рядом ученых гомеопатия считается лженаукой, лечебное действие гомеопатических препаратов объясняется эффектом «плацебо».

Воздействие токсикантов в СМД в условиях научного эксперимента было показано в конце XIX века (R. Arndt, D. Lehrbuch, 1883). В 20-е годы XX века был убедительно доказан значительный защитный эффект микродоз токсических веществ [А. А. Комиссаренко, Л. В. Сальчева [Электронный ресурс]; этот феномен в конце прошлого века ученые Центральной токсикологической лаборатории Великобритании обозначили как «гормезис».

Изучая гормезис, исследователи приходят к выводу, что любой фактор физической, химической или биологической природы может выступить в роли стимулятора, если он будет использован в дозе, значительно меньшей, чем токсичная. Стимулирующие гормезис соединения иницируют адаптивную стресс-реакцию, обеспечивающую формирование устойчивости клеток и организмов к высоким (обычно губительным) дозам того же агента.

Описано значительное число экспериментов, в которых использование минимальных доз ионизирующего излучения, отрицательно заряженных частиц, различных токсичных компонентов пищевых продуктов, антибиотиков или инсектицидов, приводило к стимуляции роста, увеличению процента выживаемости, снижению случаев опухолеобразования, снижению процента поражения инфекциями и позитивному изменению других параметров жизнедеятельности различных видов живых существ.

Из отечественных авторов, впервые обративших внимание на парадоксальную реакцию СМД, следует выделить Н. П. Кравкова (1924). В серии экспериментов по изучению действия адреналина, гистамина, солей тяжелых металлов и других БАВ на сосуды кроличьего уха он выяснил, что «понятие о соотношении силы действия ядов с их дозой и концентрацией в живых тканях весьма условно и что при известных условиях яд в более слабых разведениях может оказывать даже наибольшее действие».

Автором показано, что при повышении разведений яды постепенно утрачивают свое действие, и, наконец, появляется нейтральный период, т.е. период полного бездействия (мертвая зона). Для ядов различного фармакологического характера этот нейтральный период наступает при различных концентрациях, установить которые с приблизительной точностью можно только для данного вещества и для данного объекта исследования, затем при дальнейшем разведении наступает эффект сужения или расширения сосудов в зависимости от индивидуальной чувствительности сосудов кроличьего уха.

Все исследованные вещества (алкалоиды, гликозиды, наркотические вещества жирного ряда, металлы, соли тяжелых металлов и др.) оказывали как бы одинаковое, неспецифическое для каждого из них, действие. Эффекты зависели от индивидуальной чувствительности кроликов на конкретное

воздействие.

По данным токсикологических исследований ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, выявлено наличие эффекта (изменение отдельных иммунологических, биохимических показателей, лазерно-корреляционной спектроскопии – ЛКС) через месяц и более после прекращения длительного воздействия некоторых экотоксикантов (VX, синтетические углеводороды) на уровне ПДК и ниже [Е. Б. Туржова и др., 2008; В. Р. Рембовский и др., 2008]. Данный факт не наблюдался после воздействия этих веществ на пороговом уровне. Методом ЛКС определены случаи более выраженных сдвигов ЛК-спектров сыворотки крови при действии токсикантов в низких концентрациях, чем высоких (острая интоксикация ипритом, люизитом и др.).

Материалы цитоморфологических исследований влияния компонентов БСМ зарина, зомана и VX в опытах *in vivo* и *in vitro* (О-изопропилметилфосфонат, О-пинаколилметилфосфонат, О,О-диизобутилметилфосфонат, моноэтанол-амин, N-метилпирролидон) показали, что эти продукты УХО ФОВ в концентрациях 1×10^{-4} – 1×10^{-21} М при длительном введении *in vitro* и при воздействиях *in situ* вызывают статистически значимые изменения тучных клеток брыжейки и агранулоцитов периферической крови [Е. И. Малочкина и др., 2004]. В организме отмечено усиление дегрануляции клеток брыжейки при введении компонентов БСМ ФОВ в дозах дозы 10^{-4} – 10^{-11} М. При этих дозах *in vitro* наблюдалось выраженное усиление клеточного функционирования, сопровождающееся уменьшением клеток «покоя» и увеличением количества активированных и погибших клеток.

Цитоморфологические изменения могут быть связаны с продукцией мононуклеарными клетками (моноцитами, лимфоцитами и тучными клетками) иммуноглобулинов и секрецией цитокинов. Авторы отметили, что компоненты изученных БСМ ФОВ в концентрациях 1×10^{-6} – 1×10^{-22} М незначительно влияли на активность холинэстераз и нейротоксической эстеразы. Характер влияния каждого вещества на ферменты отличался в зависимости от вещества и концентрации полимодальностью изменений (стимулирование, ингибирование или отсутствие эффекта).

По данным Т. Я. Дворчик (2006), у работников бывшего производства зарина и зомана (в том числе у лиц, подвергавшихся воздействию данных ОВ в концентрациях ниже ПДК р.з.; при нештатных ситуациях — не выше порогового уровня) отдаленные эффекты проявились в виде статистически значимых изменений показателей липопротеинового метаболизма и ЛК-спектров (синтетически направленные сдвиги, свидетельствующие о предрасположенности к аутоиммунной патологии) крови, которые имеют индивидуальный характер.

Экспериментально при п/к введении выявлена бимодальность эффекта конечного продукта деструкции ФОВ — метилфосфоновой кислоты, характеризующаяся повышением процессов перекисного окисления липидов и белков, снижением антиоксидантной защиты, как в высоких (2 мг/кг и 1×10^{-3}), так и в малых (1×10^{-12} и $1 \times 10^{-15} \text{ мг/кг}$) дозах [О. М. Плотникова, 2011].

После прекращения работ с VX у персонала отмечен максимальный за весь период наблюдения апостериорный (реальный) риск развития отдаленных последствий, достигавший сверхвысокой степени [Л. А. Могиленкова и др., 2011]. Однако потенциальный риск в этот период отсутствовал, а в пусконаладочный период он был сверхвысоким, в период промышленного получения VX — преимущественно малым.

Исходя из анализа риска здоровью, причиной риска развития хронических профинтоксикаций во время промышленной наработки и особенно их отсроченных проявлений, характерных для действия ФОВ, может быть не только случаи острых и хронических отравлений VX, но и низкоуровневое влияние (в субпороговых концентрациях) VX и продуктов его деструкции на организм.

Интересна также работа Н. А. Лошадкина и соавт. (2002) о проведении анализа развития массовых заболеваний «неясной этиологии», которые отметили необходимость изучения воздействия малых доз и концентраций биологически активных веществ, в том числе и ОБ, подлежащих уничтожению, на фоне действия других неблагоприятных факторов малой интенсивности.

Таким образом, имеющиеся сведения свидетельствуют, что эффект СМД сложен и многообразен.

При освещении проблемы воздействия БАВ в малых и сверхмалых дозах следует определиться с терминологией, отражающей данный эффект.

С самого начала необходимо различать 2 уровня наблюдения упомянутых эффектов. Первый — популяционный, второй — ниже популяционного.

Популяционный уровень может проявиться при гетерогенности исходной популяции, например, в результате полиморфизма основных мишеней воздействия. Из-за чего две субпопуляции реагируют на стимул в различных областях шкалы доз.

Большинство публикаций, посвященных эффекту сверхмалых доз, касается изолированных ферментных и рецепторных систем, в основном определяющих тканевую, субклеточный и клеточный уровни иерархии [Е. Б. Буракова и др., 2000; Н. А. Лошадкин, 2002; Г.Н. Шангин-Березовский и др., 1980; В. П. Ямскова, И. А. Ямсков, 1999; И. А. Ямсков и др., 1999]. Выделяют следующие субклеточные уровни:

- атомарный уровень;
- молекулярный уровень с ковалентными связями между атомами;
- супермолекулярные системы с определенными стехиометрическими

связями и многокомпонентными супрамолекулярными ансамблями супрамолекулярных систем.

Полагают, что с уменьшением концентрации растворов происходит образование наноассоциатов, зависящих от иницируемого вещества [Е.Б. Бурлакова, 2010]. В растворах фиксируется концентрационно-ассоциируемое образование супрамолекулярных нанообразований. Эти образования влияют на свойства биосистем. Изменяется микровязкость и электропроводность растворов в зависимости от нанообразований. Поэтому только использование физико-математических методов позволяет исследовать зависимость биосистемы от состояния раствора.

Сопоставление на организменном уровне эффектов сверхмалых доз БАВ и физических факторов низкой интенсивности с эффектами наночастиц, выявило аналогичные закономерности действия доза — эффект. Так, с размером, влияющим на реакционную способность, связаны такие физико-химические свойства наночастиц, как изменение температуры полиморфных превращений, увеличение растворимости, сдвиг химического равновесия. Аналогичные закономерности в структурных характеристиках обнаруживаются и для БАВ в сверхмалых дозах.

Переход от макроразмеров к размерам 1-100 нм приводит к появлению качественных изменений в физико-химических свойствах отдельных соединений и получаемых на их основе систем; на поверхности биологических мембран образуются зародыши новой структурной фазы и отмечается их последующий рост.

Исходя из физико-химических свойств БАВ, следует определиться с областями их действия в зависимости от дозы. Зависимость действия БАВ может быть аппроксимирована обратной конусообразной кривой, весьма распространенной в биологии и биохимии. При этом можно выделить несколько принципиально различных областей в зависимости от дозы (концентрации):

- токсического действия;
- компенсаторного избытка;
- пробиотическая область (оптимального соотношения);
- компенсаторного дефицита;
- абсолютного жизненного дефицита.

Наиболее приемлемой для жизнедеятельности является пробиотическая область. Выход за ее пределы приводит к стрессовым ситуациям с возможным последующим развитием патологии.

Явления токсического воздействия химикатов широко изучены в XX веке, а эффекты, возникающее в области дефицита химического вещества, в стадии формирования различных гипотез.

Общепринято, что малыми дозами в настоящее время считаются подпороговые, субтоксические дозы, не вызывающие острых моментальных и

явных клинических признаков. Дозы ниже пороговых являются базовыми для разработки гигиенических нормативов. Область физиологических концентраций составляет до 10^{-9} М включительно.

По характеру взаимодействия ксенобиотиков с биомишенями целесообразно выделить следующие зоны действия малых доз (концентраций) и СМД:

Малые дозы

— от пороговых доз (концентраций) до 10^{-9} М (физиологические концентрации; возможны донозологические изменения);

— от уровня 10^{-9} до 10^{-12} М (дозы сродства к специфическим мишеням).

Сверхмалые дозы

— от 10^{-13} (10^{-15}) до 10^{-23} М (отсутствие понятия концентрация).

Гомеопатические дозы

— 10^{-24} М и менее (отсутствие молекул вещества в растворе – мнимые концентрации).

Данная градация основана на изучении биокинетических процессов химических веществ в организме, позволяет выявлять характер и степень выраженности изменений при действии химических токсикантов и в области ниже пробиотического эффекта.

Представляется целесообразным обсудить особенности реализации зависимости «доза — эффект» с позиций ферментативной кинетики, так как практически любой ксенобиотик (в том числе ЛС) трансформируется в метаболит с участием энзимов, вернее их кластеров, а также для случаев взаимодействия «агонист — рецептор».

В большинстве случаев ферментативная трансформация ксенобиотиков предполагает уменьшение токсичности (детоксикация), хотя описан и такой феномен, как «летальный синтез».

Особое значение в рассматриваемом явлении имеет место вариабельность зависимых кинетических параметров при различных значениях концентрационных факторов. Несложный анализ уравнений ферментативных констант представляет выявить такую возможность.

Действительно, из уравнения Михаэлиса-Ментен:

$$V = \frac{V_m}{1 + K_m / [S]},$$

где: V – начальная скорость ферментативной реакции;

K_m – константа Михаэлиса;

$[S]$ – концентрация субстрата;

V_m (V_{\max}) – максимальная скорость реакции, следует,

что при $[S] \rightarrow \infty$: $V \rightarrow V_{\max}$; при $[S] \rightarrow 0$: $V \rightarrow 0$.

При этом, в области больших концентраций текущая скорость ферментативной реакции практически не зависит от концентрации субстрата. V

принимает значение V_{\max} и определяется только количеством активных центров. Зависимость показателей от текущей концентрации субстрата существенно нарастает при уменьшении ее значений.

Следовательно, оценка индивидуальных ферментативных реакций, отводимая сродству субстрата к активному центру, более оправдана в области концентраций субстрата, удаленных от насыщающих, в том числе малых уровней, а также от особенностей сродства рецепторов к лигандам.

Нижняя граница эффективности дозы вещества, действующего по обычным механизмам рецепции, лимитируется минимальным количеством биомишеней, подлежащих связыванию веществом.

Установлено, что концентрации различных рецепторов в однотипных мишенях не очень сильно различаются и, как правило, лежат в пределах одного порядка [И. П. Ашмарин и др., 1999].

В таблице 7.1 приведены действующие дозы наиболее токсических веществ непептидной структуры и наиболее активных лекарственных веществ.

Таблица 7.1 – Вещества с высокой физиологической активностью

Вещество	Характер физиологического действия	Основная биомишень	Вид	Показатель активности	
				категория доз	действующая доза, мг/кг
Зарин	смертельный яд	ацетилхолинэстераза	человек	LD ₁₀₀ , в/м токсическая, в/в	0,03 0,002
Зоман	смертельный яд	ацетилхолинэстераза	мышь кошка	LD ₅₀ , в/бр LD ₅₀ , в/в	0,45 0,004
Батрахотоксин	смертельный яд	Na ⁺ - каналы	мышь	LD ₅₀ , в/м	0,005
ЛСД	галлюциноген	рецепторы Ser.	человек	ED100, p/os	0,002
Карфентанил	Анальгетик	опиатные рецепторы	крыса	LD ₅₀ , в/в	0,0006
Карбахолин	М-холиномиметик	М-холинорецепторы	человек	лечебная доза, в/в	0,0007
Атропин	М-холинолитик	М-холинорецепторы	человек	лечебная доза, в/м	0,0035- 0,007
Лизурид	антиспастическое действие	рецепторы Ser.	человек	лечебная доза, p/os	0,00036
Клофелин	гипотензивное действие	рецепторы адреналина	человек	лечебная доза, внутри	0,001

Примечание: в/м – внутримышечно, в/бр – внутрибрюшинно, в/в – внутривенно, p/os – через рот.

Все представленные вещества можно разделить на 3 группы: I – смертельные яды, нижний предел летальной дозы которых $10^{-3} - 10^{-2}$ мг/кг соответствует молярной концентрации в организме $10^{-9} - 10^{-8}$ М; II – токсиканты несмертельного действия, вызывающие физиологические эффекты в дозах $5 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}$ мг/кг и выше ($10^{-10} - 10^{-9}$ М); III – лекарственные средства, эффективные в дозах $10^{-4} - 10^{-3}$ мг/кг.

Концентрации (дозы) вещества $1 \cdot 10^{-9} - 1 \cdot 10^{-12}$ М можно отнести к малым, но действующим на специфические рецепторы, потому что высокоактивные вещества, действующие в концентрациях $10^{-9} - 10^{-12}$ М и ниже, обладают высоким сродством по отношению к специфическим мишеням. Число таких молекул, введенных в организм, сравнимо с количеством рецепторов, чтобы проявился физиологический эффект.

Сходство в концентрации различных рецепторов отражается в близости величин предельной активности веществ, действующих на различные рецепторы. Более высокие дозы ядов обусловлены увеличением степени блокады мишеней. Можно допустить (и это подтверждается практикой), что физиологические эффекты достигаются при оккупации лигандом 10 и даже 1% рецепторов. Тогда действующая концентрация высокоактивных веществ достигает 1×10^{-10} и 1×10^{-11} М соответственно. Основываясь на приведенных рассуждениях Ф. Е. Духовича и соавт. (1999), названные концентрации предлагают в качестве абсолютной границы между обычными и сверхмалыми дозами.

В качестве главного критерия оценки эффективности концентраций предлагается сродство клеточных рецепторов своим лигандам, которое характеризуется константой диссоциации K_d лиганд-рецепторного комплекса (численно равной концентрации лиганда, при которой оккупируются 50% рецепторов). Большинство известных лиганд-рецепторных взаимодействий характеризуется величинами $1 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-12}$ моль/л. Например, средняя концентрация рецепторов в центральной нервной системе составляет $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л.

Для большинства ферментов K_d находится в области $1 \times 10^{-3} - 1 \times 10^6$ моль/л, а для рецепторов $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-2}$ моль/л. Снижение дозы при этом нельзя достигнуть за счет повышения афинности вещества. Поэтому, исходя из максимального сродства лигандов к рецептору, к сверхмалым дозам следует относить концентрации 1×10^{-13} М и ниже, при которых наблюдается отсутствие самого понятия концентрация.

По мнению И. П. Ашмарина и соавт. (1999): «Данные по эффективности концентрации 10^{-16} моль/л и менее вызывают недоумение и настороженность». В качестве условного пограничного состояния верхнего предела СМД он предлагает считать концентрацию 1×10^{15} моль/л. Еще более трудно определить нижний предел.

При этом основное внимание было уделено анализу пептидных рецепторов и мембранотропных соединений (табл. 7.2).

К сверхмалым дозам автор относит те концентрации и дозы, эффективность которых трудно объяснить с позиций современных положений биохимии, физической химии и молекулярной биологии: если допустить, что в ряде случаев возможность регистрации эффекта при оккупации 1% наличествующих рецепторов и застраховаться еще одной степенью, то нижний предел можно принять на уровне 1×10^{-20} моль/л.

Таблица 7.2 – Минимально действующая концентрация биологически активных веществ

Вещество	$C_{\text{мин}}$, моль/л	Эффект
НО (эндотелий сосудов, эпителий бронхов)	10^{-15}	расширение венечных сосудов
	10^{-12}	сужение коронарных сосудов
	10^{-10}	бронхоспазм
Вещество Р	10^{-14}	рост нейронов спинного мозга
Аналог АКТГ _{n-10}	10^{-12}	облегчение реакции пассивного избегания
Динорфин, морфин	10^{-14}	респираторный взрыв нейтрофилов
β -эндорфин	$10^{-14}, 10^{-18}$	активация нк лимфоцитов и антителообразования
β -эндорфин	10^{-17}	антителообразование (мышь)
РGE, метанкефалин	10^{-14}	продукция хемотаксического фактора
АГД-вазопрессин	10^{-13}	увеличение концентрации мочи
Брадикинин	10^{-16}	модуляция проницаемости сосудов
Атриапептид	10^{-12}	увеличение Na^+ -уреза
Форболовый эфир	10^{-15}	модификация мембран
Антиоксиданты	10^{-17}	влияние на активность нейронов клетки

К настоящему моменту накопилось достаточное количество экспериментальных данных о влиянии СМД на различные биологические процессы, проведено выявление и систематизация закономерностей их действия. Рассмотрим подробнее некоторые из них.

В области терапевтических доз существует определенная пропорциональная зависимость эффекта от дозы (так называемый дозозависимый эффект действия вещества), однако, характер кривой доза-эффект индивидуален для каждого препарата.

В общем случае можно говорить, что с увеличением дозы снижается латентный период, усиливается выраженность и длительность эффекта.

Вместе с тем с увеличением дозы препарата отмечается и увеличение ряда побочных и токсических эффектов.

Современная фармакология уделяет особое внимание определению границ между терапевтическим и токсическим действием веществ. Как правило, после установления минимальной действующей дозы, исследования в диапазоне более низких концентраций не проводятся. Использование линейной зависимости доза — эффект, это простой и ясный путь создания новых лекарственных препаратов.

Однако такая зависимость обнаруживается далеко не всегда: при рассмотрении воздействия малых и сверхмалых доз БАВ чаще отмечаются зависимости совсем иного рода.

Например, выявлена бимодальная зависимость «доза — эффект». Так, при снижении концентрации некоторых БАВ биологический эффект исчезает, однако при дальнейшем уменьшении концентрации (до границы 1×10^{-17} – 1×10^{-18} моль/л) — вновь возрастает до прежнего уровня. Такая зависимость была обнаружена для целого ряда соединений растительного, животного, синтетического происхождения. Причем, во всех случаях проявления такой закономерности, зоны активных концентраций были разделены зонами отсутствия активности, так называемыми мертвыми зонами. Видимо, из-за этого активность СМД не отмечалась прежде, поскольку, достигнув мертвой зоны и убедившись в отсутствии эффекта, исследователи прекращали эксперименты. Если зон активных концентраций две, то такую зависимость называют бимодальной, если же больше, то полимодальной.

Ряд авторов [Е. Б. Бурлакова и др., 1990, 1999; А. А. Комиссаренко, Л. В. Салычева [Электронный ресурс]; О. И. Эпштейн, 2008], описывая действие лекарственных веществ и других ксенобиотиков в СМД, отмечает наличие двухфазного и более эффектов. То есть, при последовательном снижении концентрации знак биологического эффекта может меняться: если вещество угнетало какую-либо функцию, то оно будет способно ее стимулировать. Фаза действия лекарства определяется дозой.

Способность организма по-разному реагировать на одно и то же вещество в зависимости от физиологического состояния лежит в основе биологических механизмов регуляции. Например, было обнаружено, что вещество, обладающее антиоксидантными свойствами, могло вызывать разнонаправленные эффекты, обусловленные функциональным состоянием мембраны: если мембранный потенциал изолированного нейрона был высоким, антиоксидант его уменьшал, если низким — увеличивал.

Наличие различных побочных эффектов у лекарственных веществ в фармакологических дозах связано как раз с отсутствием избирательности дей-

ствия. Вместе с тем важной закономерностью, наблюдаемой при воздействии БАВ в СМД на биологические объекты, является избирательность биологического эффекта в зависимости от дозы: исчезновение побочных эффектов при использовании воздействующего агента после уменьшения его концентрации до степени, позволяющей сохранить его активность.

Чувствительность организма к БАВ наследственно определена специализированными структурами — клеточными рецепторами, специфически реагирующими изменением своей пространственной конфигурации на присоединение к ним молекулы определенного химического вещества. Такое специфическое взаимодействие (связывание лиганда с рецептором) влечет за собой ряд последовательных биохимических каскадов, результатом которых является значимое изменение внутриклеточного метаболизма и, соответственно, функционального состояния самой клетки, ткани, органа или системы, чей составной частью эта клетка является.

Лигандами для рецепторов могут быть как вещества эндогенного происхождения (благодаря чему клетка реагирует на состояние внутренней среды организма — гомеостаза), так и разнообразные экзогенные вещества. Поэтому необходимо исходить из химического сродства БАВ к какой-либо структуре организма (рецептору, ферменту, белку на поверхности клеточной мембраны). Именно это сродство обуславливает биологическое действие вещества, в том числе и в сверхмалых дозах.

Вместе с тем, по нашим данным, стимулирование БАВ в малых концентрациях в отдаленный период может привести к срыву адаптации и развитию негативных последствий этого влияния на различные живые организмы [В. Р. Рембовский и др., 2008].

В настоящее время механизмы действия СМД [И. П. Ашмарин и др., 1999; Л. А. Блюменфельд, 1993; В. В. Булатов и др., 2002; Е. Б. Бурлакова, 2000; Ф. С. Духович и др., 1999; С. В. Зенин, 1999; А. А. Комиссаренко, Л. В. Салычева, 2005; Н. П. Пальмина, 2009; О. И. Эпштейн, 2008; В. П. Ямскова, И. А. Ямсков, 1999; E. Davenas et al., 1987] обосновываются на основе различных гипотез, в ряде случаев экспериментально подтвержденных. Из предлагаемых механизмов действия СМД наиболее распространены следующие:

- каскадные реакции, амплифицирующие сигнал,
- собирательные, конвергентные системы (распространены в ЦНС, простейший аналог — воронка Шеррингтона),
- концентрирование действующего вещества, сопровождающееся наличием рецепторного резерва,
- наличие высокоэффективных систем усиления сигнала (накопители и транспортеры сигнальных молекул),

- взаимодействие с суперафинными рецепторами,
- параметрический резонанс (формирование эффекта в условиях неравновесного связывания лиганда с рецептором),
- адаптационная гипотеза,
- участие иммунной системы в реакциях БАВ на низкие дозы, в частности, по типу рецепторного взаимодействия иммунокомпетентных клеток с гаптенами, в том числе мононуклеарных клеток (тучные клетки, базофилы, моноциты и др.), в регуляции цитокинов и других медиаторов межклеточного взаимодействия.

Из существующих гипотез, объясняющих возможные механизмы действия СМД, наиболее распространена идея о параметрическом резонансе. Л. А. Блюменфельд (1993) высказал эту идею как о возможном механизме действия СМД БАД на клеточном и субклеточном уровнях. Он полагает, что параметрический резонанс возникает при совпадении временных параметров запускаемых БАД внутриклеточных процессов и характерного времени подхода вещества к мишени. В результате связывания активного вещества с его мишенью фермент (рецептор) переходит в конформационно-неравновесное состояние, которое на определенной стадии релаксации обеспечивает его максимальную активность. В рамках этих представлений находит свое объяснение и наблюдаемое уменьшение активности фермента при возрастании дозы действующего вещества.

Е. Б. Бурлаковой и соавт. (2010) в основе объяснения кинетических парадоксов положены представления об аллостерическом взаимодействии каталитических центров в молекуле фермента.

Так, фермент или рецептор содержит несколько центров с разным сродством к субстрату, например, константа диссоциации для одного центра равна 10^{-13} М, а для другого — 10^{-8} М. Когда вводятся низкие дозы вещества, его молекулы преимущественно связываются с высокоэффективным центром фермента. При увеличении дозы происходит связывание вещества со вторым ферментным центром, который взаимодействует аллостерически с первым центром, понижая его сродство к субстрату, и тогда все молекулы, которые были связаны с первым центром, «сходят» с него. Снова связаться с ним они могут только после того, как концентрация препарата приблизится к значению константы диссоциации комплекса лиганда с первым центром, достигнутой под воздействием второго центра.

Авторами рассматриваются также представления о том, что биологическая система, испытывающая влияние СМД БАВ, может реагировать на первые, наиболее быстрые единичные молекулы, а не на их стационарные концентрации («момент первого достижения»).

Бимодальный (полимодальный) эффект связывают с существованием субпопуляций рецепторов, имеющих различную аффинность к действующему веществу или с субпопуляциями клеток. Наличие «мертвой зоны» может быть результатом разнонаправленных эффектов действия СМД.

Предполагается, что действие веществ в области СМД опосредуется рецепторными взаимодействиями и определяется комбинацией рецепторных ответов с различной аффинностью. При этом, если эффект определяется при больших концентрациях, то он связан с рецепторами иного типа либо с неспецифическими реакциями.

Адаптационный механизм, согласно которому эффекты малых доз объясняются аналогично объяснению эффекта хемотаксиса: изменение ответа биообъекта определяется не самой концентрацией БАВ, а градиентом концентрации в пространстве и во времени [И. П. Ашмарин, 1999].

Адаптационная гипотеза реакции биомишени на очень малые изменения концентрации вещества основана на «клеточной памяти» на ранее воздействовавшую дозу. Этот эффект характерен не только для эндогенных доз веществ, но и для ксенобиотиков.

Согласно адаптационной гипотезе механизм СМД состоит в том, что адаптация приводит к тому, что клетка реагирует не на саму действующую концентрацию вещества, а на изменение концентрации.

Предполагается, что сочетанная деятельность активированных генов различных клеток обуславливает соответствие формируемых иммуноглобулинов находящимся в организме антигенам.

При попадании ксенобиотиков в организм сигналы, несущие информацию о них, поступают в ядро нейрона и резонируют с молекулами ДНК, имеющими колебательные параметры, одинаковые с поступившей информацией. В результате экспрессии генов, контролирующей внешнюю функцию нейронов, включается реакция иммунного ответа, находящаяся под полигенным контролем главного комплекса гистосовместимости, расположенного в коротком плече 6 хромосомы.

Генетический контроль выраженности или силы иммунного реагирования, осуществляется, так называемыми, Iг-генами (immune response), локализующимися в этой же хромосоме. Избирательность реагирования определенных нейронов в иммуно-корректирующих мозговых центрах в соответствии с местом проникновения в организм ксенобиотиков определяет точную локализацию иммунного ответа, а высота вольтажа электромагнитных колебаний, воздействующих на Iг-гены HLA-комплекса, обеспечивает необходимую силу этого ответа.

Перспектива использования антител в СМД к химическим токсикантам в

терапевтических целях изложена в 8 главе.

Вместе с тем анализ материалов по изучению действия БАВ в малых и сверхмалых дозах показывает, что решение проблемы оценки их эффектов затруднено в связи с невозможностью контролировать фактические концентрации, начиная с 10^{-15} М, из-за отсутствия соответствующих аналитических методов, наличия грубых погрешностей при разведениях БАВ, с возможными флуктуациями локальных концентраций в объеме, обусловленном взаимодействием с растворителями; кроме того, разрешающие возможности современных физических методов не позволяют определить характер образовавшихся в растворах связей СМД химических веществ с растворителем, а, следовательно, и выявить тонкие механизмы реализации действия СМД *in vivo* и *in vitro*.

8. РОЛЬ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ И ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ В ДЕТОКСИКАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

До настоящего времени, несмотря на проведение мероприятий по обеспечению химической безопасности при работах с опасными химическими веществами, особенно при возникновении аварий и ликвидации их последствий, могут развиваться нарушения здоровья, включая острые и хронические отравления разной степени тяжести. Для защиты от воздействия химического фактора и поддержания гомеостаза у работающих на химически опасных объектах используются профилактические средства, в том числе antidotes, а также лечебно-профилактическое питание.

8.1 Профилактические средства

Применение профилактических средств для искусственной детоксикации должно существенно снижать риск развития последствий у лиц, получивших несмертельные поражения ОХВ [В. Б. Прозоровский и др., 2004; Санитарно-эпидемиологическое обеспечение..., 2012; В. В. Уйба, 2013].

Разработка таких профилактических средств может развиваться по следующим направлениям:

- использование и усовершенствование методов известной специфической профилактики;
- применение средств, обеспечивающих неспецифическую защиту организма преимущественно за счет активации метаболизма ОХВ;
- назначение препаратов, повышающих неспецифическую резистентность организма за счет общебиологических механизмов адаптации;
- иммунопрофилактика;
- использование СМД.

По первому направлению целесообразно использовать средства, включавшиеся в состав табельных профилактических antidotes (например, для ФОВ), и создавать новые эффективные antidotes.

Antidotes (от греч. antidotos — противоядие) — противоядия, обезвреживающие химические вещества в организме. В связи с быстротой течения интоксикации организма при действии ОХВ (особенно ОВ), antidotes часто применяются в случаях острых отравлений с возможным смертельным исходом.

Номенклатура антидотов, применяемых на территории Российской Федерации для оказания экстренной помощи пострадавшим при возможных массовых отравлениях, в основном согласуется с рекомендациями ВОЗ [В. В. Уйба, 2013].

В основе действия антидотов лежат закономерности, свойственные фармакодинамическому антагонизму.

Принято выделять следующие механизмы антагонистических отношений между антидотом (противоядием) и токсикантом, лежащие в основе предупреждения или устранения токсического эффекта [С. А. Куценко, 2004]: химический; биохимический; физиологический; основанный на модификации процессов метаболизма ксенобиотика.

Основные антидоты, используемые в клинической практике, в соответствии с данной классификацией, представлены в таблице 8.1.

Таблица 8.1 – Противоядия, используемые в клинической практике

Вид антагонизма	Противоядия	Токсикант
Химический	ЭДТА, унитиол и др.	тяжелые металлы ФОС, паракват- токсины
	Со-ЭДТА и др. азотистокислый Na амилнитрит диэтиламинофенол	цианиды, сульфиды
	антитела и Fab-фрагменты	гликозиды ФОС, паракват- токсины
Биохимический	кислород	СО
	реактиваторы ХЭ обратимые ингибиторы ХЭ	ФОС
	пиридоксин	гидразин и его производные
	метиленовый синий	метгемоглобино- образователи
Физиологический	атропин и др.	ФОС, ФОВ, карбаматы
	аминастигмин и др.	холинолитики, ТАД
	сибазон и др.	ГАМК-литики
	флюмазенил	бензодиазепины
	Налоксон	опиаты
Модификация метаболизма	тиосульфат Na	цианиды
	ацетилцистеин	ацетаминофен
	этанол 4-метилпиразол	метанол, этиленгликоль

Систематизируя современные данные о характере действия, антидоты це-

лесообразно подразделить на следующие группы [Антидоты противоядия [Электронный ресурс]; В. Б. Прозоровский и др., 2004].

1. Антидоты физического действия, например, растворители, при помощи которых ОВ КНД могут быть удалены с поверхности кожных покровов. Некоторые авторы относят к этой группе угли-адсорбенты животного и растительного происхождения, применяемые в виде взвеси внутрь при пероральном поражении ОВ типа иприта.

2. Антидоты физиологического действия производят противоположный действию ОХВ фармакологический эффект. Например, возбуждающие средства используются при парализующих ядах (аналептики — при отравлениях наркотиками, в том числе метиловым спиртом), барбитураты — при судорожном синдроме, вызванном ФОВ.

Физиологические антидоты, как правило, нормализуют проведение нервных импульсов в синапсах, подвергшихся действию токсикантов. Эти препараты не вступают с токсикантом в химическое взаимодействие и не вытесняют его из связи с ферментами.

В основе антидотного эффекта лежат или непосредственное действие на постсинаптические рецепторы, или изменение скорости оборота нейромедиатора в синапсе.

Специфичность физиологических антидотов ниже, чем у веществ с химическим и биохимическим антагонизмом.

При этом установлено: выраженность наблюдаемого антагонизма конкретной пары токсиканта и «противоядия» колеблется в широких пределах: от очень значительной до минимальной.

Антагонизм никогда не бывает полным. Это обусловлено:

— гетерогенностью синаптических рецепторов, на которые воздействуют токсикант и противоядие;

— неодинаковыми сродством и внутренней активностью веществ в отношении различных субпопуляций рецепторов;

— различиями в доступности синапсов (центральных и периферических) для токсикантов и противоядий;

— особенностями токсико- и фармакокинетики веществ.

Чем в большей степени в пространстве и времени совпадает действие токсиканта и антидота на биосистемы, тем выраженнее антагонизм между ними.

В качестве физиологических антидотов в настоящее время используют:

— атропин и другие холинолитики при отравлениях фосфорорганическими соединениями (хлорофос, дихлофос, фосфакол, зарин, зоман и др.) и карбатами (прозерин, байгон, диоксакарб и др.);

— галантамин, пиридостигмин, аминостигмин (обратимые ингибиторы

ХЭ) при отравлениях атропином, скополамином, ВЗ, дитраном и другими веществами с холинолитической активностью (в том числе трициклическими антидепрессантами и некоторыми нейролептиками);

- бензодиазепины, барбитураты при интоксикациях ГАМК-литиками (бикукуллин, норборнан, бициклофосфаты, пикротоксинин и др.);

- флюмазенил (антагонист ГАМК-бензодиазепиновых рецепторов) при интоксикациях бензодиазепинами (диазепам и др.);

- налоксон (конкурентный антагонист опиоидных β -рецепторов) — антитод наркотических анальгетиков (морфин, фентанил, клонитазен и др.).

3. Антидоты химического действия обезвреживают ОХВ в крови и тканях пострадавшего вследствие их нейтрализации или образования малотоксических либо безвредных веществ.

Антидоты с химическим антагонизмом непосредственно связываются с токсикантами. При этом осуществляется:

- химическая нейтрализация свободно циркулирующего токсиканта;
- образование малотоксичного комплекса;
- высвобождение структуры-рецептора из связи с токсикантом;
- ускоренное выведение токсиканта из организма за счет его «вымывания» из депо.

К антидотам с химическим действием относятся глюконат кальция, используемый при отравлениях фторидами, хелатирующие агенты, применяемые при интоксикациях тяжелыми металлами, а также Со-ЭДТА и гидроксикобаламин — антидоты цианидов. К числу средств рассматриваемой группы также относят моноклональные антитела, связывающие сердечные гликозиды (дигоксин), ФОВ (зоман), токсины (ботулотоксин).

Антидоты химического действия могут быть разделены на подгруппы:

- антидоты, действующие путем образования нерастворимых в воде соединений, например *Antidotum metallorum* — стабильный раствор сернистого водорода, предназначенный для выведения из желудка солей тяжелых металлов и металлоидов типа мышьяка, сурьмы в виде нерастворимых в воде сернистых соединений;

- антидоты, действующие путем окисления, в частности, водные растворы марганцовокислого калия, применяемые для промывания желудка при пероральных отравлениях ипритом, морфином, фосфором (при этом образуются соответственно сульфоксид, оксидиморфин и фосфорная кислота);

- антидоты, действующие путем восстановления, например ронгалит, или формальдегидсульфоксилат натрия, который при пероральном применении в виде раствора 1:10 осаждает токсические металлы типа ртути из различных их солей;

— антитоды конкурентного действия, которые как бы отклоняют на себя действие яда, поражающего нормальный субстрат. Так действует унитиол на мышьяк;

— антитоды, образующие комплексы с ядовитыми соединениями. Сюда относятся антитоды с клешневидными связями — так называемые хелаты, или комплексоны, например производные этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), кальций-динатриевая соль которой применяется в виде инъекций или таблеток при отравлениях солями тяжелых металлов типа свинца и редкоземельных металлов.

4. Биохимические антитоды. К ним относятся антитоды, реактивирующие ферменты, блокированные (ингибированные) различными ядами.

Биохимические антагонисты вытесняют токсикант из его связи с биомолекулами-мишенями и восстанавливают нормальное течение биохимических процессов в организме. Данный вид антагонизма лежит в основе антитодной активности кислорода при отравлении оксидом углерода, пиридоксальфосфата при отравлениях гидразином и его производными, реактиваторов холинэстеразы и обратимых ингибиторов холинэстеразы при отравлениях ФОС (ФОВ).

К реактиваторам, восстанавливающим ингибированную фосфорорганическими ядами ацетилхолинэстеразу относятся 2 ПАМ — пиридин-2-альдоксим-метиодид, ТМБ-4-1,3 бис-N-пиридиный-4-альдоксим)-пропандибромид. Реактиватор ФОС (ФОВ) «Карбоксим» обладает свойствами обратимого, неконкурентно-конкурентного ингибитора холинэстеразы, снижая скорость фосфорилирования фермента и защищая его от необратимой инактивации. В комплексе с атропином (в субэффективных дозах — 5 + 5 мг/кг) обеспечивает повышение эффективности при профилактике в 6-11 раз.

К этой группе следует отнести антитоды, вызывающие модификацию метаболизма ксенобиотиков. Модификаторы метаболизма препятствуют превращению ксенобиотика в высокотоксичные метаболиты либо ускоряют биодетоксикацию вещества.

Используемые в практике оказания медицинской помощи отравленным модификаторы биотрансформации ксенобиотиков подразделяются на:

1) ускоряющие детоксикацию

— тиосульфат натрия — применяется при отравлениях цианидами;

— бензонал и другие индукторы микросомальных ферментов мг/кг могут быть рекомендованы в качестве средств профилактики поражения ФОВ;

— ацетилцистеин и другие предшественники глутатиона — используются в качестве лечебных антитодов при отравлениях дихлорэтаном, некоторыми другими хлорированными углеводородами, ацетаминофеном;

2) ингибиторы метаболизма

— этиловый спирт, 4-метилпиразол — антитоды метанола, этиленгликоля.

5. Антитоды на основе антител к токсикантам, ранее отнесенные к противоядиям химического действия, по механизму действия являются самостоятельной группой специфических антител к химическим гаптенам.

Кроме того, антитоды подразделяют на противоядия общего и специфического действия.

В первом случае антитодами могут служить группы соединений, близких по своим свойствам. Например, *antidotum metallorum* является противоядием ряда тяжелых металлов. Антитоды типа унитиола дают положительный эффект в отношении выведения из организма ряда солей тяжелых металлов: ртути, кадмия, кобальта.

Антитоды специфического действия (например, реактиваторы холинэстеразы) являются противоядиями строго избирательного действия.

Антитоды могут быть прямого и непрямого действия. Например, глюкоза по отношению к синильной кислоте является антитодом прямого действия, она прямо воздействует на нее, образуя циангидрин.

Антитоды типа нитрита натрия, также применяемые при поражении синильной кислотой, являются антитодами непрямого действия: под их воздействием образуется метгемоглобин, который связывает синильную кислоту, превращаясь в цианметгемоглобин.

Антитоды лечебные применяют после воздействия ОХВ. Антитоды профилактические применяют за полчаса-час до предполагаемого контакта с ОХВ (ОВ).

Современные исследователи стремятся создавать комбинированные антитоды (например, сочетание холинолитических средств с реактиваторами в антитоды ФОВ).

Однако следует отметить, что применение профилактических средств типа антитодов снижает степень выраженности интоксикации, но не может гарантировать отсутствие неблагоприятных исходов у пораженных при воздействии ОХВ (ФОВ) [В. Б. Прозоровский и др., 2004].

Так, применяемые в остром периоде те или иные антитоды ФОВ, равно как и симптоматическое лечение, не оказывали влияния на ближайшие исходы легких отравлений ФОВ. В период первых пяти лет после отравления отдаленные последствия чаще регистрировались после применения афина, чем при лечении одним атропином [Л. В. Янно и др., 2002].

В качестве второго варианта профилактики, не требующего использования специфических антитодных средств, может быть назван метод повышения

устойчивости к ОХВ путем применения препаратов, активирующих микросомальные ферменты печени (фенобарбитал, бензонал).

Третье направление базируется на использовании неспецифических биологически активных средств.

К настоящему времени накоплен значительный опыт применения медикаментозных средств и биологически активных добавок для профилактики заболеваний химической этиологии и повышения работоспособности людей при воздействии профессиональных факторов. К ним относятся средства коррекции стрессовых состояний (транквилизирующие препараты различного типа действия), средства восстановления работоспособности (актопротекторы, ноотропы и др.), средства профилактики физического (протеин-спорт) и психического утомления (психостимуляторы и тонизирующие препараты).

Особое внимание уделяется стимуляторам-адаптагенам — веществам, способным повышать сопротивляемость организма к действию неблагоприятных факторов внешней среды.

Нашли широкое применение аминокислоты, участвующие в тормозных процессах — аминалон (ГАМК) и его многочисленные модификации, а также таурин и глицин.

Применение иммунотропных препаратов эффективно для коррекции иммунитета и лечения инфекционных заболеваний, обусловленных иммунодефицитом при воздействии ОХВ.

Например, отечественный препарат «Полиоксидоний» влияет на конкретные звенья иммуногенеза: активирует миграцию подвижных макрофагов тканей, их способность фагоцитировать и переваривать патогенные бактерии, повышает эффективность кооперативного взаимодействия Т- и В-лимфоцитов в реакциях антителообразования в ответ на чужеродные антигены, активируя иммунные реакции [Е. В. Дворянкова, 2002].

Одним из эффективных подходов (четвертое направление) профилактики несмертельных поражений ОХВ (ФОВ) является иммунопрофилактика.

Появились сведения о принципиальной возможности предотвращения отравлений ФОВ на основе стимуляции синтеза в организме специфических антител с применением ФОВ в качестве гаптенов [С. Renard et al., 1999].

В настоящее время для регуляции иммунного ответа на токсическое и другое патогенное воздействие используются иммунотропные препараты, которые разделяются на иммуностимулирующие, иммунодепрессивные средства и препараты, обладающие разнонаправленным действием, приводя иммунный статус к исходному, сбалансированному состоянию [Клиническая

фармакокинетика ..., 2009].

Данные иммуностропные препараты, имеющие общее название иммуномодуляторы, способствуют увеличению синтеза антител, регулируют взаимоотношения между иммунокомпетентными клетками, нормализуют иммунологическую реактивность.

Эндогенные иммуномодуляторы представляют собой большую группу олигопептидов, синтезируемых самим организмом, и способных активировать иммунную систему путем усиления функции иммунокомпетентных клеток. К ним относятся регуляторные пептиды: интерлейкины, интерфероны, гормоны тимуса.

К экзогенным иммуномодуляторам относится большая группа веществ различной химической природы и происхождения, оказывающих неспецифическое активирующее или супрессивное действие на иммунную систему, но являющихся чужеродными для организма [О. И. Эпштейн, 2008].

Наряду с естественными иммуномодуляторами используют синтетические иммуностимуляторы и иммуносупрессанты.

Для иммунокоррекции используют энтеросорбенты, антиоксиданты, витамины и микроэлементы, системные ферменты и другие БАВ, ЛС.

Установлено, что результат иммунной защиты иммуномодулятора зависит от дозы препарата, времени и схемы введения, исходного иммунного статуса, генетических особенностей организма, а также биологического объекта (человек, экспериментальное животное).

И наконец, рассматривается подход к защите от поражений на основе так называемого феномена митридатизма, базирующегося на нелинейной зависимости токсического и защитного действия ядов, при которой малые дозы могут повысить выносливость к ним в случае отравления [В. Б. Прозоровский и др., 2004].

Использование потенцированных антител в терапевтической практике представляется перспективным направлением по целому ряду причин. Во-первых, использование в качестве лекарственного средства антител в СМД к известным антигенам с хорошо изученной активностью в значительной мере облегчает процесс фармакологического скрининга. Во-вторых, исследования показали, что СМД антител даже к наркотическим средствам не вызывают привыкания и пристрастия [О. И. Эпштейн, 1999в, 2008]. В-третьих, антитела к эндогенным БАВ воспроизводят их активность в «позитивном», модифицированном виде, оказывая щадящий эффект, что позволяет осуществлять тонкое и целостное регуляторное воздействие на те или иные патологические состояния.

8.2 Профилактическое питание в детоксикации ксенобиотиков организмом

Для поддержания организма человека в здоровом состоянии и высокой работоспособности требуется соответствующее питание [В. А. Доценко, 2011; А. А. Королев, 2006; Лечебное питание [Электронный ресурс]; А. Н. Мартинчик и др., 2005; Приказ Минздравсоцразвития РФ, 2009; Эффекты возраста [Электронный ресурс]. В частности, поступление с пищей необходимых металлов (включая металлоиды) и белков, особенно серосодержащих аминокислот, необходимо для биосинтеза различных ферментов — систем детоксикации, снабжения глицином и глутатионом для реакций конъюгации с эндогенными и экзогенными соединениями. Липиды, особенно фосфолипиды, и липотропы (доноры метильной группы) участвуют в синтезе биологических мембран, в том числе защитных барьеров. Углеводы поставляют энергию, необходимую для различных процессов детоксикации, в том числе конъюгации с глюкуроновой кислотой токсичных химических веществ и их метаболитов. Витамины, входящие в продукты питания, участвуют в регуляции адаптационных механизмов, процессов обмена, а также биотрансформации, иммунокоррекции и модуляции антиоксидантных свойств организма.

Питательные вещества — нутриенты, входящие в состав пищевых продуктов, необходимые организму для обеспечения нормальной жизнедеятельности, подразделяются на макро- и микронутриенты.

К макронутриентам относятся белки, жиры и углеводы. Белки участвуют во всех процессах, происходящих в живых организмах. Белки, содержащие полный набор аминокислот, являются полноценными. Они являются основным строительным материалом для клеток и тканей. Входят в состав ферментов, обеспечивающих обмен веществ, большинства гормонов, гемоглобина, антител. Жиры выполняют пластическую и энергетическую функции. Они входят в состав клеточных мембран. При расщеплении жиров выделяется вдвое больше энергии, чем при сгорании белков и углеводов. С жирами организм получает жирорастворимые витамины А, D, E, K. Жидкие жиры — масла — содержат жирные кислоты омега-9, омега-6, омега-3. Омега-9 жиры не являются незаменимыми, они синтезируются и в нашем организме. Омега-6 и омега-3 — незаменимые жиры. Они требуются в небольших количествах и относятся к микронутриентам. Углеводы делятся на две большие группы: простые углеводы — сахара и сложные — полисахариды — крахмалы и клетчатка (пищевые волокна). Длинные молекулы-полимеры сложных углеводов состоят из простых сахаров-мономеров. Все углеводы — и простые, и сложные — в процессе обмена веществ расщепляются до своей элементарной составляющей — глюкозы. Углеводы являются основным

источником энергии для организма. Кроме этого углеводы в комплексе с белками (гликопротеины) входят в состав клеточных мембран, соединительной, хрящевой и других тканей.

Микронутрентами являются витамины, минеральные вещества, а также более 20 классов различных веществ.

Витамины относятся к жизненно важным нутриентам. Они, в основном, являются коферментами. К витаминам-прогормонам относятся витамины А и D, к антиоксидантам — С, Е, провитамин А (β-каротин). Небольшая часть витаминов синтезируется в нашем организме, большинство же должно поступать с пищей или витаминными препаратами. Витамины делятся на водорастворимые и жирорастворимые. К водорастворимым относятся витамины С, Р, группы В (В₁, В₂, РР, В₆, В₁₂, фолиевая кислота, пантотеновая кислота и биотин), к жирорастворимым относятся витамины А, D, Е, К. К витаминopodobным веществам относятся кофермент Q (убихинон), карнитин, лецитин и его составная часть холин. Микронутриенты включают макроэлементы (кальций, магний, натрий, хлор, калий, фосфор, сера, являющиеся строительным материалом белков, жиров, углеводов и нуклеиновых кислот) и микроэлементы (железо, медь, йод, хром, фтор, цинк, селен, бром, кобальт, марганец, молибден и другие химические элементы, активно участвующие в реакциях обмена веществ).

В отдельные классы микронутриентов выделены: флавоноиды (биофлавоноиды); антоцианы; катехины; кумарины; хиноны растительные; растительные индолы; изотиоцианаты; полисульфиды; терпеноиды; каротиноиды; фитостерины; ресвератролы; жирные кислоты омега-3, омега-6; растительные полисахариды; органические кислоты; фосфолипиды; фитоэстрогены; лигнаны; стероиды; сапонины; алкалоиды; а также метаболиты микроорганизмов пищеварительного тракта (включая витамины К, В₁₂, биотин).

К незаменимым компонентам пищи относятся некоторые аминокислоты, жирные кислоты, углеводы, витамины, минеральные вещества и микроэлементы, многие из которых играют важную роль и в процессах детоксикации [Т. Л. Пилат и др., 2012; Профессиональная патология, 2011; Витамины [Электронный ресурс].

Лечебно-профилактическое питание

К профилактическим средствам, выполняющим защитную функцию при работах с токсическими веществами, относится лечебно-профилактическое питание, так как биологически активные компоненты пищи выполняют пластическую, энергетическую и другие функции в организме [В. А. Доценко,

2006; А. А. Королев, 2006; Т. Л. Пилат и др., 2012; Профессиональная патология, 2011]. ЛПП обеспечивает нормальное функционирование всех органов и систем, как в обычных, так и в экстремальных условиях, а отдельные продукты, содержащие вещества, обладающие детоксическим действием, выполняют роль естественных антидотов (например, витамин В₆ при отравлении НДМГ, серосодержащие продукты при действии тяжелых металлов). Различные пищевые составляющие (содержание белка и волокон, минералов и фосфатов, лимонной кислоты и т.д.), а также количество употребляемой пищи могут существенно влиять на скорость абсорбции желудочно-кишечным трактом многих токсичных химических веществ (например, средняя скорость абсорбции растворимого свинца, употребляемого вместе с пищей, составляет около 60% у голодающих людей). Однако диета сама по себе может быть источником воздействия на человека токсичных химических веществ (например, повышенное ежедневное поступление и аккумуляция мышьяка, ртути, кадмия и/или свинца у людей, употребляющих загрязненные морские продукты). Правильно подобранные рационы ЛПП оказывают неспецифическое детоксикационное действие, к основным механизмам которого относятся [Т. Л. Пилат и др., 2012]:

- замедление абсорбции ксенобиотиков слизистыми оболочками и ускорение выведения (пищевые волокна, хитин, обволакивающие вещества и т.д.);
- прямое связывание и конкурентное взаимодействие в пределах слизистых оболочек, кожных покровов;
- влияние на метаболизм токсикантов в ЖКТ, печени и респираторном тракте:
 - индукция или ингибирование ферментов 1-й фазы детоксикации;
 - индукция ферментов 2-й фазы детоксикации;
 - антиоксидантное действие (прямое и опосредованное).

ЛПП предотвращает или снижает последствия воздействия на органы-мишени: ускоряет репарацию ДНК; влияет на клеточный цикл, дифференцировку и апоптоз, на гормональную регуляцию; компенсирует повышение энергетического обеспечения процессов детоксикации; оказывает иммуномоделирующее действие (в том числе снижение интенсивности воспаления), повышение адаптивных возможностей организма; ускоряет выведение продуктов обмена, в том числе биотрансформации ксенобиотиков.

Лица, работающие во вредных и опасных условиях труда, имеют право на бесплатное ЛПП, включенное в обязательный перечень. Лечебно-профилактическое питание обеспечивается использованием лечебно-профилактических рационов, молока, кисломолочных продуктов, пектина и

витаминовых препаратов. В настоящее время особое внимание уделяется не только специфическим нутриентам в рационах ЛПП аминокислотной и липидной природы, пре- и пробиотиков с лечебно-профилактической целью, но и внедрению новых нутрицевтиков — биологически активных добавок (витамины и витаминоподобные вещества; антиоксидантные комплексы; макро- и микроэлементы; препараты с полиненасыщенными жирными кислотами — ПНЖК классов омега-3 и омега-6; эссенциальные аминокислоты и их комплексы; препараты, содержащие источники фосфолипидов — различные варианты лецитина; пищевые волокна и др.) для коррекции иммунного статуса, повышения защитных сил организма при различных заболеваниях и повреждающих воздействиях [Нутриенты [Электронный ресурс]; В. А. Тутельян и др., 2008].

Влияние пищевых факторов на процессы биотрансформации чужеродных веществ можно рассматривать с нескольких основных позиций. Во-первых, пищевые вещества выполняют структурную функцию и непосредственно образуют ферментные системы метаболизма ксенобиотиков или служат кофакторами таких ферментов. Во-вторых, нутриенты и непищевые компоненты пищевых продуктов модифицируют активность процессов метаболизма ксенобиотиков, например, индуцируя или ингибируя монооксигеназную систему и ферменты конъюгации. В-третьих, пищевые вещества — это предшественники эндогенных доноров-субстратов конъюгации, а также субстраты ПОЛ или, напротив, антиоксиданты.

Особую роль в ЛПП играет витаминотерапия, при которой используются продукты, богатые витаминами и провитаминами, а также витамины в виде фармацевтических препаратов [Определение однонуклеотидных [Электронный ресурс]. При этом учитывается характер неблагоприятных химических и физических факторов производственной среды, возможное избирательное действие определенных витаминов. Среди витаминов, связанных с метаболизмом чужеродных веществ, важнейшими можно считать аскорбиновую кислоту, витамины РР, А, Е, В₁₂, фолиевую кислоту, а также другие коферментные витамины группы В.

Установлено, что введение чужеродного соединения снижает концентрацию аскорбиновой кислоты (витамина С) в печени и в надпочечниках, являющихся депо аскорбата. При этом содержание витамина С прямо коррелирует с концентрацией цитохрома Р450 — важного компонента системы биотрансформации чужеродных веществ. Очевидно, витамин С, обладающий окислительно-восстановительными свойствами, участвует в реакциях гидроксирования ксенобиотиков, но также не исключена его роль и в синтезе гема цитохрома Р450 на этапе образования аминолевулиновой

кислоты. Аскорбиновая кислота активирует фермент глутатион-S-трансферазу, катализирующую процессы связывания ксенобиотиков с глутатионом. Эта реакция является важным этапом в метаболизме многих лекарственных веществ и других ксенобиотиков электрофильной природы.

При работах с бензолом, ксилолом, толуолом, фосфором, свинцом, мышьяком используются детоксирующие свойства аскорбиновой кислоты. Для уменьшения интоксикации ртутью, свинцом, хлорпроизводными углеводородов целесообразно использование витаминов группы В.

Известно, что нервная система, чувствительная к действию нейротоксиантов, очень реагирует на изменения процессов метилирования. На эти процессы также сильно влияет пищевая недостаточность фолата (витамина В₉) и кобаламина (В₁₂), приводящая к истощению уровня SAM, что служит причиной демиелинизации [J. Kim et al., 2003].

Во всех процессах 1-й и 2-й фаз биотрансформации ксенобиотиков витамины участвуют и непосредственно (как коферменты реакций детоксикации), и опосредованно (через синтез компонентов микросомальной цепи окисления, других реакций детоксикации) [О применении витаминов [Электронный ресурс].

Большую роль в процессах биотрансформации ксенобиотиков играют жирорастворимые витамины, регулирующие структурную целостность мембран (микросом в том числе) и, таким образом, нормальное их функционирование.

При контакте с ОХВ для поддержания 1-й фазы метаболизма необходимо обеспечить организм белком, особенно богатым серосодержащими соединениями. В 1-й фазе метаболизма ксенобиотиков участвуют определенные ферменты, кофакторы и вещества, которые относятся к нутриентам: глутатион, аминокислоты с разветвленной цепью, флавоноиды, лигнаны, фосфолипиды, железо, марганец, фолиевая кислота, витамины В₂, В₃, В₆, В₁₂ и др. [Т. Л. Пилат и др., 2012]. Витамины и минералы (макро- и микроэлементы) существенно влияют на функционирование цитохрома Р-450, в частности, цианокобаламин и фолиевая кислота повышают содержание цитохрома Р450 в микросомах печени экспериментальных животных.

К нутриентам, участвующим во 2-й фазе биотрансформации, относятся тиолы, аминокислоты, каротин, медь, цинк, селен, глюкуроновая кислота, биофлавоноиды, изотиоцианаты, витамины А, С, Е, коэнзим Q10.

При профилактике воздействия химических веществ следует учитывать, что, хотя в процессе биотрансформации веществ в конечном итоге образуются менее токсичные соединения, многие промежуточные продукты 1-й и 2-й фаз биотрансформации могут обладать высоким гепатотоксическим

эффектом.

На 1-й стадии биотрансформации ксенобиотиков большую опасность представляет образование реактивных продуктов восстановления кислорода (свободных радикалов). Эти процессы связаны в основном с пероксидазной активностью цитохромов P450 и P448. Дисмутация супероксидного аниона, высвобождаемого при диссоциации оксидоцитохрома P-450 приводит к образованию и органических гидроперекисей. Образование перекиси водорода в изолированных гепатоцитах в условиях N-деметилирования различных веществ показано экспериментально. Оно протекает в условиях резкого истощения внутриклеточного пула восстановленного глутатиона и увеличения оттока из клетки окисленного глутатиона (GSSG), что ведет к истощению общего внутриклеточного пула глутатиона, так как нарушается цикл глутатионпероксидазной реакции восстановления GSSG в GSH. Увеличение выделения GSSG может быть связано с непосредственным взаимодействием метаболитов ксенобиотиков с GSH.

Для биосинтеза основного антиоксидантного средства — глутатиона нужны глутамат, глицин, сульфаминокислоты типа метионина или цистеина, поступающие в организм с пищей.

Для «тушения» токсичных свободно-радикальных соединений, образующихся в результате биотрансформации и иммунных реакций при поступлении в организм ксенобиотиков, необходимы и другие антиоксиданты.

Из компонентов пищи, эффективными антиоксидантами являются витамины А, Е, С, селен, цинк, марганец, коэнзим Q, лигнаны, полифенолы, флавоноиды, полиненасыщенные нежирные кислоты, изотиоцианаты.

Так, токоферол (витамин Е), снижая интенсивность перекисного окисления мембранных липидов и активируя антиоксидантную защиту при поражениях печени химическими агентами, «сохраняет» структурную целостность клеточных мембран и их функциональную активность.

Дефицит калия, магния, цинка, селена понижает активность цитохрома P-450 и изменяет влияние индукторов на эту систему. Дефицит витаминов А, Е, С, РР, В₁, В₂, В₁₂, фолиевой кислоты (В₉), холина (В₄) также приводит к снижению активности цитохром-P-450-зависимой системы и, следовательно, к снижению детоксицирующей функции тканей и органов, прежде всего печени. Цианокобаламин, фолиевая кислота повышают содержание цитохрома P450 в микросомах печени экспериментальных животных.

Следует отметить, что такие антиоксидантные нутриенты, как бета-каротин, аскорбиновая кислота, токоферол, селенсодержащие соединения, наиболее активны в природных компонентах пищи.

Немаловажное значение имеет антиоксидантная функция комбинаций

водорастворимых витаминов, тиолов, изотиоцианатов, селена, цинка, марганца, коэнзима Q10 и других нутриентов, защищающих цитохром P-450 от повреждения свободно-радикальными продуктами. Например, комбинация витаминов E, C, никотиновой, фолиевой кислот, аминокислот цистеина и метионина усиливают детоксицирующую функцию печени и способствует элиминированию токсикантов. Цианокобаламин и фолиевая кислота как коферменты трансметилирования и тесно связанный с ними метионин, донор металльных групп, влияют на метаболизм ксенобиотиков: недостаток в пище этих трех нутриентов вызывает значительное снижение концентрации цитохрома P450 в микросомах печени.

Лицам, контактирующим с ртутью, показан токоферол, который вместе с селеном (биологическим антагонистом ртути) участвует в ее детоксикации. Олигомерные проантоцианидины (полимерные формы флавоноидов из группы катехинов) благодаря особенностям химического строения способны выступать в качестве самостоятельной окислительно-восстановительной системы (хинон – семихинон – фенол), оказывая непосредственное влияние на перенос протонов и электронов [Биохимия, 2009] в процессах обмена этанола и его наиболее токсичного метаболита – уксусного альдегида.

Дефицит железа и меди подавляет активность большинства ферментов.

Избыток Fe^{2+} резко стимулирует перекисные процессы в целом. Ионы ртути, свинца, кадмия, алюминия подавляют все ферменты биотрансформации и антиоксидантной защиты.

Пищевые волокна кроме абсорбции токсикантов, способны влиять на отдельные изоформы цитохрома P450. Например, волокна какао-бобов повышают активность CYP1A2, CYP2B1, CYP2B2, пищевые отруби в большом количестве снижают активность УДФ-глюкуронилтрансферазы, глутатионтрансферазы и глутатионпероксидазы в печени подопытных животных, а в кишечнике — увеличивают активность глутатионтрансферазы. Влияя на кишечную микрофлору, пищевые волокна участвуют в снижении рециркуляции токсикантов и биоактивации метаболитов, способствуют их выведению из организма.

Имеются сведения об антиканцерогенных свойствах ретинола и каротинов, об их влиянии на химически индуцированные опухоли. Аналогичные результаты получены и в отношении витамина B₁₂ при изучении его влияния на систему микросомального окисления.

Взаимное влияние на метаболизм различных витаминов на реализацию витаминного эффекта при совместном применении осуществляется через системы регуляции, прежде всего, через гормональную систему, в результате чего их действие может потенцироваться или, наоборот, быть раз-

нонаправленным [О применении витаминов [Электронный ресурс].

Так, содержание животных на Е-авитаминовой диете вызывает снижение содержания аскорбата в крови. Дополнительное введение витамина С повышает содержание в крови токоферола и уменьшает проявления Е-гиповитаминоза. Введение же витамина Е при недостаточности аскорбата в рационе несущественно влияет на картину С-гиповитаминоза. Показано развитие С-гиповитаминоза при недостатке в пище витамина К, а также при лечении антикоагулянтами — антивитаминами К. При этом недостаток аскорбата значителен, он возникает даже у синтезирующих его животных, что следует иметь в виду и при лечении антивитаминами К. Свойства токоферола как наиболее сильного природного антиоксиданта играют важную роль в предотвращении перекисления витаминов А, F (антихолестеринового витамина, в состав которого входят ненасыщенные жирные кислоты — линолевая, линоленовая и арахидоновая), убихинона, с которыми совместно применяют витамин Е. Известен синергизм витаминов РР и В₆, очевидно, связанный с тем, что пиридоксаль необходим для синтеза и превращений аминокислоты триптофана, предшественника витамина РР.

В практике используется взаимно potenziрующий эффект цианокобаламина, фолиевой и пангамовой кислот, а также метионина в реакциях метилирования и трансметилирования. В список синергистов можно включить и аскорбиновую кислоту, которая поддерживает восстановленное состояние кофермента тетрагидрофолата (ТГФК). Совместно используются витамины, обладающие гипохолестеринемическим действием — С, РР, F, а также В₁₅, В₁₂ и фолат. Введение аскорбиновой кислоты при этом способствует превращению холестерина в реакциях гидроксирования в его производные, в частности, желчные кислоты, никотинат тормозят синтез атерогенных липопротеинов (низкой плотности), и тем помогает выведению холестерина из плазмы крови; витамин F регулирует физико-химические свойства мембран клеток, препятствует поступлению в них избытка холестерина, эстерифицирует его и способствует выведению. Кроме того, витамины В₁₅, В₁₂, Е и фолиевая кислота, участвуя в реакциях метилирования, активизируют синтез фосфолипидов и других биологически активных веществ, нормализуют обмен холестерина. Для профилактики костного поражения (кадмием) способствует эргокальциферол [Витамины [Электронный ресурс].

В рационе ЛПП лиц, контактирующих с липотропными ОХВ, следует ограничить потребление продуктов, которые содержат большое количество ПНЖК, но бедны токоферолами. Также необходимо снижение употребления соли, задерживающей жидкость в организме и, тем самым, ограничивающей выведение токсических веществ. Обильное питье обеспечивает выведение

токсических веществ из организма у лиц, занятых в производстве мышьяка, хлорированных углеводов, бензола. Повышают работоспособность человека молочно-яблочная и печеночная диеты, прием аскорбиновой кислоты и других витаминов, а также микроэлементов.

Гипосенсибилизирующий эффект рациона обеспечивают растительное масло, фосфатиды, витамины, соли кальция и магния, а также снижение содержания в пище углеводов и натрия хлорида.

В ЛПП широко используются молоко, кисломолочные напитки и другие равноценные продукты. В перечень вредных работ, дающих право на бесплатное получение молока или других равноценных пищевых продуктов (900 наименований), включены работы с различными органическими и неорганическими соединениями (углеводородами, спиртами, фенолами, металлами и их соединениями, антибиотиками, красителями и др.) при их производстве, переработке и применении. Молоко повышает общие адаптационные резервы и функциональные способности организма, ослабляет действие вредных химических, физических и биологических факторов производственной среды на печень, желудочно-кишечный тракт, слизистые оболочки верхних дыхательных путей и другие органы и системы организма, а также оказывает благоприятное действие на белковый и минеральный обмен.

В рационах учитывают противосиликозную активность творога, метионина, холинхлорида, аскорбиновой кислоты, глюкозы. Используют противифиброзный эффект глутаминовой кислоты, связывание пектином тяжелых металлов и выведение их из организма и т.д. Детоксицирующими свойствами обладают витамины в отношении ароматических углеводов, ацетона, некоторых пестицидов, свинца, сероуглерода, стабилизирующее влияние имеет селен совместно с токоферолом в отношении действия ртути на мембраны митохондрий и микросом. Уменьшение свинцовой интоксикации возможно при обогащении рациона кальцием. Подлежат ограничению в лечебно-профилактическом питании жирные продукты, особенно тугоплавкие жиры (говяжий, бараний, свиной), которые способствуют всасыванию токсических веществ в пищевом канале.

Роль пищевых продуктов в процессах детоксикации

Детоксицирующие эффекты питания обусловлены взаимодействием активных компонентов, к которым в настоящее время относят пищевые волокна, витамины, антиоксиданты, органические кислоты, полиненасыщенные жирные кислоты и многие другие [Клиническая фармакокинетика, 2009; Лечебное питание [Электронный ресурс];

Профессиональная патология, 2011].

В детоксикационной диете следует соблюдать следующие условия:

- 1) продукты должны быть свежими. Свежие фрукты и овощи обеспечивают организм большей частью необходимыми для детоксикации вещества – клетчатку, витамины и минеральные вещества;
- 2) большая часть пищи должна быть необработанной или только слегка обработанной;
- 3) все продукты должны быть нерафинированными и не содержать искусственных добавок;
- 4) ежедневно следует выпивать не менее 2 л жидкости;
- 5) ежедневно в рацион питания необходимо включать специальные натуральные очищающие продукты (1-2 подобных продукта): круглый коричневый рис, свекла, яблоки и груши, ананасы, лимоны, морские овощи и съедобные водоросли, лук и чеснок, оливковое масло, чилийские перцы и острые приправы, имбирь.

Выделяют два основных вида факторов влияния пищевых продуктов на метаболизм токсикантов. Ряд пищевых компонентов пищи непосредственно препятствует абсорбции, нейтрализует или ускоряет выведение токсикантов из организма. К ним, как отмечено, относятся пищевые волокна, которые особенно необходимы, когда основной путь поступления токсиканта в организм — желудочно-кишечный тракт. Другие пищевые продукты, содержащие каротиноиды, полифенолы, глюкозинолаты (гидролизующиеся в организме до изотиоцианатов), серо-селенсодержащие соединения, модулируют активность ферментов детоксикации, препятствуют свободнорадикальному окислению, спровоцированному воздействием токсикантов. Их роль значительно возрастает в случае, когда основной путь поступления токсикантов в организм — через респираторный тракт и кожу.

Особую роль имеют серосодержащие нутриенты, необходимые для синтеза глутатиона в тканях легких, почек и печени, который непосредственно инактивирует ряд токсических соединений, а в легочной ткани именно он играет основную роль в процессах детоксикации.

Пектиновые вещества являются естественными полимерами, входящими в состав овощей, фруктов и ягод. Сорбционные свойства пектина обусловлены его способностью связывать воду, чем он сходен с микрокристаллической целлюлозой. Благодаря этой способности пектин эффективно удаляет водорастворимые токсины и водорастворимые метаболиты. При попадании в кишечник пектин увеличивается в объеме и стимулирует перистальтику кишечника. К настоящему времени имеется значительное количество специализированных продуктов питания на основе фруктов, содержащих

пектины в значительных количествах. Достоинством этих продуктов является то, что одновременно происходит постоянное поступление в организм биологически активных субстратов из продукта (витаминов, микроэлементов и других биологически активных веществ) и удаление токсинов.

Пектины способствуют выведению из организма тяжелых металлов и других ксенобиотиков, снижению уровня радионуклидов. Ориентировочная профилактическая доза пектина — 2 г в сутки. Продукты, содержащие пектин, необходимо принимать перед началом работы.

Многие пищевые продукты изменяют функции ферментов биотрансформации и транспортеров [Т. Л. Пилат и др., 2012]. По современным данным, индукторами 1-й фазы биотрансформации являются зеленый чай (CYP3A4 в печени), брюссельская капуста, редис, редька (CYP1A2, CYP1A1), чеснок (CYP2D6), мед (CYP3A4) и др., ингибиторами — зеленый чай (CYP3A4 в кишечнике), кожура апельсина, элеутерококк, бузина (CYP3A4), чеснок (CYP2E1), красное вино (CYP1A1, CYP3A4, CYP2B6) и др. Индукцию 2-й фазы биотрансформации усиливают овощи, фрукты, зелень и ягоды, содержащие биофлавоноиды; чай, кофе и вино (катехины), капуста, репа, брюква, хрен (индолы, гликозинолаты); лук, чеснок, (изотиоцианаты, ди- и полисульфиды). Ингибируют процессы этой фазы ягоды, содержащие эллагоновую кислоту (малина, земляника, ежевика и др.), фрукты и другие растения, содержащие хлорогеновую кислоту (яблоки, айва, персик, семена подсолнечника, полынь), лекарственные растения, содержащие ферруловую кислоту (солодка горькая и др.). Пищевой рацион должен включать рыбу, постное мясо, шпинат (коэнзим Q10); овощи, содержащие каротиноиды, органические кислоты; сою (изофлавоноиды); зерновые, бобовые, водоросли (лигнаны); растительные масла (ПНЖК); свеклу (бетаин). Влияние пищевых продуктов на иммунную защиту включает [Т. Л. Пилат, 2012]:

- непосредственное действие на улучшение функций компонентов иммунной системы («собственная» иммунотерапия);
- опосредованное улучшение общего состояния организма, повышающее естественную резистентность к различным неблагоприятным воздействиям.

Важными «пищевыми» средствами детоксикации и иммунотерапии являются детоксикационные компоненты пищи, низкокалорийная диета, не провоцирующая развитие «скрытого» голода (содержащая в пищевых продуктах незаменимые аминокислоты, ПНЖК, витамины, микроэлементы и т.д.), а также иммунокорректирующее питание (антиоксиданты, иммуномодуляторы, и т.д.), гипоаллергенные диеты (серосодержащие белки, витамины С, РР, Р, А, Е, К, кальций, магний, пектины, органические кислоты) с применением БАВ, влияющих на эндокринную систему, в частности, на

тиреоидные гормоны (селен, цинк, железо, йод, витамины В₁ и В₁₂, компоненты, нормализующие обмен веществ). К опосредованным пищевым иммунокорректирующим средствам относятся биогенные стимуляторы и адаптогены. Введение их в рацион ведет к устойчивости организма к действию неблагоприятных факторов. Адаптогены и биостимуляторы улучшают общее состояние организма, повышают энергетический обмен и синтез белка, стрессоустойчивость, активность врожденного и специфического иммунитета. Источниками природных адаптогенов являются наземные и водные растения, животные и микроорганизмы. В основном, растительные адаптогены произрастают на Дальнем Востоке (женьшень, элеутерококк, лимонник китайский и др.). Используют боярышник, цветочную пыльцу и т.д. Из препаратов животного происхождения используют пантокрин, апилак, рантарин. В качестве биогенных стимуляторов применяют маточковое молочко, прополис, чагу, алоэ, черный перец.

На активность цитохрома Р450 и транспортёров влияют и фруктовые соки (табл. 8.2).

Кофе и чай стимулируют активность монооксигеназ и глутатион-S-трансфераз печени. Эти данные необходимо использовать на конкретных химически опасных объектах при составлении рационов ЛПП с учетом генотипа метаболизма ОХВ в организме работника.

Таблица 8.2 – Влияние фруктовых соков на активность системы биотрансформации и транспортёров ксенобиотиков [Клиническая фармакокинетика, 2009]

Фруктовый сок	Ферменты 1-й фазы биотрансформации	Транспортеры
Грейпфрутовый (действие фуранокумаринов)	снижение активности CYP3A4	снижение активности белков P-gp, OATP-A, OATP-B; повышение уровня OATP-C
Мандариновый	нет данных	снижение активности белков P-gp, OATP-B
Яблочный	нет данных	повышение активности белков P-gp
Клюквенный	снижение активности CYP2C9	нет данных
Апельсиновый	нет данных	снижение активности белков P-gp, OATP-B; повышение уровня OATP-C
Лаймовый	снижение активности CYP3A4	нет данных

Известно, что многие болезни человека, в том числе злокачественные опухоли, являются результатом дефицита антиоксидантных нутриентов. Например, нейродегенерация может развиваться в результате длительного дефицита витамина Е у пациентов, организм которых не способен должным

образом усваивать жиры.

Антиоксидантные компоненты пищи — микроэлементы (селен, медь, марганец, цинк), витамины (А, Е, С), коэнзим Q10, каротин, глутатион, глутаминовая кислота, биофлавоноиды и другие нутриенты — содержатся во многих продуктах растительного и животного происхождения. К пищевым компонентам, оказывающим выраженную антиоксидантную активность и благотворно влияющим на детоксикацию ксенобиотиков, относятся сульфорафан из брокколи, ксантогумол из хмеля [Детоксикация организма [Электронный ресурс]. Антимутагенными и антиканцерогенными свойствами обладают зеленый и черный чай, кофе, красное вино, пиво, большинство овощей и т.д.

Недостаточность питания может как снижать образование опухолевых клеток, так и провоцировать их рост при действии канцерогенов [П. И. Мельниченко и др., 2013]. Исходя из беспороговости действия канцерогенов, достичь абсолютной безопасности невозможно даже при условии соблюдения гигиенических нормативов. Поэтому важным профилактическим антиканцерогенным средством являются ингибиторы процесса канцерогенеза, особенно витамины и микроэлементы.

Основные пищевые источники природных антиканцерогенов представлены в таблице 8.3.

Таблица 8.3 – Основные пищевые источники антиканцерогенов [Мельниченко П.И. и др., 2013].

Ингибиторы канцерогенеза	Основные источники
Аскорбиновая кислота	овощи, фрукты
Ароматические изотиоцианаты	капуста, листовые овощи
Кумарин, лактоны	капуста
Пищевые волокна	зерновые, фрукты, овощи
Флавоноиды	чай, цитрусовые (кожура), шиповник, черноплодная рябина, красный перец, черная смородина, земляника, малина, вишня, облепиха, яблоки, сливы, виноград, бобовые
Индол	капуста брокколи, кольраби, цветная капуста, редис, редька
Фенольные кислоты	чай, кофе, бобовые, овес, яблоки, картофель
Протеазные ингибиторы	бобовые, грецкие орехи
Соединения селена	морепродукты, почки, печень, мясо, чеснок, растительное масло, орехи
α-Токоферол	растительное масло, зеленый горох, кочанный салат, овес, кукуруза, рожь, пшеничные зародыши, обойная мука, спаржа

При оценке процессов детоксикации компонентами пищи также необходимо учитывать биодоступность и взаимодействие соединений, например, в пище, содержащей глутатион или каротиноиды, возможно конкурентное ингибирование. Или, наоборот, полифенолы, глюкозинолаты могут вызывать кумулятивный эффект.

Этиловый спирт и алкогольные напитки могут влиять на модуляцию эффектов ксенобиотиков [М. М. Любишин и др., 2012; В. Р. Рембовский и др., 2014]. Употребление алкоголя (этанола) может различными путями воздействовать на чувствительность к многим токсичным химическим веществам путем краткосрочных изменений рН тканей и увеличения окислительно-восстановительного потенциала в результате его метаболизма, так как при окислении этанола в ацетальдегид и окислении ацетальдегида в ацетат образуется эквивалент восстановленного никотинамида-адениндинуклеотида (NADH) и водорода [Эффекты возраста [Электронный ресурс].

Этанол вызывает повышение скорости абсорбции желудочно-кишечным трактом свинца. Находясь в организме, угнетает биотрансформацию некоторых лекарственных средств и других ксенобиотиков, метаболизируемых системой оксидаз смешанной функции: существенно замедляет элиминацию мепробомата, пентобарбитала, хлордиазепоксида, метадона, фенотиазина, кофеина, пропоксифена и др. Этанол снижает легочную абсорбцию паров ртути путем ингибирования окислительных процессов.

В опытах *in vitro* он угнетал гидроксилирование анилина и фенобарбитала, N-деметилирование аминопирина и этилморфина. Накопление свободных радикалов при образовании ацетальдегида активирует ПОЛ мембран, нарушает структуру липидного бислоя, усугубляя алкогольную интоксикацию. Хроническая интоксикация этанолом сопровождается истощением запасов глутатиона, что приводит к временному снижению резистентности в отношении других токсикантов.

Этанол значительно замедляет биопревращение метилового спирта в организме, что позволяет использовать его в качестве антидота метанола. Этот механизм связан с конкурентным действием этанола. Известно, что окисление метанола с участием АДГ протекает значительно медленнее, чем окисление этанола, что ведет к образованию высокотоксичного формальдегида. При поступлении существенных количеств метанола извне окисление образующегося формальдегида не обеспечивается АДГ III — ключевым энзимом, участвующим в переносе одноуглеродных остатков (глутатионзависимое окисление формальдегида). А негативная роль АДГ I при этом может быть частично компенсирована отвлечением ее на окисление экзогенного этанола. При остром и хроническом приеме алкоголя подавляется

реакция ацетилирования прокаинамида, сульфаниламидов, гидразина и его производных, что может модифицировать образование токсичных продуктов их метаболизма. Присутствие пищи затрудняет всасывание спирта, так как замедляет поступление этанола в кишечник [В. А. Доценко, 2006]. Всасывание этилового спирта сильно задерживают картофель, мясо, жир. Усиливает этот процесс углекислота. Существенное влияние на всасывание этанола оказывают многие лекарства. Так, например, морфин, промедол, омнопон, кодеин, адреналин, эфедрин, теофедрин, белладонна, а также половые гормоны тормозят всасывание алкоголя, в то время как прозерин, галантамин и другие лекарства ускоряют этот процесс.

У чувствительных лиц не исключено развитие отдаленных эффектов ксенобиотиков (ФОВ) на фоне употребления алкогольных напитков [В. Р. Рембовский и др., 2014]. Однако в малых дозах возможно и протекторное действие алкоголя, которое снижает нервно-психическое напряжение, например, при работах с ОХВ.

При составлении лечебно-профилактических диет для работающих на ХОО и населения экологически неблагоприятных регионов важно знание физиологической роли нутриентов в продуктах питания, используемых в рационах ЛПП. В таблице 8.4 представлены основные компоненты пищевых продуктов, необходимые для профилактики и коррекции негативного действия химических загрязнителей.

Так, известно, что успешное усвоение пищи организмом связано с эволюционным закреплением в популяции определенных аллелей генов и их мутаций, влияющих на метаболизм углеводов, жиров и белков, обеспечивающих различные процессы жизнедеятельности, в том числе детоксикацию ксенобиотиков [С. А. Боринская, Н. К. Янковский, 2013; К. Д. Иевлева и др., 2016]. При составлении рационов ЛПП необходимо учитывать генетический фон персонала ХОО.

Например, отмечено распространение во многих азиатских и африканских странах гиполактазии; в популяциях Европы встречается целиакия — непереносимость белка глютена, содержащегося в зернах ржи, пшеницы и др.; для коренных жителей северных территорий характерно высокое потребление мясных продуктов; на пищевые традиции популяций влияет распространенность полиморфизмов генов метаболизма фолатного цикла.

Мутации в гене *G6PD*, ведущие к дефициту фермента, вызывают повышенную чувствительность к оксидантам, содержащимся в пищевых продуктах. Преооксидантное действие усиливают розмарин, гвоздика, корица, мускатный орех, чеснок, лук, базилик. Ослабляют его антиоксиданты: оливковое масло, ягоды, овощи и зелень, содержащие аскорбиновую кислоту, флавоноиды, каротиноиды и др.

Таблица 8.4 Основные нутриенты лечебно-профилактического питания

Профилактическое действие	Нутриенты (необходимые компоненты пищи)	Пищевые продукты
Общеукрепляющее, (сохранение адаптационных резервов, работоспособности)	белки, жиры, углеводы макро- и микроэлементы витамины незаменимые аминокислоты органические кислоты ПНЖК	нежирное мясо, растительные масла, яйца, рыба, молоко и молочные продукты, печеночная, яблочная диеты, овсяная крупа, мед, овощи, фрукты, ягоды, орехи и другие продукты, богатые витаминами, микроэлементами
Детоксическое	пищевые волокна, обволакивающие вещества (пектины и др.), каротиноиды, полифенолы, глюкозинолаты, биофлавоноиды, изотиоцианаты, ди- и полисульфиды; витамины С, А, Е, группы В (В ₂ В ₆ В ₁₂ , фолиевая кислота, холин и др), биотин, коэнзим Q10; железо, калий, магний, марганец, сера, медь, цинк, селен; серосодержащие соединения — витамины тиамин, ниацин,	зерновые, свежие овощи фрукты и ягоды, (капуста, свекла, томаты, свекла, яблоки и груши, ананасы, лимоны, съедобные водоросли, лук, чеснок и др.), зеленый чай, кофе, рыба, постное мясо, молочные продукты, яйца ограничение жирных продуктов (говяжий, бараний, свиной жир)
Иммунокоррегирующее	адаптогены, биогенные стимуляторы, антиоксиданты, иммуномодуляторы	женьшень, элеутерококк, лимонник китайский, боярышник, цветочная пыльца, прополис, чага, алоэ, черный перец
Гипоаллергенное	серосодержащие белки; ПНЖК; витамины С, РР, Р, А, Е, К; кальций, магний; антиоксиданты; пектины; органические кислоты	растительные масла, соевые продукты, фосфатиды, витамины, соли кальция и магния; снижение содержания в пище углеводов, жиров и натрия хлорида.
Антиоксидантное	серосодержащие аминокислоты метионин и цистеин; ПНЖК; лигнаны, каротиноиды, полифенолы, флавоноиды, изотиоцианаты; витамины	растительные масла, зеленый горох, кочанный салат, овес, кукуруза, рожь, пшеничные зародыши, обойная мука, брокколи, чеснок, спаржа морепродукты, почки, печень, мясо

Продолжение таблицы 8.4		
Профилактическое действие	Нутриенты (необходимые компоненты пищи)	Пищевые продукты
Гормонокорректирующее	повышение инсулина: «медленные» углеводороды нарушение функции щитовидной железы (гипотериоз): селен, цинк, железо, йод; витамины В ₁ и В ₁₂ , другие компоненты, нормализующие обмен веществ	крупы, цельнозерновые, бобовые продукты, макароны твердых сортов, несладкие овощи и фрукты; йодированная соль, крупы, хлеб 1 и 2 сорта, свежие овощи, за исключением крестоцветных, фрукты, нежирное мясо, морская рыба, морепродукты, молочные продукты пониженной жирности, яйца; запрещено употребления алкоголя, сои, бобовых, грибов, копченых, острых и жирных продуктов, содержащих легкоусвояемые углеводы холестерин,
Антиканцерогенное	пищевые волокна; ароматические изотиоцианаты флавоноиды, индол; фенольные кислоты; протеазные ингибиторы; витамины А, Е С, К, D, группы В, фолиевая кислота, пангамовая кислота; селен, медь, цинк; метионин	зеленый и черный чай, кофе, красное вино, зерновые, капуста, листовые овощи, цитрусовые, шиповник, черноплодная рябина, красный перец, черная смородина, земляника, малина, вишня, облепиха, яблоки, сливы, виноград, бобовые, грецкие орехи; низкокалорийная и низкобелковая диета
Восстановление энергетического обмена	белки, углеводы, ПНЖК; витамины С, А, Е, РР, D, F, В ₂ , В ₆ , В ₈ , В ₁₂ , В ₁₅ , омега-3, фолат, холин; кальций, калий, железо, магний, селен, хром	цельнозерновые, бобовые продукты, орехи, нежирное мясо, рыба и рыбий жир; морепродукты; молочные продукты пониженной жирности; яйца, растительные масла; свежие овощи (морковь, брокколи, укроп, петрушка, шпинат, красный болгарский перец), ягоды и фрукты (клубника, зеленые яблоки, ананас, гейпфрут, авакадо, дыня, шиповник); зеленый чай, кофе; острый перец, корица, имбирь, хмель; снижение употребления мучных и сладких продуктов, газированных напитков, алкоголя

В России и сопредельных странах наблюдается распространенность полиморфизма гена аполиipoproteина E-APOE (регуляция обмена холестерина). Аллель APOE e4 является фактором риска болезни

Альцгеймера и сердечно-сосудистых заболеваний у жителей Европы и евроамериканцев [R.M. Corbo, R. Scacchi, 1999].

Полагают, что *APOE* ϵ 4, являющийся более древним, был вытеснен более молодыми производными от него аллелями *APOE* ϵ 3 (ассоциированным со средним уровнем холестерина) и *APOE* ϵ 2 (ассоциированным с низким уровнем холестерина). Сходные наблюдения относятся к аллелю гену ангиотензиногена *AGT*, участвующего в регуляции солевого обмена.

На процессы метаболизма, пищевые привычки также влияют полиморфизмы генов, кодирующих белки системы регуляции энергетического обмена — переносчики липидных фракций крови и холестерина, а также ферменты, расщепляющие липиды, например, ген протеина лептин-меланокортиновой системы — переносчика жирных кислот и связывания их в клетках кишечника (*FABP2*); переносчика жирных кислот ДТО), кодирующего альфа-кетоглутарат-зависимую диоксигеназу. К другим генам, регулирующим процессы усвоения и метаболизма нутриентов, относятся гены бета-адренергических рецепторов (*ADRB2*, *ADRB3*; предрасположенность к задержке жидкости в организме, например, при пересаливании пищи); *ADD1* (белка скелетной мышцы — альфа-аддуцина); *PGC1* (фосфатидилглицеринфосфолипазы *C1*); *CYP11B2*; гены маркеров углеводного обмена — рецептора, активируемого пролифератором пероксисом типа гамма 2 (*PPARG2*); нейронального меланокортинового рецептора (*MC4R*); группы генов митохондриальных транспортеров (*AUCP*); кодирующий G-белок (*GNB3*), ген альфа-кетоглутаратзависимой диоксигеназы (*FTO*), регулирующей липолиз, лептин-независимый контроль аппетита, и др. [Нутригенетика... Электронный ресурс]; Система кровообращения..., 2008; И. Б. Фефилова, 2015]. Так, полиморфизмы генов *FABP2* (*Ala54Thr*), *FTO* (*Ala54Thr*), *ADRB2* (*Arg16Gly* или *Gln27Glu*), *ADRB3* (*Trp64Arg*), *PPARG2* (*Pro12Ala*) связаны с ожирением, а также с инсулинорезистентностью (*FABP2*, *ADRB3*, *PPARG2*).

При варианте 54Thr *FABP2* обычно наблюдаются повышенные уровни холестерина и триглицеридов после приема пищи, высокий уровень лептина (белковый гормон, который играет ключевую роль в регулировании потребления энергии и энергетических затрат, аппетита, инсулина и сахара в крови), что увеличивает риск развития абдоминального ожирения, сахарного диабета 2 типа.

Следует выделить ген *CYP1A2*, отвечающий за метаболизм кофе и некоторых лекарственных средств, по полиморфизму которого можно выделить три подгруппы людей. Для первой из них (*A/A*) потребление натурального кофе не влияет на риск сердечно-сосудистых заболеваний, и напиток может быть использован как стимулятор при диете с ограничением калорий. Для второй (*C/C*) — характерен замедленный метаболизм кофеина и

повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний. Для третьей (A/C) — потребление кофе может защитить организм от развития некоторых видов опухолей.

Ген *MTHFR*, кодирующий фермент метилентетрагидрофолатредуктазу, является ключевым ферментом фолатного цикла [К. Д. Иевлева и др., 2016]. Фолиевая кислота — субстрат для ряда последовательных реакций синтеза предшественников специфических коферментов внутриклеточных реакций: регенерации метионина, биосинтеза пуриновых нуклеотидов; метилирования ДНК и РНК.

Фермент *MTHFR*, при наличии кофакторов (пиридоксина, цианокобаламина), участвует в превращении гомоцистеина в метионин, играющий одну из ключевых ролей в синтезе нуклеиновых кислот, реализации второй фазы детоксикации ртути, свинца, мышьяка и других ксенобиотиков, метилировании гормонов (эстрогена), нейромедиаторов (адреналина, норадреналина, дофамина, ацетилхолина), белков, липидов и др.

Носительство по минорной аллели снижает активность *MTHFR*, что приводит к повышению уровня гомоцистеина. Накопление гомоцистеина вызывает цитотоксическое, атерогенное и тромботическое действие, определяя развитие и прогрессирование сердечно-сосудистой патологии, ряда онкологических заболеваний, привычного невынашивания, патологии развития плода и др. Для снижения гомоцистеина у людей с разными вариациями *MTHFR* требуется разное количество фолиевой кислоты и витаминов B₁₂ и B₆.

Основными источниками фолатов являются свежая зелень, печень, дрожжи и др. С возрастом повышается уровень гомоцистеина из-за снижения усвояемости витамина B₁₂. Пища также влияет на уровень гомоцистеина. Для снижения метионина, который в организме может превратиться в гомоцистеин, необходимо уменьшить потребление курицы, индейки, черного мяса, увеличить потребление рыбы, овощей и фруктов, не злоупотреблять курением, кофе [Пять способов [Электронный ресурс].

Из генов, обладающих функцией сохранения здоровья и продления жизни, следует выделить сиртуины — это группа генов, кодирующих семейство НАД-зависимых белков, обладающих деацетилазной или АДФ-рибозилтрансферазной активностью [А. А. Москалев, 2008; 2010; А. Р. Gomes et al., 2013; M. Serravallo et al., 2013]. Эти белки принимают участие в энергетическом метаболизме, включая обмен глюкозы, осуществляют генетический контроль, выживание клеток, репарацию ДНК.

Мишенями сиртуинов являются регуляторы транскрипции, структурные белки, клеточные сигнальные молекулы, опухолевые супрессоры (p53, p73, Rb), ферменты (MMP, AceCS, PARPI), транспортные белки (цитохром-с).

Семейство сиртуинов подразделяется на пять классов (I-IV и U). Они

локализуются не только в ядре, но и в митохондриях, где регулируют их функцию. Сиртуины выполняют две функции: 1) ацетилирование гистоны по остаткам лизина, что способствует конденсации хроматина и выключению тех генов, продукты которых в данный момент клетке не нужны или могут оказаться вредными; 2) устранение повреждений ДНК.

Один из сиртуинов, SIRT1, ведущий регулятор энергетического обмена оксидантного стресса, активируется при потреблении некоторых видов орехов, красного вина и винограда.

Показано, что NAD влияет на способность SIRT1 влиять на молекулу гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1, участвующую в коммуникации генома ядра клетки и генома митохондрии. HIF-1 является активатором семейства эндотелиальных факторов роста VEGF. HIF-1-сопряженные механизмы в астроцитах и эндотелиоцитах контролируют процессы ангиогенеза и барьерогенеза, проницаемости ГЭБ; влияют на изменение энергетического обмена: процессов гликолиза, аккумуляции лактата и изменении характера нейрон-астроглиального метаболического сопряжения [А. Б. Салмина и др., 2014].

В числе HIF-1-контролируемых генов — гены, кодирующие SDF-1, транспортеры глюкозы и лактата, ферменты гликолиза, которые необходимы для обеспечения функционирования клеток в условиях острой или хронической гипоксии.

С возрастом содержание NAD снижается, что приводит к росту количества HIF-1 в клетке и нарушению общения между ядерными и митохондриальными генами; в клетке накапливаются повреждения, связанные с увеличением количества свободных радикалов, поэтому сиртуины, в основном, переключаются на починку ДНК. Происходит рост онкологических, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, инфекционных заболеваний.

Отмечено, что сохранение здоровья и увеличение продолжительности жизни наблюдается при активации сиртуина непосредственно в головном мозге (в определённых зонах гипоталамуса: дорсолатеральном и латеральном ядрах), которая повышает чувствительность нейронов к орексинам и нейропептидным гормонам, влияющим на обмен веществ, регулирующим цикл сна и бодрствования. Активаторы сиртуинов содержатся в зеленых овощах, лесных ягодах, цитрусах, яблоках, оливках, луке, горьком шоколаде, красном вине, зеленом чае, какао и др.

Помимо питания, такие физиологические особенности организма, как нейроиммунноэндокринная регуляция, размер, масса тела, возраст, а также образ жизни значимо влияют на метаболизм ксенобиотиков. У лиц с пониженным питанием и старшего возраста снижена сопротивляемость к действию многих промышленных ядов.

Избыточное питание ведет к ожирению, повышению токсичности

жирорастворимых соединений в связи с нарушением детоксикационной функции печени, депонированием этих веществ в жировой ткани и задержкой в организме. Как было отмечено, никотин является индуктором CYP1A2, CYP1A1 и ингибитором CYP2A6. Высокая биоактивация канцерогенов у курильщиков обусловлена интенсивной индукцией CYP1A1. Физически тренированные люди более устойчивы к действию многих токсикантов. Вместе с тем при возрастающей физической нагрузке повышение потребности тканей к кислороду ведет к увеличению интоксикации углерода оксидом, нитритами, цианидами и даже к летальному синтезу (метилловый спирт, четыреххлористый углерод, фосфорорганические инсектициды).

Таким образом, для нормализации обменных процессов необходимо соблюдать принцип сбалансированного низкокалорийного питания, использовать продукты, стимулирующие выработку сиртуинов и других БАВ, вести активный образ жизни.

Нутриативная регуляция экспрессии генов направлена на удовлетворение потребности организма в определенных нутриентах, в продукции гормонов, обеспечении функционирования транспортеров, ферментов, участвующих в метаболизме и создании запасов жизненно необходимых веществ, биотрансформации ксенобиотиков, иммунной защиты, а также на взаимодействие организма (желудочно-кишечного тракта) с микробиотой и другие процессы жизнеобеспечения.

Одним из примеров совершенствования профилактики химически обусловленных заболеваний, в том числе злокачественных новообразований, является пересмотр рациона ЛПП с учетом современных сведений о генетических и других нарушениях, наблюдаемых у работающих с НДМГ и другими гидразинами.

Коррекция рациона питания при работе с НДМГ и другими гидразинами

НДМГ является высокотоксичным и чрезвычайно опасным веществом, I класса опасности [А. А. Белов, 1999; А. Д. Кондратьев, 2004; Пособие по токсикологии..., 2009]. Токсичность НДМГ практически не зависит от пути поступления в организм. Вещество легко всасывается и опасно при любых путях поступления: вдыхании паров, попадании внутрь с пищей, водой и проникновении через кожу.

Токсичность НДМГ связана с суточным циркадным ритмом метаболических процессов в организме [О токсичности гептила; 2014]. Ведущее значение в патогенезе интоксикации НДМГ и другими гидразинами имеет блокирование ферментов, содержащих в качестве кофактора пиридоксальфосфат, путем связывания его альдегидной группы. Данный токсический эффект является прямым действием НДМГ на организм в высоких дозах.

Токсические свойства НДМГ связаны с нарушением процессов переаминирования, дезаминирования, угнетением активности моно- и

диаминоксидаз, оказывающих влияние на обмен биогенных аминов, нарушение синтеза ацетилхолинэстеразы А. Взаимодействие активных центров энзимов с НДМГ ведет к нарушению азотистого, белкового, углеводного, липидного обменов, энергетического обеспечения клетки, снижению активности окислительно-восстановительных процессов, фосфорилирующих реакций, накоплению биогенных аминов, в том числе адреналина и норадреналина. При действии НДМГ угнетение диаминоксидазы (DAO), фермента, играющего ключевую роль в распаде гистамина, наступает как вследствие связывания пиридоксальфосфата, так и образования хелатов с ионами меди, входящих в активный центр фермента, что, возможно, является одним из ведущих звеньев патогенеза интоксикации НДМГ.

При дефиците DAO, снижении его активности (при недостатке витамина В₆) или при повышенном поступлении гистамина с продуктами, гистамин может накапливаться и вызывать общие аллергические симптомы.

Характерным признаком острого отравления НДМГ подопытных животных является значительное повышение в крови, органах и моче концентраций аминокислот и биогенных аминов.

Отмечается угнетение декарбоксилазы глутаминовой кислоты в головном мозгу. В моче обнаруживается ксантуреновая кислота, снижается содержание естественного метаболита витамина В₆ — 4-пиридоксиновой кислоты. Патогенетическая значимость угнетения синтеза пиридоксальфосфата при отравлениях гидразинами доказана тем, что витамин В₆ (пиридоксин) является единственным эффективным средством профилактики (используется в виде антидота при острых отравлениях) и лечения интоксикаций гидразиновыми соединениями.

Важным фактором ассимиляции пиридоксина является витамин В₂, при дефиците которого может нарушаться синтез оксидазы, простетической группой которой является флавинмононуклеотид.

На развитие отдаленных эффектов НДМГ и других гидразинов, связанных с мутагенным и канцерогенным (особенно низкоуровневым) воздействием, также существенно влияет образование высокотоксичных метаболитов (при окислении НДМГ — нитрозодиметиламина

Так, известно, что успешное усвоение пищи организмом связано с эволюционным закреплением в популяции определенных аллелей генов и их мутаций, влияющих на метаболизм углеводов, жиров и белков, обеспечивающих различные процессы жизнедеятельности, в том числе детоксикацию ксенобиотиков [С. А. Боринская, Н. К. Янковский, 2013; К. Д. Иевлева и др., 2016]. НДМА, формальдегида и др.), а также активных форм кислорода.

Биотрансформация гидразина и его производных протекает в печени и кишечнике. Гидразины окисляются в 1 фазе биотрансформации с участием ци-

тохрома P450 и флавиносодержащих монооксигеназ [А. А. Белов, 1999]. Конъюгация гидразинов и метаболитов 1 фазы биотрансформации осуществляется путем ацетилирования с участием глутатионзависимых ферментов 2 фазы биотрансформации. У лиц, имеющих фенотип медленного ацетилирования, который находится под контролем N-ацетилтрансферазы, снижена детоксикация гидразинов, что приводит к повышению концентрации реакционноспособных промежуточных продуктов в организме, нарушению иммунитета [Пособие по токсикологии., 2009; J. Ra, V. Jagadeesan, 1996]. Гидразин и его производные вмешиваются в реакции с одноэлектронным переносом и, как следствие, нарушают процессы микросомального метаболизма (ингибируют синтез цитохрома P 450), активируют аскорбат- и НАДФН-зависимую ПОЛ.

Снижение цитохрома P 450 гидразинами приводит к усилению токсичности других ксенобиотиков. Генерация АФК в процессе биотрансформации гидразина и его производных индуцирует каскад метаболических повреждений в гепатоцитах, эритроцитах и других клетках, окислительную модификацию белков.

Генетическими маркерами предрасположенности к развитию профессиональных заболеваний при работах с НДМГ являются комбинации генотипов *IleVal/C1C1* генов *CYP1A1* и *CYP2E1*, медленный фенотип микросомальной эпоксидгидролазы, NAT2, дефекты генов, регулирующих АОС [О. В. Макарова, 2004; Л.А. Могиленкова и др., 2013].

Для естественной детоксикации и профилактики токсического действия НДМГ и других гидразинов лиц, контактирующих с НДМГ, большое значение имеет лечебно-профилактическое питание, основанное на знании патогенеза интоксикации гидразинами.

В настоящее время составление рационов ЛПП осуществляется в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития РФ от 16.02.2009 N 46н «Об утверждении Перечня производств, профессий и должностей, работа в которых дает право на бесплатное получение лечебно-профилактического питания в связи с особо вредными условиями труда, рационов лечебно-профилактического питания, норм бесплатной выдачи витаминных препаратов и Правил бесплатной выдачи лечебно-профилактического питания», в данном документе на производствах гидразинов рекомендован 4 рацион, однако в документе не достаточно учтены особенности нарушения метаболических процессов при работах с НДМГ, которые можно компенсировать сбалансированным рационом питания.

При составлении рационов ЛПП работающих с НДМГ следует учитывать особенности патогенеза токсического действия гидразинов.

Протекторное питание, необходимое для регуляции деятельности организма, в особенности функционирования нервной, сердечно-сосудистой,

иммунной систем, обмена веществ, повышения общей сопротивляемости и адаптационных резервов организма, работоспособности, а также снижения общей и профессиональной заболеваемости повышает функции физиологических барьеров — препятствует проникновению НДМГ в организм. Такими продуктами являются: молоко и молочные продукты, растительные белки, яйца, ПНЖК, витамины А, С, Р, группы В.

Для профилактики канцерогенного и общетоксического эффектов НДМГ, включая неврологические заболевания, в состав пищи следует включать неспецифические антимуtagens. К ним относятся витамины-антиоксиданты, кофакторы ферментов антиоксидантной защиты, минералы, а также экстракты дикорастущих растений, антиоксидантный механизм которых известен. Антиканцерогенным действием обладают селен, медь, цинк.

Определение активности DAO в сыворотке крови является диагностическим инструментом для проведения дифференциальной диагностики между влиянием гидразинов на обмен гистамина и пищевой аллергией.

Необходимо учитывать, что к продуктам, богатым гистамином или способным его синтезировать из гистидина, относятся некоторые сорта рыб (тунец, сардины, анчоусы); сыры (Эмменталь, Гауда); салями, сосиски; фрукты и овощи, в особенности томаты; пиво, которые для снижения аутоиммунных процессов надо ограничить в рационе лиц, контактирующих с гидразинами.

При обеспечении ЛПП работающих с НДМГ также необходимо учитывать нарушения обмена витаминов В₆ и В₂, угнетение глутаминовой кислоты, окислительно-восстановительных процессов. В связи с этим к существующему рациону ЛПП на всех производствах НДМГ рекомендовано ввести комплекс витаминов, включающий пиридоксин, рибофлавин, ниацин, тиамин, токоферол, аскорбиновую кислоту.

Так, для лиц, занятых на работах с НДМГ, в рацион ЛПП предложено ввести антимугагенный витаминно-минеральный комплекс, разработанный Медико-генетического центром РАМН ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН (г. Москва), который адаптирован к рассматриваемому контингенту работников (табл. 8.5).

Для усиления детоксицирующей функции печени и элиминации гидразинов, нормализации липидного обмена, синтеза фосфолипидов и других БАВ рацион ЛПП также должен включать продукты, содержащие фолиевую, пангамовую, глутаминовую кислоты, витамины В₁₅, В₁₂, F, аминокислоты цистеин и метионин.

При контакте с гидразинами требуется ограничение насыщенных жирных кислот, холестерина, уменьшение общего количества калорий, поступающих с пищей (уменьшение потребления цельного молока, сыра и сливок, мяса жирных сортов, выпечных изделий, яиц, печени и почек); включение в рацион

фруктов и овощей, богатых витаминами, постного мяса, рыбы, оливкового и других растительных масел.

Таблица 8.5 – Рекомендуемый для работающих и других лиц, контактирующих с гидразинами суточный количественный и качественный состав витаминно-минерального комплекса, обладающего антимуtagenным, антиканцерогенным и антиоксидантным действием

Витамины, витаминоподобные вещества и минералы	Суточное количество нутриентов	
	работающий с НДМГ и другими гидразинами	взрослое население
Витамин А, МЕ	6700	3333
Витамин С, мг	500	70-100
Витамин Е, МЕ	100	10-12
Витамин В ₁ , мг	25	1,1-2,1
Витамин В ₂ , мг	25	1,3-2,4
Витамин В ₅ , мг	50	10-12
Витамин В ₆ , мг	25	1,8-2,0
Витамин В ₁₂ , мкг	125	3,0
Витамин D, МЕ	200	100
Витамин К, мкг	20	65-80
Ниацинамид, мг	25	14-28
Биотин, мкг	60	30-100
Фолиевая кислота, мкг	400	200
Хром, мкг	30	50-200
Кальций, мг	125	80-800
Медь, мг	2	1,5-2,0
Йод, мкг	150	150
Железо, мг	18	10-18
Магний, мг	400	400
Молибден, мкг	100	75-250
Никель, мкг	2,5	-
Калий, мг	60	-
Селен, мкг	30	20-100
Кремний, мкг	20	-
Ванадий, мкг	20	-
Марганец, мг	3	2,6-5,0
Фосфор, мг	1200	1200
Цинк, мг	15	15

Перспективным направлением в организации ЛПП при работах с гидразинами также является составление рационов на основе создания генетического паспорта работника. Например, для работающих с НДМГ, имеющих «медленные» аллельные варианты гена NAT2, кодирующего N-ацетилтрансферазу, участвующую в синтезе насыщенных жирных кислот,

источником которого является ацетил-КоА, образуемый за счет аэробного окисления глюкозы, необходимо ограничение в пище количества жиров, которые подавляют скорость этого синтеза. Для коррекции процессов 2 фазы детоксикации (медленный фенотип EPXN1, NAT2) также целесообразно включение в пищу нутриентов — индукторов этих ферментов. С профилактической целью необходимо изучить связь комбинации генотипов *IleVal/ C1C1* генов *CYP1A1* и *CYP2E1*, вызывающей повышение образования токсичных метаболитов (канцерогенов), с нутриентами, активирующими этот процесс. При мутантном аллеле гена *MTHFR* (генотип *TT*) нарушается реметилирование гомоцистеина в метионин, поэтому для коррекции обмена метионина и процессов метилирования необходимо обеспечение лиц с данным генотипом пищей, богатой метионином, холином, фолатами, витаминами B₆, B₁₂.

В состав рациона ЛПП для профилактики канцерогенного действия гидразинов, особенно при предрасположенности к развитию гормонозависимых опухолей, кроме продуктов, содержащих вышеуказанные антиканцерогены и антиоксиданты, следует включать БАДы, например, на основе дженерола и куркумина, выделенных из имбиря и куркумы [А. Д. Кондратьев, 2004], а также стевии и других антиоксидантных растений.

Таким образом, исходя из характера действия конкретных ОХВ, индивидуального наследственно обусловленного разнообразия ответной реакции подвергающихся их влиянию лиц, при создании комплексных профилактических средств, включая антидоты, рационы лечебно-профилактического питания, целесообразно использовать принцип компоновки препаратов и продуктов питания, основанный на включении в состав рецептуры ингредиентов, взаимно потенцирующих защитные эффекты и снижающих побочное действие друг друга. Содержание макро- и микронутриентов и других биологически активных компонентов пищи должно быть сбалансировано с учетом индивидуальных особенностей организма, в том числе нейрогуморального статуса. В связи с этим необходимы: разработка нового нутрициологического подхода при обосновании ЛПП на основе нутригеномики (влияние пищи на экспрессию генов), нутригенетики (генетическое влияние на обмен веществ и усвоение пищевых продуктов) и совершенствование индивидуального режима, составление рациона питания с учетом индивидуальных особенностей у работающих и лиц других категорий граждан, имеющих контакт с ОХВ.

9 ВЛИЯНИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ (ГЕНЕТИЧЕСКИХ) ФАКТОРОВ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА. ПЕРСОНИФИЦИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

Наследственность и среда обитания выступают в качестве этиологических факторов в патогенезе любого заболевания человека, однако доля их участия при каждой болезни своя [Баранов В.С., 2000; Баранов В.С., Баранова Е.В., 2012, 2016; Болезни полигенные [Электронный ресурс]; Наследственно обусловленные [Электронный ресурс]; Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А., 2015].

Современные достижения медицинской генетики в реализации проектов по расшифровке генома: «Геном человека» (1990-2003), «Гаплоидный геном» (2003-2006), широкогеномных исследований ассоциаций (GWAS), «Секвенирование нового поколения», крупномасштабных исследований эпигеномных ассоциаций (EWAS) и других международных и отечественных проектов значительно расширили знания в изучении причин наследственных болезней, в том числе МФЗ. Они являются базой для изучения наследственного фактора в патогенезе химически обусловленной патологии.

9.1 Полиморфизм генов и эпигенетические факторы в развитии наследственных заболеваний

Знание основ медицинской генетики в развитии различных болезней у людей, вследствие которых лежат нарушения генетической информации, необходимо для профилактики, диагностики и терапии данной патологии.

Как известно, для всех форм жизни на Земле генетический код, запрограммированный в ДНК, универсален. С молекулами ДНК связаны два основополагающих свойства живых организмов — наследственность и изменчивость.

Гены (аллели генов) — участки ДНК, несущие целостную информацию о строении одной молекулы белка или одной молекулы РНК [Генетический и фенотипический полиморфизм человечества [Электронный ресурс]; Гены системы гистосовместимости и долгожительство [Электронный ресурс].

Гены по месту локализации в структурах клетки разделяются на ядерные гены, расположенные в хромосомах ядра, и цитоплазматические гены, локализованные в митохондриях и хлоропластах.

По функциональному значению различают структурные гены, характеризующиеся уникальными последовательностями нуклеотидов,

кодирующих структурные белковые продукты, и регуляторные гены – последовательности нуклеотидов, не кодирующие специфические белки, а осуществляющие регуляцию действия гена (ингибирование, повышение активности и др.).

Митохондрии человека имеют собственную, определяющую их признаки ДНК, не входящую в геном организма.

Структура ядерного генома, включающего около 3 млрд. пар оснований, состоит из 23 пар хромосом, содержащих 24 молекулы ДНК (22 аутосомы и две половые (X и Y) хромосомы).

Количество «функционирующих» генов составляет около 22 тыс., из них белки кодируются 1,2% всей ДНК клетки, межиндивидуальные различия геномов составляют 1% [В. С. Баранов, Е. В. Баранова, 2016].

Генетическая информация реализуется в процессе синтеза белковых молекул при экспрессии ядерных генов путем транскрипции (синтеза молекул РНК – информационных (матричных — мРНК), транспорта (транспортные — тРНК), регуляции (некодирующие (малые) РНК: рибосомальные — рРНК, малые ядерные и малые ядрышковые РНК, короткие некодирующие РНК: микроРНК, интерферирующие и взаимодействующие с рРНК, длинные некодирующие РНК (лсРНК) и трансляции (синтеза белков на матрице РНК). В некоторых случаях наследственная информация может передаваться прямо через РНК.

Митохондриальная ДНК кодирует 13 белков, отвечающих за синтез в дыхательной цепи 90% молекул АТФ, являющихся основой энергетики клетки, ядерная — около 70 (по данным биоинформатики — 2000) митохондриальных белков. Митохондриальная ДНК содержит 37 генов, которые кодируют, кроме 13 белков, 22 — гены тРНК, 2 — рРНК.

Митохондриальным генам свойственны дискретность, специфичность, стабильность, дозированность действия, а также способность к мутациям. По своим свойствам митДНК сходна с ядерной, способна к репликации.

Наследственная информация в митохондриях передается только по материнскому пути. Митохондрии в процессе клеточного деления случайным образом распределяются между дочерними клетками.

МитДНК отличается высоким уровнем изменчивости. В старшем возрасте в различных тканях (скелетных мышцах, мозге, сердце) наблюдается увеличение мутаций митДНК.

Кодоны митохондриального генома имеют некоторые отличия от кодирующих последовательностей универсальной ядерной ДНК. Установлено несовершенство процесса репликации митДНК, приводящее к ошибкам, и отсутствие эффективной системы репарации ДНК в митохондриях [Б. А.

Малярчук, 2004].

МитДНК более уязвима к возникновению спонтанных мутаций и воздействию внешних факторов (фенолы, ПАУ, соли кадмия, некоторые гормоны и др.), чем ядерная ДНК [Н. Н. Береговская, А. В. Савич, 1988].

Имеются доказательства, что специфический фенотип, в том числе патологический, определяется не только генотипом (последовательностью ДНК), но и эпигенетическими механизмами.

Надзорные функции принадлежат эпигеному [А. М. Вайсерман, 2008; В. И. Киселев, М. А. Пальцев, 2015]; по выражению П. и Д. Медавар: «генетика предполагает, а эпигенетика располагает».

В случае эпигенетического наследования не происходит изменения последовательности ДНК, а другие генетические факторы регулируют активность генов.

Для развития у людей наследуемой патологической реакции (МФЗ) большое значение имеют эпигенетические механизмы, формирующиеся под влиянием химических агентов, физических, биологических факторов среды обитания.

Эпигенетический полиморфизм обнаружен в различных тканях организма [R. K. Yuen, W. P. Robinson, 2011].

В настоящее время сложность представляет изучение варибельности «нормальных» эпигенетических паттернов, характеризующих разные типы клеток, и их различие с патологическими полиморфизмами.

Экспрессия генов может быть связана с эпигенетическими событиями, протекающими не только в ядре, но и в цитоплазме клетки: эпигенетическая наследственность может быть как ядерная, так и внеядерная (цитоплазматическая).

Эпигенетическая модификация генома и экспрессии генов связаны с процессами метилирования ДНК, компактизации–декомпактизации хроматина, нарушением регуляции некодирующих и других РНК, в частности биогенеза микроРНК на этапе процессинга предшественников микроРНК (пре-миРНК).

Механизмы эпигенетического регулирования включают: метилирование ДНК (ядерной, реже митохондриальной); ремоделирование упаковки хроматина («Гистоновый код»: модификация гистонов — метилирование, ацетилирование, фосфорилирование, убиквитинирование, сумоилирование, полиАДФ-рибозилирование; «Нуклеосомный код»); РНК-интерференцию (с участием малых РНК, направляющих метилирование, модулирующих трансляцию, транскрипцию siRNAs, rasiRNAs, piRNAs, snoRNAs, др.); конформационную прионизацию белков; инактивацию одной из двух Х-хромосом у самок (женщин); импринтинг (ограничение экспрессии гена одной

из двух родительских хромосом); изменение экспрессии микроРНК.

Из эпигенетических факторов наиболее изучен процесс ДНК метилирования, катализируемый ферментом ДНК метилтрансферазой, которая способствует переносу метильной группы на цитозин, стоящий перед гуанином в нуклеотидной последовательности [Деацетилирование гистонов [Электронный ресурс].

К метилированной ДНК присоединяются белки, распознающие метилированные основания благодаря наличию в них особых метил-СрО-связывающихся доменов. Известно 4 вида таких белков: MeCP2, MBD1, MBD2 и MBD3. В частности, белок MeCP2 содержит домен, репрессирующий репрессор транскрипции (mSin3 A) и деацетилазу гистонов (HDAC1).

Физиологическое метилирование ДНК — единственная ковалентная модификация молекулы ДНК — осуществляется путем переноса метильной группы с SAM на 5-ю позицию пуринового кольца цитозина [Метилирование ДНК [Электронный ресурс].

Поддержка нужного статуса метилирования генома является обязательным условием нормального развития.

Метилирование ДНК контролируется гормонально.

Абerrантное метилирование способствует возникновению опухолей и аномалий развития у человека.

В эукариотических клетках описаны два типа процессов нормального метилирования. Первый, это *de novo* метилирование, отвечающее за перераспределение метилирования во время эмбриогенеза и процессов дифференцировки, проходящих во взрослом организме.

Предполагается, что DNMT3a и DNMT3b — *de novo* метилтрансферазы, функционирующие на ранних стадиях развития в процессе эмбриогенеза, когда происходит формирование паттерна метилирования конкретных генов. Паттерн (профиль метилирования) затем сохраняется в ряду клеточных поколений.

Второй тип метилирующей активности в эукариотических клетках называется поддерживающим метилированием и отвечает за сохранение уже имеющегося паттерна метилирования. Поддерживающее метилирование активизируется при каждом клеточном делении.

Профиль метилирования, влияющий на функциональное состояние гена, передается в ряду клеточных поколений. Несмотря на то, что метилирование является наследуемой модификацией, этот процесс оказывается обратимым под воздействием деметилирующих агентов или ферментов.

Как правило, неактивный ген соединен с метильной группой. Установлено, что даже незначительные изменения в степени метилирования ДНК могут

существенно изменять уровень экспрессии генов.

Метильные группы могут заставить гены «замолчать». Этим обусловлено разнообразие клеток организма при одной и той же ДНК.

Отмечена способность метилирования к выключению генов, имеющих CpG островков (небольших участков ДНК длиной от 0,5 до 4 kb, которые в процессе эволюции сохранили предсказанную частоту CpG динуклеотидов).

В промоторах, не содержащих CpG островков, структура метилирования носит тканеспецифический характер и отражает состояние транскрипционной активности генов. В такой ситуации CpG динуклеотиды не метилированы в промоторах активно экспрессирующихся генов, и метилированы в промоторах неэкспрессирующихся генов.

В случае промоторов, содержащих CpG островки, отсутствие метилирования в основном ассоциировано со структурой хроматина, характерной для активно транскрибируемых генов, а именно: открытая структура нуклеосом, пониженная концентрация гистона H1 и наличие ацетилованных гистонов.

Другой механизм регуляции транскрипции на основании метилирования отдельных цитозинов базируется на активности метилсвязывающихся белков (MDBPs). Все белки этого семейства имеют ДНК связывающийся домен и домен, отвечающий за подавление транскрипции.

Метилированные CpG динуклеотиды представляют собой горячие точки для мутаций.

Особенно важно это свойство в случае инактивирующих мутаций генов-супрессоров. В 25% проанализированных опухолей мутации p53 происходят именно в сайтах метилирования.

В последние годы стало ясно, что к эпигенетическим механизмам изменения активации генов относится компактизация–декомпактизация хроматина, механизм которого напрямую связан с репрессией-дерепрессией локализованных в нем генов [Деацетилирование гистонов [Электронный ресурс].

Установлен особый класс заболеваний человека, обусловленный дефектами структуры и модификации хроматина — так называемые «хроматиновые болезни». Доказано, что формирование «закрытой структуры» хроматина приводит к инактивации гена.

Хроматин — это вещество хромосом — комплекс ДНК, РНК, белков. В составе хроматина происходит реализация генетической информации, а также репликация и репарация ДНК.

Основную массу хроматина составляют белки гистоны. Гистоны — относительно небольшие белки с очень большой долей положительно заряженных аминокислот (лизина и аргинина); что помогает гистонам крепко

связываться с ДНК, которая заряжена отрицательно.

Гистоны необходимы для сборки и упаковки нитей ДНК в хромосоме. Гистоны формируют нуклеосому, вокруг которой наматывается ДНК, в результате чего обеспечивается её компактизация в ядре. От плотности расположения гистонов в активно экспрессирующихся участках генома зависит интенсивность экспрессии генов.

Под руководством С. В. Разина сформулирована модель пространственной организации генома с функциональной компартментализацией (определение того, какой участок за что отвечает) клеточного ядра [От топологии ДНК [Электронный ресурс]; S. V. Ulianov et al., 2016].

При плотной трехмерной «упаковке» ДНК в непосредственной близости друг от друга оказываются функционально активные участки ее нити, которые взаимодействуют между собой и регулируют активность генов, расположенных на этих участках ДНК; их называют топологически ассоциированными доменами («ТАДами»), а области между ними – «интер-ТАДами», с которых происходит активное считывание информации [М. В. Патрушев и др., 2014; S. V. Ulianov et al., 2016].

ТАДы являются регуляторными доменами, в рамках которых энхансеры (небольшие участки ДНК, усиливающие экспрессию генов) могут активировать различные тканеспецифичные гены.

Получены данные, которые объясняют, почему в специализированных клетках многоклеточного организма активны только гены, необходимые для их непосредственных функций. Считывание же генов, находящихся в ТАД неспециализированных клеток, может приводить к развитию тех или иных нарушений функций в организме, развитию онкологических заболеваний.

Плотность упаковки хроматина во многом определяется модификациями гистонов: ацетилированием/деацетилированием, фосфорилированием, метилированием, убиквинированием, сумоилированием. Эти химические модификации изменяют силу взаимодействия между ДНК и гистонами, влияя на доступность нуклеотидных последовательностей для факторов транскрипции и изменяя скорость транскрипции.

Деацетилирование гистонов, в частности H4, является важным компонентом механизма репрессии. Оно ремоделирует структуру хроматина, повышая степень его компактизации, что приводит к репрессии транскрипции.

Ацетилирование гистонов, наоборот, снимает репрессию. Степень ацетилирования гистонов определяется активностью ферментов гистонацетилтрансферазы (ГАГ – NAT, КФ 2.3.1.48) и деацетилазы (NDAC). Известно, что ацетилированные гистоны – признак транскрипционно активного хроматина.

Гистоны целенаправленно модифицируют на тех промоторах, которые требуется активировать.

В механизме передачи метилирования гистонов большое значение имеет то, что все животные используют один и тот же фермент для создания метилированной метки как сигнал о репрессии генов [L. J. Gaydos et al., 2014].

Метилирование ДНК и модификация гистонов совместно определяют особенности упаковки хроматина, от которой зависит, какие гены «включаются» или «выключаются».

«Выключение» генов осуществляется при помощи метилирования ДНК (прикрепления к цитозиновым основаниям ДНК метильной группы), а «включение» происходит за счет ацетилирования гистонов.

В результате химических модификаций ДНК или белков-гистонов изменяется активность генов. Эпигенетические метки, такие как метилирование, модификации гистонов, сохраняются при клеточном делении и передаются дочерним клеткам

Из эпигенетических факторов большую роль в развитии МФЗ также отводят регуляторам экспрессии генов — микроРНК (microRNA, miRNA) — это класс некодирующих РНК, основной функцией которых является подавление трансляции мРНК, что приводит к остановке синтеза белка [V. Ambros, X. Chen, 2007; МикроРНК [Электронный ресурс]. В настоящее время (к 2014 г.) известно более 1800 микроРНК человека.

МикроРНК образуют обширную регуляторную сеть, задействованную в различных сигнальных путях; они контролируют множество биологических и метаболических процессов (развитие органов, тканей и сигнальной трансдукции, регулирование врожденного и адаптивного иммунного ответа), нарушение которых может привести к широкому спектру заболеваний, в том числе системы крови, а также вызванных вирусом иммунодефицита, опухолевыми процессами.

МикроРНК могут, как угнетать, так и повышать экспрессию генов в зависимости от того, каким образом спаривание с микроРНК влияет на структуру и состав рибонуклеопротеина мРНК (РНП).

МикроРНК могут связываться с белковыми факторами и вследствие этого осуществлять их взаимодействие со специфическими мРНК, либо действовать в качестве «привратников», изменяющих вторичную структуру мРНК и таким образом опосредованно контролировать связывание других регуляторных факторов.

Некоторые микроРНК могут регулировать активность некодирующих РНК, даже других микроРНК.

Наследственные заболевания, обусловленные дефектами ядерной ДНК

(мутации и др.), можно разделить на три группы [Н. П. Бочков и др., 2011; Генетический паспорт, 2009]:

- моногенные болезни, обусловленные единичными (точечными) мутациями ДНК, вызывающими выявленные и не выявленные биохимические (ферментопатии) и другие дефекты;
- полигенные заболевания, вызванные мутациями ядерной ДНК, обуславливающими предрасположенность на генном уровне;
- хромосомные болезни — наследственные заболевания, обусловленные изменением числа или структуры хромосом в ядре.

Моногенные заболевания (гемофилия, муковисцидоз, синдром Марфана, дальтонизм, фенилкетонурия, подагра, гемолитические анемии и др.) встречаются достаточно редко — до 1,5% всех болезней человека.

Наряду с моногенными болезнями выделена отдельная группа «олигогенных» болезней, в патогенезе которых участвует не один, а несколько генов наследственных заболеваний.

Для проявления отдельных видов сахарного диабета, подагры, психических расстройств, обусловленных патологической мутацией, необходимо специфическое воздействие среды.

Например, клинические симптомы недостаточности гемоглобина HbS у его гетерозиготных носителей при пониженном парциальном давлении кислорода с исчезновением действия этого средового фактора становятся менее выраженными.

При подагре для проявления патологического гена необходимо длительное неблагоприятное воздействие среды.

Для значительной части наследственных болезней патологические признаки, как и нормальные, наследуются по законам Менделя: аутосомно-доминантному, аутосомно-рецессивному или сцепленному с полом (X-сцепленный доминантный, X-сцепленный рецессивный и Y-сцепленный) типам.

При доминантном типе наследования клиническое проявление болезни обнаруживается у гомо- и гетерозигот, а при рецессивном — только у гомозигот, то есть значительно реже.

Однако наследование не всегда соответствует законам Менделя. Основным этиологическим фактором в их возникновении служит неблагоприятное воздействие среды, а реализация действия фактора зависит от индивидуальной генетически детерминируемой предрасположенности организма.

Полигенные заболевания, развитие которых определяется взаимодействием определенных наследственных факторов (мутаций или

сочетаний нормальных аллелей разных генов) и факторов среды, также называют мультифакториальными (многофакторными) [В. С. Баранов, 2011; В. С. Баранов и др., 2000, 2016; Н. П. Бочков и др., 2017; М. Kihara, K. Noda, 1999; M. Munaka et al., 2003; M. V. Osier et al., 2002; A. J. Sandford, E. K. Silverman, 2002; A. B. Spurdle et al., 2000; J. To-Figueras et al., 1996, 2004; W. W. Weber, 1997; M. H. Wilson et al., 2000; Y. Q. Zhang et al., 2004]. К ним относится большинство хронических болезней человека (нервно-психические, онкологические, заболевания сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной, иммунной и других систем); а также ряд инфекционных болезней, чувствительность к которым генетически детерминирована.

Хромосомные болезни вызваны грубыми структурными перестройками хромосом (хромосомными абберациями) или изменением их числа (синдромы Дауна, Клайнфельтера, Шерешевского-Тернера, Эдвардса, «кошачьего крика» и другие).

Моногенно обусловленные и хромосомные болезни (в том числе врожденные) являются наследственными заболеваниями прямого эффекта. Эти заболевания передаются из поколения в поколение через половые клетки.

К наследственным заболеваниям, которые не подчиняются законам Менделя, относятся митохондриальные заболевания, болезни экспансии (динамические мутации), геномного импринтинга и болезни, обусловленные другими нарушениями эпигенетической регуляции работы генов.

Наибольшее значение из них имеет митохондриальное наследование [Митохондриальные заболевания [Электронный ресурс]; М. В. Патрушев и др. 2014; S. B. Vafai, V. K. Mootha, 2012], изучение которого (вторичных митохондриальных заболеваний — сахарный диабет, синдром хронической усталости, кардиомипатия, печеночная недостаточность и др.) при оценке риска для здоровья человека действия химического фактора практически не проводится.

Описано около 400 митохондриальных болезней, вызванных дефектами митохондриальной и ядерной ДНК.

В настоящее время идентифицированы мутации ядерного гена, лежащие в основе митохондриального расстройств и развития ядерных заболеваний, влияющих на сборку и функционирование дыхательной цепи, клинические проявления которых разнообразны.

Гены, мутации в которых ведут к заболеваниям, связанным с нарушениями дыхательной цепи, можно сгруппировать в пять больших категорий на основании путей, в которых они участвуют.

Продукты митохондриальных и ядерных генов могут быть вовлечены в индивидуальные нарушения субъединиц комплексов I-V:

1) белки, участвующие непосредственно в окислительном фосфорилировании;

2) белки, обеспечивающие функционирование и экспрессию митДНК, (вовлеченные в репликацию митДНК, транскрипцию и трансляцию);

3) белки, участвующие в биосинтезе (сборке комплексов) и регулировании окислительного фосфорилирования; митохондриальные белки импорта и белки гомеостаза (сгруппированы по пути окислительного фосфорилирования, биогенеза и регуляции);

4) белки, участвующие в транспорте и синтезе нуклеотидов,

5) белки, которые участвуют в контроле структуры мембраны и ее динамики.

МитДНК кодируют первые два метаболических пути функционирования дыхательной цепи.

Выявлена решающая роль митохондрий в регуляции врожденного иммунитета [A. P. West et al., 2011].

Митохондриальные заболевания могут быть связаны с точечными мутациями митДНК (наследственная оптическая нейропатия Лебера и др.), а также обусловлены грубыми структурными нарушениями митДНК (синдромы Кернса-Сэйра Пирсона).

Большинство генов, отвечающих за развитие митохондриальных заболеваний, идентифицированы в семейных формах заболеваний.

Воздействие токсичных веществ может явиться триггером к развитию нарушений энергетического обмена, патологии митохондриальных белков.

Ряд химических соединений (например, этилнитрозомочевина) оказывает влияние преимущественно на митохондриальный геном, а не на ядерную ДНК.

Патологические нарушения клеточного энергетического обмена, связанные с мутациями митДНК, могут проявляться в виде дефектов различных звеньев в цикле Кребса, в дыхательной цепи, процессах бета-окисления и т.д.

В патогенезе заболеваний человека участвуют нарушения метилирования белков и эпигенетического кода, а также промежуточные метаболиты процесса трансметилирования (гомоцистеина — Hcy) [К. Д. Иевлева и др., 2016; K. Aksu et al., 2001; L. Brattstrom, D. E. Wilcken, 2000; B. Janosikova et al., 2003; M. Hoekstra et al., 2005; A. A. Mangoni, S. H. Jackson, 2002].

Указанные процессы очень чувствительны к действию разнообразных внешних факторов; в последние годы им уделяется самое пристальное внимание.

Ведущими токсическими факторами при повышении уровня гомоцистеина являются: оксидантный стресс [D. E. Handy et al. 2005]; стресс эндоплазматической сети (СЭС), приводящий к апоптозу/ некрозу клетки и

активации воспалительного ответа [R. J. Kaufman, 2002]; нарушение эпигенетической структуры генома клеток вследствие модификации процессов метилирования/деметиляции белков и ДНК [J. T. Brosnan et al., 2007].

Повышение количества гомоцистеина выявлено при атеросклерозе и других сердечно-сосудистых заболеваниях, у пациентов с нейродегенеративными, аутоиммунными заболеваниями, ревматоидным артритом, васкулитом (болезнь Behcet), болезнью Рейно, остеопорозом, раком, гипотиреозом и т.д.

Установлено, что гомоцистеин влияет на регуляцию активности более ста генов, среди которых есть выполняющие провоспалительные и про-апоптотные функции [P. Sharma et al., 2006].

Последствия стресса, травмы и другие воздействия окружающей среды наследуются не одним поколением в течение многих лет [Houri-Ze'evi L. et al., 2016].

Малые РНК являются ключевыми факторами, участвующими в регуляции такого рода наследования (в опытах на червях). Эти микроРНК подготавливают потомство к трудностям, которые были аналогичны у родителей.

В процессе наследственной адаптации задействованы определенные гены — «МОТЕК» (Модифицированная трансвозрастная эпигенетическая кинетика), которые участвуют в эпигенетическом включении и выключении передачи ферментов под названием RdRPs, передающих информацию последующим поколениям.

Предполагают, что микроРНК могут служить биомаркерами в диагностике заболеваний и обеспечить новую стратегию генной терапии с использованием технологий микроРНК. МикроРНК уже используются в диагностике в качестве биомаркера рака.

Для каждого типа рака экспрессированы как минимум две микроРНК. Возможна либо повышенная экспрессия отдельных микроРНК, при этом микроРНК функционирует как онкоген, либо сниженная экспрессия, при этом микроРНК выступает как ген, супрессирующий развитие опухоли.

Важно то, что некоторые микроРНК имеют различный профиль экспрессии при разных типах рака. По мере развития опухоли меняется и профиль экспрессии микроРНК

Из заболеваний человека также выделяют группу сравнительно немногих форм патологии, в возникновении которых исключительную роль играет только фактор среды. Обычно это экстремальный средовой фактор, по отношению к действию которого организм не имеет средств защиты (травмы, особо опасные инфекции, яды, ОВ). Генетические факторы в этом случае

играют роль в течении болезни, влияют на ее исход.

9.2 Генетические особенности системы детоксикации при развитии мультифакториальных (многофакторных) заболеваний

Благодаря широким генетико-эпидемиологическим исследованиям в разных популяциях (клинико-генеалогическим, близнецовым, популяционно-статистическим), мультифакториальные болезни с наследованием предрасположенности были выделены из группы генных болезней. Полиморфизм генов рассматривается как важное звено в этиологии и патогенезе МФЗ, в результате которых возможен и летальный исход [В. С. Баранов, 2011; В. С. Баранов и др., 2000, 2016; Н. П. Бочков и др., 2017].

Однако далеко не все изменения последовательности нуклеотидов, приводящие к изменению структуры белка, являются патогенными. Наиболее опасными для возникновения многих МФЗ являются сетевые взаимодействия неблагоприятных аллелей нескольких генов в сочетании с аддитивным эффектом.

Как отмечено, для проявления МФЗ наряду с генетической предрасположенностью необходимо действие факторов внешней среды (экологические и производственные загрязнения, образ жизни и др.), наличие эпигенетических изменений, а также других, в том числе случайных причин.

Гены, аллельные варианты которых при наличии определенных условий предрасполагают к определенным заболеваниям, получили название генов предрасположенности (гены-кандидаты; гены «внешней среды») [В. С. Баранов и др., 1999]. Их число может достигать сотен.

Также выделяют гены-триггеры (например, онкогены), которые связаны с запуском патологического процесса под действием внутренних факторов организма.

Считается, что полиморфный аллель участвует в формировании наследственной предрасположенности к заболеванию в том случае, если его частота у больных статистически значимо превышает контрольный уровень.

В отдельную группу выделяют заболевания, обусловленные мутациями, возникающими в соматических клетках пациента. Иногда их называют болезнями нуклеиновых кислот (отдельные пороки развития, онкологические и некоторые аутоиммунные заболевания).

К генам предрасположенности следует отнести гены «детоксикации», которые реагируют на химические факторы внешней среды. Накапливаются сведения о том, что генетические различия в регуляции, экспрессии и активности генов, кодирующих ферменты биотрансформации ксенобиотиков, компоненты гистосовместимости, иммунной, антиоксидантной и других

систем, являются решающими факторами в развитии разнообразных болезней. Поэтому в предрасположенности к действию ОХВ существенную роль могут играть генетические полиморфизмы, обуславливающие не только особенности патогенеза воздействия конкретных ксенобиотиков, но и определяющие склонность к развитию «стохастической» патологии органов и систем (табл. 9.1).

Таблица 9.1 – Связь некоторых заболеваний (нарушений) внутренних органов и систем с генетическим полиморфизмом генов, кодирующих биологически активные вещества [Генетический паспорт, 2009; Андреева А. и др. [Электронный ресурс]; Луговая О.В., и др., 2012; Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А., 2015; Система кровообращения..., 2008; Храпова М.В., Душкин М.И., 2011]

Эндогенные биологически активные вещества	Ген (полиморфизм)	Предрасположенность к заболеванию или нарушению здоровья
АРОЕ (аполипопротеин Е) АРОА (аполипопротеин А) АРОВ (аполипопротеин В) PON3 (параоксоназа 3) PAI-1 (ингибитор активато-ра плазминогена 1) ACE (ангиотензинпревращающий фермент) AGT (ангиотензиноген) F5 (V фактор свертывания крови) F7 (VII фактор свертывания крови) CETP (переносчик холестерина, метаболизм ЛП) CRP (С-реактивный белок) REN (ренин) eNOS (эндотелиальная NO-синтаза 3) AGTR1, AGTR2 (рецепторы 1 и 2 типа к ангиотензину II) ADRB1 (β1-адренорецептор) ADRB2 (β2-адренорецептор) BDKRB2 (рецептор 2 типа к брадикинину) и др. ADD1 (белок альфааддуцин) CYP3A5 (цитохром P450, семейство 3A, тип 5) MTHFR (метилентетрагидрофолатредуктаза)	APOE (Cys112 Arg, Arg158Cys) APOA IV (C>T, поз. +93) 3'APOB-VNT (C7623T, G12619A) PON3 (Gln 192 Arg) PAI-1 (4G/5G, промотор, поз. -675) ACE (I/D интрон 16; генотип D/D) AGT (Thr174Met; Met235Thr) F5 (Arg506Gln) F7 (Arg353Glu; I/D, промотор, поз. -323) CETP (1405V) CRP (-1059G/C, rs 3091244) REN (704T>C) NOS3 (Met235Thr) AGTR1 (1166A>C), AGTR2 (3123G>A) ADRB1(+1073C/T; C1165G) ADRB2 (C79G) BDKRB2 (-58T>C, I>D) ADD1 (G1378T; G460T) CYP3A5 (A6986G) MTHFR (A1298C)	ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертония и другие сердечно-сосудистые заболевания

Продолжение табл. 9.1		
Эндогенные биологически активные вещества	Ген (полиморфизм)	Предрасположенность к заболеванию или нарушению здоровья
АРОЕ (аполипопротеин Е)	<i>E2, E3, E4</i> (Cys112Arg, rg158Cys)	болезнь Альцгеймера
EPHX1 (микросомальная эпоксидгидролаза-1)	<i>EPHX1</i> (Y 113H замена T-C exon 3)	хроническая обструкционная пневмония, эмфизема легких
CAT (каталаза) ADRB2 (β2-адренергический рецептор) IL4 (интерлейкин-4) IL4R (α-цепь рецептора интерлейкина-4) IL13 (интерлейкин-13)	<i>CAT</i> (-262C/T) <i>ADRB2</i> (Arg16Gly; Gln27Glu) <i>IL4</i> (C590T) <i>IL4R</i> (Q576R) <i>IL13</i> (Arg130Gln)	бронхиальная астма
<i>DRD-2A</i> (рецептор дофамина)	<i>DRD-2A</i> (Taq 1+/ Taq 1-)	предрасположенность к табакокурению, алкоголизму, наркомании
PAI-1 (ингибитор активатора плазминогена 1) ACE (ангиотензинконвертирующий фермент) и др.	<i>PAI-1</i> (4G/5G, промотор, поз. -675) <i>ACE</i> (I/D интрон 16)	сахарный диабет 2-го типа, инсулинорезистентность
TNFα (фактор некроза опухоли- α)	<i>TNFα</i> (-308G >A, -238G >A)	измененная транскрипционная регуляция, бронхиальная астма, сахарный диабет 2-го типа
IL6 (интерлейкин-6)	<i>IL6</i> (-174C>T)	иммунные нарушения, сердечно-сосудистые заболевания, остеопороз, гликемия
IL10 (интерлейкин-10)	<i>IL10</i> (-592C>A, -1082A>G, -2849A>G, -3575T>A)	иммунные нарушения, ревматоидный артрит, псориаз и др.
HTR2A (рецептор серотонина)	<i>HTR2A</i> (102T>C, 11438G<A, Rs 7997012)	ожирение, нейropsychические заболевания, депрессия
COMT (катехоламин-ортометилтрансфераза)	<i>COMT</i> (V158M, Ala72Ser)	психические заболевания, болезнь Паркинсона, гестоз

Продолжение табл. 9.1		
Эндогенные биологически активные вещества	Ген (полиморфизм)	Предрасположенность к заболеванию или нарушению здоровья
<p>CYP1A1 (цитохром P450, семейство 1A, тип 1) GPX4 (глутатионпероксидаза 4) JAK2 (Janus kinase 2) P53</p> <p>TNF (фактор некроза опухоли) MPL (рецептор тромбоцетина) LMYC (онкоген)</p>	<p><i>CYP1A1</i> (Ile462Val) <i>GPX4</i> (3'UTR, 718C/T) <i>JAK2</i> (V617F G/T) p53 (делеция, G-аллель in6 и др. точковые мутации) <i>TNFα</i> (-308G/A), TNFp (+36A/G TNFR1 и +1663A/G TNFR2) <i>MPL</i> (W515L/K) <i>MYCL1</i> T/G (L/S)</p>	<p>онкологические заболевания, в том числе с плохим прогнозом</p>
<p>PPAR (пероксисом пролифератор активированных рецепторов)</p>	<p><i>PPARα, β, γ</i>(делеция)</p>	<p>нарушение энергетического обмена (липидов и глюкозы; инсулинорезистентность; атеро-склероз; ожирение и др.), процессов воспаления, репарации, репродукции</p>
<p>SIRT1 (сиртуин 1)</p>	<p><i>SIRT1</i> (rs7069102, rs3758391)</p>	<p>воспаление (артриты, артрозы), астма, сердечно-сосудистая патология, нейродегенеративные расстройства, когнитивные нарушения, ожирение</p>
<p>SIRT3 (сиртуин 3)</p>	<p><i>SIRT3</i> (477G>T)</p>	<p>нарушение обмена веществ</p>
<p>PPAR (пероксисом пролифератор активированных рецепторов)</p>	<p><i>PPARα, β, γ</i> (делеция)</p>	<p>нарушение энергетического обмена (регуляции генов, вовлеченных обмен липидов и глюкозы; инсулинорезистентность; атеросклероз; ожирение и др.), процессов воспаления, репарации, репродукции</p>

Продолжение табл. 9.1		
Эндогенные биологически активные вещества	Ген (полиморфизм)	Предрасположенность к заболеванию или нарушению здоровья
FOXO (транскрипционные факторы)	FOXO3a (делеция)	нарушение регуляции клеточного цикла, усиление пролиферации клеток, угнетение нейтрофилов, диабет, злокачественные опухоли, ускорение старения

Полигенная наследственная предрасположенность определяется сочетанием аллелей нескольких генов. Каждый аллель в отдельности скорее нормальный, чем патологический, а к болезням предрасполагает их определенная комбинация.

Идентификация генов предрасположенности к МФЗ и их аллелей весьма затруднена. Это связано с тем, что свой патологический потенциал они реализуют вместе с комплексом нескольких внешнесредовых факторов, обуславливающих и эпигенетические изменения, в совокупности формирующие МФЗ, которые представляют собой самую многочисленную и разнообразную группу болезней, составляющую более 90% от всей соматопатологии человека и характеризующуюся наиболее высокими темпами роста заболеваемости, смертности и инвалидизации трудоспособного населения в современных популяциях.

Распространенными МФЗ являются заболевания сердечно-сосудистой системы и органов дыхания, злокачественные новообразования, диабет, психические (шизофрения) болезни.

Генетические факторы (наследственная компонента), представляющие полигенные системы, несущие информацию о предрасположенности, могут быть в виде двух вариантов: без порогового действия и с пороговым действием.

При пороговом действии МФЗ возникают и прогрессируют при условии, если суммарный эффект от взаимодействия генетических и средовых факторов (компонент) предрасположенности превышает пороговое значение подверженности.

При без пороговом действии эффект патогенного действия увеличивается количественно при накоплении патологических генов.

Молекулярно-генетический уровень генотипирования позволяет выявлять

обусловленность физиологической адаптации/предрасположенности человека к определенным заболеваниям на популяционном уровне, которые в свою очередь влияют на ответную реакцию индивидуумов на воздействие ксенобиотиков.

Подавляющее большинство HLA-ассоциированных болезней являются в той или иной степени иммунопатиями, при которых проявляется ауто-иммунный или иммунодефицитный компонент.

Наибольшая корреляция с предрасположенностью к некоторым болезням (артриты, системная красная волчанка, сахарный диабет 1 типа и др.) наблюдается у генов системы HLA (*HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-DR*, *HLA-DQ* и *HLA-DP*), кодирующих белки, расположенные на поверхности клеток и выполняющие функцию распознавания при клеточном иммунном ответе.

Установлен полиморфизм системы HLA, характерный для конкретной этнической группы населения, который определяет фенотипическую частоту антигенов гистосовместимости, оказывающих существенное или даже определяющее влияние на здоровье лиц данной группы [В. С. Баранов и др., 2000; С. А. Боринская, Н. К. Янковский, 2013; Н. П. Бочков и др., 2011; А. И. Хавкин и др., 2006].

Ассоциации аллелей системы HLA с развитием МФЗ могут включать: перекрестную реактивность между внешнесредовыми факторами и антигенами HLA; гены иммунного ответа, сцепленные с HLA; комплементарные гены, сцепленные с HLA; гены ферментов, сцепленные с HLA; сцепленные гены, детерминирующие или контролирующие процессы дифференцировки; разрушение или модификацию антигенов HLA как результат воздействия внешне- средового фактора.

Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков связан с патологией сердечно-сосудистой системы, атопическими заболеваниями, хроническими неспецифическими болезнями легких и др. [Н. П. Бочков и др., 2011; Генетический паспорт, 2009; С. А. Григорьева, 2011; С. А. Григорьева и др., 2007; В. А. Спицын и др., 2006; С. В. Тарасенко и др., 2014].

Полиморфизм генотипа ферментов глутатион-S-трансферазы и цитохрома P450 имеет значение в формировании подверженности к заболеваниям (онкологическая патология, инфекционные и аллергические заболевания и др.), триггерами которых выступают неблагоприятные факторы внешней среды и образа жизни [Н. П. Бочков и др., 2011; Ю. И. Черняк. 2005; M. Kihara, K. Noda. 1999]. Полиморфизм в гене *GSTM1*, так же как и в гене *GSTT1*, обусловлен делецией, в результате которой происходит полное отсутствие ферментативной активности.

С группой генов детоксикации ксенобиотиков тесно связаны гены,

кодирующие ферменты, участвующие в функционировании детоксикационных систем, например, β -адренорецепторы (*ADRB1*, *ADRB2*, *ADRB3*); эпоксид-редуктаза витамина К (*VKORC1*); ген, контролирующий обмен железа в организме человека (ген гемохроматоза — *HFE*).

Гены *ADRB* кодируют рецепторы, которые опосредуют действие катехоламинов, служащих медиаторами в симпатической нервной системе и участвующих в управлении внутренними органами, влияя на все системы организма.

Как известно, железо входит в состав более 100 ферментов, в том числе 1 фазы биотрансформации ксенобиотиков, обмена холестерина, а также влияющих на синтез ДНК, качество иммунного ответа на вирусную или бактериальную инфекцию, энергетический обмен клеток, реакции образования свободных радикалов в тканях организма.

Гем, входящий в состав цитохрома P450, является комплексом протопорфирина IX и двухвалентного атома железа. Железо оказывает синергический эффект при индукции аминолевулинатсинтазы, усиливающей работу микросомальной системы окисления.

Однако избыточное накопление железа при полиморфизме гена *HFE* в печени способствует воспалительно-деструктивному повреждению, нарушениям углеводного обмена, развитию рака печени [Т. Е. Полунина, И. В. Маев, 2008]. На севере Западной Европы особенно распространена неблагоприятная мутация C282Y-*HFE*-гена, в США и Канаде – H63D-*HFE*-гена [К. J. Allen et al., 2008].

Полиморфизм гена *VKORC1* (1173T) приводит к снижению функции фермента, восстанавливающего молекулы витамина К, который участвует не только в процессах гемостаза, но и ремоделирования клеток эндотелия, костной, нервной и других тканей, в том числе при оксидативном стрессе.

Многие бронхолегочные патологии в различной степени связаны с развитием окислительного стресса. Частота заболеваний бронхолегочной системы (бронхиальная астма, эмфизема, пневмония и др.) находится в прямой зависимости от уровня загрязнения окружающей среды сильными окислителями (NO, NO₂, CO, O₃, альдегиды), пылевыми частицами, особенно в сочетании с воздействием экстремальных климатических условий [В. А. Гусев, Е. В. Даниловская, 1987; С. Р. Мингазова, 2011; S. T. Holgate et al., 1999].

Источниками активированных кислородных метаболитов могут быть не только внешние, но и эндогенные факторы, (альвеолярные макрофаги, гранулоциты, внутриклеточные органеллы), приводящие к индуцированию окислительных процессов на поверхности бронхоальвеолярного секрета и

непосредственно в эпителии легкого [D. T. Wright et al., 1994], и дальнейшей хронизации патологического процесса в легочной ткани [С. Р. Мингазова, 2011].

Наследственная предрасположенность является важным внутренним фактором риска развития хронических заболеваний органов дыхания, с которыми тесно связаны особенности иммунологической реактивности, роста и развития легких. Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) занимает лидирующее положение в росте общей заболеваемости, инвалидизации и смертности населения, как в Российской Федерации, так и во многих других странах.

В настоящее время примерно 210 миллионов человек во всем мире страдают ХОБЛ. Согласно оценкам экспертов ВОЗ, ХОБЛ к 2030 году будет занимать 5-е место по заболеваемости и станет третьей по значимости причиной смерти во всем мире.

Полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, антиоксидантной защиты, медиаторов воспаления, протеолитических ферментов и ингибиторов протеолиза в этнических группах характеризуется широким аллельным разнообразием. Установлена ассоциация полиморфных вариантов генов *NQO1*, *MMP3*, *CYP2S1*, *CYP2F1*, *TIMP3*, *UGT2B7*, *MMP9* с развитием хронических заболеваний органов дыхания (например, среди населения, проживающего в Республике Башкортостан).

Определены значимые генсредовые взаимодействия с курением для локусов *ADAM33* (12418A>G), *TIMP3* (-1296T>C), *VDBP* (1296T>G), *CYP1A1* (2454A>G), *CYP2F1* (с.1415insC), *GPX1* (599C>T), *SOD3* (691C>G), *UGT2B7* (2146C>), *EPHX1* (415A>G) и со стажем работы для локусов *IL1RN* (VNTR), *VDBP* (1307C>A) и *CYP1A1* (3798C>T) при формировании хронических заболеваний органов дыхания.

В развитии легочной патологии при воздействии факторов окружающей среды наибольшее значение имеют гены биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты.

У женщин риск развития ХОБЛ связан с генами *CYP1A2* и *CYP1A1*, кодирующими ферменты метаболизма ксенобиотиков, участвующими в эндогенной активации и деградации половых гормонов, с геном *IL6* (-174G>C), кодирующим ключевой цитокин острой фазы воспаления.

Для мужчин специфичной является ассоциация с генами, кодирующими ферменты, участвующие в антиоксидантной защите — *GSTP1*, *CAT*, *SOD3*.

Развитие хронических бронхолегочных заболеваний у детей наиболее ассоциировано с генами системы цитохрома P450, матричных металлопротеаз и ингибиторов протеолиза.

Из отягощающих факторов, табакокурение как усиливает, так и ослабляет значимость генетических факторов в развитии профессиональных и других заболеваний, включая легочные нарушения [С. Р. Мингазова, 2011; М. А. Солодилова, 2009]. Его влияние может и отсутствовать.

К настоящему времени накоплено достаточно сведений об ассоциации «нулевого» генотипа гена *GSTM1* с риском развития эмфиземы легких и хронического бронхита у курильщиков [Н. П. Бочков и др., 2011; С. А. Григорьева, 2011; М. А. Солодилова, 2009].

Специфической для курильщиков комбинацией генов, определяющей развитие ХОБЛ, является комбинация *GSTP1* (313A>G), *MMP1* (-1607G>GG), *IL8* (-251T>A), *VDBP* (1296T>G), которая, по мнению Г. Ф. Корытиной (2012), отражает воспалительный компонент в патогенезе ХОБЛ и взаимную активацию НАД(Ф)Н-хинон оксидоредуктазы 1 (NQO1) и матриксных металлопротеаз. В группе некурящих развитие ХОБЛ связано с локусами *NQO1* (465C>T), *ADAM33* (1241A>G), *IL1B* (3539C>T), *VDBP* (1296T>G).

В защите легких от высокоактивных производных эпоксида, образующихся при курении, имеет микросомальная эпоксигидролаза [С. Е. Вахрушева, 2012; D. A. Lomas, E. K. Silverman, 2001; I. Matsushita et al., 2012; A. J. Sandford, E. K. Silverman, 2002].

С мутацией гена *EPHX*, обеспечивающей пониженную активность соответствующего фермента, ассоциированы такие заболевания, как эмфизема легких, хронический обструктивный бронхит, хронические респираторные заболевания, муковисцидоз, злокачественные опухоли.

Показано, что в развитии бронхиальной астмы полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков также имеет существенное значение [Е. Ю. Брагина, 2005; Н. П. Бочков и др., 2011; Y. Q. Zhang et al., 2004]. В таблице 9.2 представлены связи полиморфизма генов, кодирующих ферменты 1-й и 2-й фаз биотрансформации, с особенностями развития БА (табл. 9.2).

Таблица 9.2 – Связь полиморфных вариантов генов ферментов метаболизма ксенобиотиков с бронхиальной астмой и ее клиническими проявлениями [Н. П. Бочков и др., 2011]

Ген (полиморфизм)	Ассоциация
<i>GSTT1</i> (+/del)	БА /пищевая аллергия
<i>GSTM1</i> (+/del)	БА
<i>CYP1A1</i> (Ile462Val)	БА/ пищевая аллергия/эозинофилия
<i>NAT2</i> (S1, S2)	БА/ пищевая аллергия/ эозинофилия
<i>GSTP1</i> (313A>G)	БА/ положительные прикладные тесты/ уровень IgE/ атопический дерматит/гиперреактивность бронхов
<i>CYP2E1</i> (-2964G/A)	эффективность лечения БА

БА рассматривают как полигенную болезнь с наследственной предрасположенностью, в формировании которой генетическая компонента представляет систему с аддитивным эффектом отдельных генов, каждый из которых в отдельности не способен, либо крайне редко способен вызвать болезнь.

Тяжесть БА определяется многими факторами (пол, возраст начала болезни, отягощенная наследственность, предшествующее лечение, сопутствующие аллергические заболевания). В настоящее время нет четких представлений о формировании клинического полиморфизма заболевания.

Вклад делеционного полиморфизма гена *GSTM1*, гетерозиготный генотип гена *CYP2E1* (полиморфизм 7632T>A) увеличивают риск развития БА.

Для носителей делеции гена *GSTM1* дисбаланс процессов детоксикации экзогенных и эндогенных веществ (в том числе медиаторов воспаления простагландинов — H₂, E₂, F_{2a}, лейкотриена C₄) в два раза превышает риск развития заболевания БА по сравнению с индивидами, имеющими функциональный генотип (европеоидные и монголоидные популяции). У больных БА показана повышенная частота «нулевого» генотипа, помимо *GSTM1*, и для гена *GSTT1* [В. В. Ляхович и др., 2002; Y. Q. Zhang et al., 2004]. Однако делеционный генотип гена *GSTT1* преимущественно преобладал у пациентов с легкой степенью тяжести.

Подверженность астме увеличивают комбинации генотипов *GSTT1+* и *GSTM1 0/0* и *GSTM1 0/0* и *CYP2E1 T/A*, а протективное значение имеет комбинация генотипов *GSTM1+* и *GSTP1 G/G*. Отмечена связь полиморфизма 681G>A гена *CYP2C19* с изменчивостью уровня IgE ($p=0,044$), делеционного полиморфизма гена *GSTM1* с изменчивостью форсированной жизненной емкости легких ($p=0,021$) у женщин.

В предрасположенности к туберкулезу показана роль многих генов, в том числе HLA-системы, интерлейкинов и др. [В. И. Литвинов и др., 1983; В. П. Пузырев и др., 2002; В. П. Пузырев, В. А. Степанов, 1997; А. Г. Хоменко и др., 1985; L. Vornman et al., 2004]. Выявлена роль в подверженности к ТБ для генов рецептора к витамину D, γ -интерферона и его рецептора, фактора некроза опухолей, интерлейкинов и др.

Одним из главных генов-кандидатов ТБ является *NRAMP1* (ген макрофагального белка, ассоциированного с естественной резистентностью). Также отмечена ассоциация определенных генов *HLA* (преимущественно DR и В-локусов) с данным заболеванием в большинстве обследованных популяций [Н. П. Бочков и др., 2011].

Установлена повышенная частота встречаемости антигенов локуса *HLA-B12* и -С в узбекской и туркменской популяциях. У русских с ТБ легких в локусе *HLA-B* антигены В5, В14 встречались значительно чаще, однако во всех этих популяциях показана ассоциация *HLA-C* локуса с заболеванием.

Сцепление гаплотипов *HLA* в семьях с пораженными родителями и детьми ассоциировалось со специфичными антигенами. У этих больных хроническим туберкулезом процесс плохо поддавался лечению.

Такие гены ферментов 1-й и 2-й фаз биотрансформации, как *GSTP1* и *CYP2C19*, также ассоциированы с туберкулезом и клиническими проявлениями инфекционной патологии: отмечена связь полиморфных вариантов генов *CYP2C19* 681G>A и *GSTP1* 313A>G с развитием ТБ легких в когорте русских жителей г. Томск [Н. П. Бочков и др., 2011].

Установлено возможное модифицирующее влияние полиморфизма 681G>A гена *CYP2C19* на увеличение объема зоны поражения легочной ткани при уже возникшем заболевании.

Пристальное внимание исследователей обращено к индивидуальным особенностям функционирования системы биотрансформации при онкологических заболеваниях, так как доказано влияние большинства химических агентов, с которыми человеку приходится сталкиваться как в быту, так и на производстве, на процессы канцерогенеза [Генетический паспорт, 2009; Генетический и фенотипический полиморфизм человечества [Электронный ресурс]; Гены биотрансформации [Электронный ресурс]; S. Anttila et al., 1995; D. P. Miller et al., 2002; M. Munaka et al., 2003; A. B. Spurdle et al., 2000; C. E. Tadokoro et al., 2006].

Развитие химически обусловленных опухолей — результат влияния разнообразных канцерогенных агентов с разными механизмами действия. Генетические перестройки, влияющие на механизмы детоксикации и активации онкогенов и других факторов онкогенеза под действием канцерогенных агентов, возможны как в соматических, так и в половых клетках.

В таблице 9.3, из многообразия генов, влияющих на канцерогенез (протоонкогены, антионкогены, гены, регулирующие апоптоз и др.), представлены наиболее изученные гены и их полиморфизмы.

Таблица 9.3 – Некоторые гены, влияющие на развитие канцерогенеза [Зайцева Н.В., 2016; Имянитов Е.Н., 2010; Патология в 2-х томах, 2010; Прозоровский В., 2006; Рембовский В.Р., Могиленкова Л. А., 2015; Auguste P. et al., 2005]

Группы генов, влияющих на развитие канцерогенного эффекта	Гены (мутации)
Регулировка клеточного цикла	<i>Cyclins D, E; pRB; p53; P16(INK4a); P15(INK4b); FOXO3a;</i> гены семейства белка <i>14-3-3σ; RASSF1; MMP2, MMP9</i>
Передача сигналов	<i>KRAS; Ki-ras, N-ras; Src; mPHK MGB</i>
Репарация ДНК	<i>MGMT; MLY1; BRCA1; BRCA2; MSH2; MLH1; PMS1; PMS2; RAD51, TP53, STK11/LKB1; CHEK2; PALB2; BRIP1; ATM</i>

Продолжение табл. 9.3	
Группы генов, влияющих на развитие канцерогенного эффекта	Гены (мутации)
Апоптоз	<i>DAPK; p53; Bcl-2; MMP9; DR4 (Arg); Casp8 His302(Asp);</i>
Гормональный фактор	<i>TERT; TERC</i>
Факторы активации	<i>LMYC; MYCL1 T/G (L/S)</i>
Факторы транскрипции	<i>mys; VHL</i>
Онкогены	<i>mos; , A-raf; B-raf; fos; PSCA; p16CDKN2A HPV 16, 18</i>
Протоонкогены	<i>c-ras p21; c-mys; c-fos c-kit; HGF/SF рецептор (продукт протоонкогена c-Met), CTCF</i>
Супрессорные гены (антионкогены)	<i>Rb; p53; DCC; APC; NF1; NF-2; BRCA1; BRCA2; PALB2; MTS-1 (или p16)</i>
1 фаза биотрансформации ксенобиотиков	<i>CYP 1A1 (n; *2A; *2B; *4 C4887A, A4889G, T6235C; MspI)</i>
	<i>CYP 1A2 (*1A, C164A); *1B: 1545 T>C</i>
	<i>CYP 2A6 (*2, *3, *4: Leu160His конверсия, делеция)</i>
	<i>CYP 2C9 2A6 (*2, *3; 430C>T, 1075 A>C</i>
	<i>CYP 2C19 (*2; 681G>A)</i>
	<i>CYP 3A4 (*1B5')</i>
	<i>CYP 3A5 (*3A; 6986 A>G)</i>
	<i>CYP 2E1</i>
2 фаза биотрансформации ксенобиотиков	<i>GSTM1(0/0)</i>
	<i>GSTP1 (*B; *C: Ile105Val, 313A> G, Ala114Val, 341 C>T)</i>
	<i>GSTT1 (0/0)</i>
	<i>NAT2 (*4, *12 – быстрые; *5A, *5B, *5C, *6, *7 – медленные ацетиляторы)</i>
	<i>SULT1A1</i>
Ферменты антиоксидантной системы	<i>SOD2 C (T/C и C/C)</i>
	<i>CAT T (T/T и C/T); G (G/G)</i>
	<i>GPX4 T (C/T и T/T); C (C/C)</i>
Факторы роста эндотелия сосудов	<i>VEGF – угнетение ингибиторов фактора роста (тромбоспондин, ангиостатин и эндостатин, пролактин, фрагменты гепарина и др.) экспрессия мРНК VEGF</i>
Цитокины	<i>IL 1α,β; TNF (RANKL); TNFα (G308); IL17A(G197A); IL-6P (gp80/gp130); IL-10 (-1082; -592) экспрессия мРНК IL-10</i>
Фолатный цикл (синтез метионина из гомоцистеина)	<i>MTHFR (C677T)</i>

Полиморфизмы, участвующие в метаболизме канцерогенов, изучаются как факторы риска онкопатологии. Генетическая предрасположенность/устой-

чивость — одна из важных гипотез, объясняющих, почему у малого числа курильщиков развивается рак легкого.

Выявлено, что в развитии онкозаболеваний имеет значение не один генотип, а их специфическая комбинация.

Так, повышенный риск РЛ у курильщиков европеоидной расы имеют индивиды с комбинацией генотипов *GSTM 0/0*, *GSTP1 AG+GG* и *GSTM3 AA* [N. Jourenkova-Mironova et al., 1998]. Отмечена связь развития РЛ у индивидов с «нулевым» генотипом гена *GSTM1* в присутствии р53 Pro аллеля [D. P. Miller et al., 2002]. Взаимодействие между *GSTP1* и *GSTM1* генами в японской популяции у мужчин-курильщиков в возрасте 50-69 лет может привести к повышенному риску РЛ при комбинации одного из вариантов аллелей *GSTP1* и нулевого генотипа гена *GSTM1* [J. To-Figueras et al., 1996].

Нулевой генотип гена *GSTT1*, ассоциированный с канцерогениндуцированными хромосомными изменениями в лимфоцитах, может увеличивать риск подверженности к миелодисплазии [C. Crump et al., 2000]. При обследовании пациентов с острой миелоидной лейкемией была показана повышенная частота делеции в гене *GSTT1* среди больных (60%), что практически в три раза выше, чем в контрольной группе (17%).

Индивиды с делецией по генам *GSTT1* и *GSTM1* имели несколько больший риск ОМЛ. У лиц со вторичной ОМЛ делеция *GSTT1* встречается на 20% чаще по сравнению со случаями *de novo*, что характерно и для индивидов с «нулевым» генотипом гена *GSTM1*. Отмечено, что при замене аденина на гуанин в гене *GSTP1*, кодирующем соответствующий фермент, индивиды с аллелем *Val105* имеют повышенный риск развития рака легких.

Показано модифицирующее влияние на развитие РЛ употребления в пищу обладающих антиканцерогенными свойствами изотиоцианатов, содержащихся в крестоцветных овощах, у курильщиков гомозиготных по «нулевым» генотипам *GST* [M. R. Spitx et al., 2000].

Выявлена роль экспрессии молекулы FOXP3 CD4⁺ Т-клетками в патогенезе множественной миеломы [А. Н. Митин и др., 2014]. Основной вклад в увеличение процента CD4⁺ Т-клеток вносили клетки, которые экспрессировали изоформу FOXP3, лишенную экзона 2. У первичных пациентов также увеличивалось число всех CD4⁺ FOXP3 Т-клеток. При ремиссии заболевания нормализовалось их количество и, соответственно, регуляторных Т-клеток.

Особая роль в процессе канцерогенеза принадлежит ангиогенезу [Онкология, 2009; В. Прозоровский, 2006; P. Auguste et al., 2005]. Степень экспрессии гена *VEGF*, стимулирующей образование новых сосудов в опухоли, имеет большое прогностическое значение в онкогенезе [H. Paley et al., 2000].

Мишенями канцерогенных агентов являются протоонкогены, регуляторы пролиферации и дифференцировки клеток опухолей (антионкогены), ингибирующие пролиферацию клеток; гены, участвующие в апоптозе клеток; гены, отвечающие за репарацию ДНК; гены-мутаторы; гены, участвующие в процессах детоксикации ксенобиотиков, а также теломераза и т.д. (табл. 9.3). О возможности апоптоза в опухолевых клетках свидетельствует экспрессия многих маркеров: CD95, рецепторов к ФНО- α , ТФР- β , каспаз, *Araf-1*, проапоптозных членов семейства *bcl2*, цитохрома C, p53, протеина S100.

В настоящее время известно более 200 онкомаркеров, к наиболее изученным из них относят РЭА, АФП, СА-19-9, СА-125, СА-15-3, СА-72-4, ПСА, HCE, Cyfra 12-1.

Повреждения митохондрий, обуславливающие метаболическое перепрограммирование, освобождение некоторых митохондриальных белков, рассеяние трансмембранной разности потенциалов, разрушение электронтранспортной цепи, продукцию активных форм кислорода, торможение синтеза АТФ определяют различные аспекты апоптоза, нарушение биоэнергетических функций и перерождение клетки в опухолевую.

Наиболее изучены две системы, оказывающие кардинальное регулирующее влияние на процесс клеточной пролиферации: протоонкогены и гены-супрессоры.

Протоонкогены и гены-супрессоры образуют сложную систему позитивно-негативного контроля клеточной пролиферации и дифференцировки. Активация протоонкогенов и превращение их в клеточные онкогены происходят при опухолевом росте, в ходе эмбриогенеза.

Активация ряда клеточных онкогенов возможна при пролиферации и дифференцировке клеток в очагах репаративной регенерации. В основе изменения уровня экспрессии протоонкогенов могут лежать самые разнообразные процессы, такие как: амплификация гена, транслокация его под более сильный промотор другого гена, транскрипция гена с промоторов интегрированных ретровирусов и мобильных элементов. Появление онкогена связано с неадекватной (количественной, качественной или временной) экспрессией (или активацией) протоонкогена. Происходит образование онкобелков, кодируемых онкогенами.

По функциональной активности и структурному сходству с элементами сигнальной митогенетической цепочки все онкобелки делят на онкобелки — гомологи факторов роста (*c-sis*, *int-r*, *k-fgt* и др.), онкобелки — гомологи рецепторов к факторам роста (*c-erb B*, *c-erb A* и др.), онкобелки, связанные с работой рецепторов, аналоги G-белка (*c-ras*), протеинкиназные белки (*c-src*, *c-fps*, *c-fes*, *c-abl*, *c-met*), онкобелки, передающие ростовые сигналы на ДНК (*c-*

fos, c-jun, c-myc и др.).

По локализации в клетке различают ядерные (*myc, fos, myb*), цитоплазматические (*fps, mos, fms*) и мембранные онкобелки (*sre, abl, ras*). В настоящее время наиболее изучена канцерогенная активность протоонкогенов группы *ras* (*HRAS, KRAS2*).

Гены-супрессоры опухолей являются функциональными антагонистами онкогенов. Выявлено более 10 антионкогенов, функция которых состоит в предупреждении трансформации протоонкогенов в активные онкогены, сохранении постоянства генерации клеток, индукции апоптоза в случае нарушения структуры ДНК [Патологическая физиология, 2009].

Дефекты генов-супрессоров приводят к прогрессии, а восстановление функции этих генов — к существенному замедлению пролиферации или даже реверсии развития опухоли.

К группе генов «общего контроля» относят ген *p53* и те гены-супрессоры, продукты которых не входят в системы репарации ДНК непосредственно, а принимают участие в организации «контрольного пункта» проверки ДНК перед переходом клетки к следующей стадии клеточного цикла.

К группе «хранителей клеточного цикла» (ХКЦ) относят такие гены как *RB1* (ретинобластома), *WT1* (опухоль Вильмса), *NF1* (нейрофиброматоз типа I), а также гены, способствующие образованию клеточных контактов, и другие. Если унаследована поврежденная копия гена *ХКЦ*, образование опухоли может быть инициировано соматической мутацией в неповрежденном аллеле.

Наиболее изученными из антионкогенов в настоящее время являются гены *p53* и *Rb*. Аномальное метилирование промоторных и регуляторных [Системы генетических..., 2009] районов генов-супрессоров опухолевого роста (*Rb1, p16, MLH1, CDH1, p53*), а также *K-ras* является одним из наиболее ранних проявлений канцерогенеза.

Анализ результатов цитогенетических исследований показал, что уровень мутагенного ответа зависит от взаимодействия аллельных вариантов нескольких генов (например, мутации генов *PON1* и *CAT*; *GSTT1* и *GSTM1*; *CYP1A1* и *EPHX1* и т.д.) [С. Р. Мингазова, 2011; Клиническая фармакокинетика, 2009; S. MacLeod et al., 1997].

Сочетания определенных аллельных вариантов нескольких генов может оказывать защитное действие при поступлении мутагенов или вызвать их повреждающее влияние.

Так, сочетание активных полиморфных вариантов *PON1* и *CAT* приводит к уменьшению числа хромосомных разрывов на клетку по сравнению с вариантами со слабой активностью этих ферментов. Одновременно по генам *GSTT1* и *GSTM1* определен более высокий уровень хромосомных aberrаций

в культуре лимфоцитов периферической крови обследованных лиц.

Таким образом, процессы канцерогенеза связаны с полиморфизмом разнообразных генов, многообразными эпигенетическими нарушениями, сопровождающимися изменениями функционирования систем детоксикации, а также нервной, эндокринной систем, значение которых не до конца изучено.

Характер индивидуальной устойчивости/предрасположенности к действию неблагоприятных факторов зависит от аллельного полиморфизма генов, кодирующих маркерные ферменты биотрансформации про- и антиоксидантных систем (табл. 9.4).

Таблица 9.4 – Сочетание аллелей генов системы биотрансформации ксенобиотиков, определяющее устойчивость (чувствительность) к действию неблагоприятных факторов [С. А. Григорьева, 2011]

Генотип	<i>CYP1A1</i>	<i>PON1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>GSTM1</i>	<i>CAT</i>	<i>MPO</i>
«Протективный» устойчивый	ILE/ILE	M/M	+/+	+/+	T/T	A/A
«Предрасполагающий» чувствительный	ILE/VAL, VAL/VAL	L/M, L/L	0/0	0/0	C/C, C/T	G/G, G/A

М. А. Солодиловой (2009) было установлено, что в основе формирования генетической предрасположенности к патогенетически самостоятельным нозологическим формам МФЗ лежат структурно-функциональные особенности организации генной сети ферментов редокс-гомеостаза, патологические эффекты которой зависят от влияния факторов внешней среды прооксидантного и антиоксидантного действия.

Полученные результаты представляют несомненный интерес для их использования при проведении клинико-генетических и эпидемиологических исследований различных когорт населения.

Автором отмечено, что МФЗ характеризуются существенными различиями по возрасту начала (манifestа) заболевания: в частности, наличие генотипа 198PP гена *GPX1* ассоциировалось с пониженным риском раннего манифеста язвенной болезни желудка (ЯБЖ), а его отсутствие было ассоциировано с повышенным риском аллергической формы БА позднего манифеста.

Носительство гетерозиготного генотипа 173GV гена *GPX2* оказывало выраженное влияние на риск раннего развития не аллергической формы БА.

Отсутствие генотипа +2650TC гена *GPX4* ассоциировалось с пониженным риском, а наличие генотипа +2650CC данного гена, напротив, — с повышенным риском позднего манифеста ЯБЖ, что было характерно и для риска развития транзиторной формы гипертонической болезни.

Установлена генетическая гетерогенность этиологии исследуемых МФЗ у мужчин и женщин.

Патологические эффекты генотипов ферментов АОС обнаруживались при условии прооксидантного действия среды (курение, отсутствие или недостаток антиоксидантного действия растительной пищи).

Обратная картина взаимодействий генотип — среда наблюдалась при оценке антиоксидантных влияний (растительная пища) на риск развития изучаемых болезней у носителей различных генотипов ферментов АОС. Причем отдельные генотипы АОС имели протективную значимость в условиях антиоксидантного влияния факторов внешней среды, тогда как в отсутствии действия этих факторов были нейтральными в отношении риска развития болезней.

Определено, что генетическими маркерами развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки являются группы крови O(I), Rh(-), антигены системы Льюис а-Ь+ и фенотип Gml(-) [А. И. Хавкин и др., 2006].

В развитии сердечно-сосудистых заболеваний участвует полиморфизм гена *TNF-α* [А. В. Шевченко и др., 2010; T. Skoog, W. Dicht, S. Voquist et al., 2002]. Так, у носителей гомозиготного варианта -308AA значительно возрастает риск развития инфаркта миокарда с зубцом Q. У пациентов с ИБС в анамнезе, несущих в генотипе вариант -308*AG, риск развития инфаркта миокарда был статистически значимо снижен.

Носительство гетерозиготной формы полиморфизма R506Q гена *FV* (генотип R/Q) повышает риск тромбоза вследствие усиления прокоагуляционных свойств крови [В. В. Долгих и др., 2014].

Медленные аллельные варианты гена *NAT2* (*NAT2*5A* (341T * C и 481C * T), *NAT2*5B* (341T*C, 481C*T) и *NAT2*6A* (282C*T, 590G*A) являются «протекторными» и способствуют снижению уровня фермента N-ацетилтрансферазы, замедляя реакцию превращения ацетил-КоА в ацетоацетил-КоА, и нарушают многоэтапную цепь синтеза холестерина [О. В. Шевченко и др., 2012].

Мутация гена *FOXP3*, участвующего в регуляции Treg-лимфоцитов, идентифицированная как дефектный сцепленный рецессивный мутантный ген, обнаружена у человека [Регуляторные лимфоциты [Электронный ресурс]. Экспериментально получено, что введение *FOXP3* в обычные Т-клетки приводит к тому, что они приобретают такую же способность к иммуносупрессии, как и исходно полноценные Т-reg-клетки, образовавшиеся в тимусе.

Дефицит *FOXP3* приводит к тяжелым заболеваниям с летальным исходом: X-сцепленному синдрому аутоиммунитета и аллергической дисрегуляции (XLAAD) и др. Среди клинических форм преобладают сахарный диабет типа 1, тиреоидит, воспалительные заболевания кишечника, аллергический дер-

матит, аллергия к пищевым продуктам, нарушение гемопозза, тяжелые инфекционные заболевания.

С мутацией MUNC13-4 (ген *UNC13D*) связан семейный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз типа 3, к развитию которого приводит дефицит перфориновой дегрануляции NK-клеток [NK-клетки [Электронный ресурс]. Для этой патологии характерно нарушение цитотоксичности NK- и Т-лимфоцитов, обуславливающие развитие системного воспаления, увеличение содержания CD8+ Т-клеток, макрофагальную инфильтрацию и формирование повышенного уровня провоспалительных цитокинов.

Таким образом, в зависимости от особенностей генотипа по-разному осуществляется детоксикация ксенобиотиков, обуславливающая сопряжение ферментов биотрансформации (цитохрома Р 450, ацетилтрансфераз, глутатионтрансфераз и др.) и других систем.

Возможны синергические взаимодействия между митДНК и вариантами ядерной ДНК, приводящими к энергодефициту и функциональной недостаточности защитных механизмов гомеостаза организма человека, развитию полигенной патологии.

Вместе с тем точность современного генетического тестирования в прогнозировании количественных признаков МФЗ составляет 10-15% [В. С. Баранов, Е. В. Баранова, 2016]. Причинами вероятностного характера результатов генотипирования могут быть: малый вклад в величину риска отдельных аллелей генов-кандидатов ($OR=1,1-1,5$); редкие мутации, не определяемые GWAS, эффект эпистаза (замена, модификация функциональных эффектов одного гена другим), эпигенетические изменения, незнание функций некодирующих белки SNP, достоверно сцепленных с МФЗ, недооценка действия экзогенных факторов.

Взаимодействия белок — белок, ДНК — белок могут компенсировать функции неблагоприятных аллелей генов, проявляющиеся на различных уровнях организации живой материи: молекулярном, биохимическом, клеточном, межклеточном и т.д.

Важность необходимости изучения эпистатического сочетания и единичных генов, анализа профиля метилирования ДНК, экспрессии микроРНК, роли этнической гетерозиготности и клинической гетерогенности больных, влияющих на «недостающую — потерянную» наследуемость также отмечена и другими авторами [О. О. Фаворова и др., 2016; С. М. Lill, 2014].

Установлено, что эпигеном играет важную роль не только в клеточной специализации в развивающемся организме, но он может управлять и биологическими реакциями на условия окружающей среды, которые позитивно или негативно сказываются на здоровье людей, не меняя при этом

ДНК.

Эпигенетические изменения, индуцированные средовыми стрессами у представителей одного поколения, наследуются последующими поколениями [Эпигенетика. Александр Вайсерман [Электронный ресурс].

Эпигенетические изменения в фенотипе или экспрессии генов могут проявляться патологическими нарушениями, в том числе развитием нейродегенеративных, сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, новообразований и других МФЗ.

На эпигенетически зависимое развитие МФЗ могут влиять пол, возраст, плохое питание, социальные взаимодействия, экологические проблемы и другие причины.

Недостаточное питание во время беременности вызывает негативные последствия для здоровья ребенка на протяжении всей его жизни. Особенно опасно недоедание в первые 10 недель беременности. Поэтому дородовой уход является ключом к здоровью будущих поколений.

Эпигенетические изменения связаны с социальными и поведенческими взаимодействиями. Стрессовые ситуации влияют на геном, при этом эпигенетические изменения сохраняются даже после того, как гормон стресса покидает организм. С помощью специальных лекарственных препаратов можно улучшать эпигенетический фон.

Эпигенетическими канцерогенами, которые приводят к увеличению частоты возникновения опухолей, не проявляя при этом мутагенного эффекта, являются диэтилстилбестрола арсенит, диоксины, гексахлорбензол, соединения никеля и др.

Онкологические заболевания включены в список потенциальных болезней, связанных с эпигенетическими изменениями.

Рак может быть вызван не только мутациями гена, но опухоли могут развиваться и тогда, когда нормальные клетки получают эпигенетический сигнал не выполнять свою защитную функцию.

Эпигенетические изменения могут привести к увеличению случаев мужского бесплодия или слабому производству спермы.

Важно, что эпигенетические изменения могут сохраняться на протяжении следующих четырех поколений.

В эпигенетических процессах также важна роль микробиоты, первичного защитного барьера организма [Е. И. Ткаченко и др., 2012]. Микробиота наследственно обусловлена, генетически детерминирована, индивидуальна, специфична.

Микроорганизмы, живущие в наших тканях и органах, воздействуют на экспрессию генов посредством своих ДНК, РНК, в том числе и микроРНК.

Метаболиты микроорганизмов участвуют в обменных процессах человека (холестерина и других липидов, полиненасыщенных жирных кислот, витаминов и т.д.), влияют на здоровье и долголетие. Синтезируя белки-метаболиты, влияют на биохимические и физиологические процессы; однако могут явиться причиной развития заболеваний.

Наиболее распространенными эпигенетическими механизмами при патологических процессах являются снижение метилирования ДНК, модификации гистонов, нарушение транскрипции микроРНК [В. И. Киселев, М. А. Пальцев, 2015].

Эпигенетические нарушения не затрагивают первичную структуру ДНК, имеют множество взаимосвязанных механизмов, бывают долго- и кратковременными, могут быть обратимыми или передаваться по наследству [А. М. Вайсерман, 2008], информация об адаптации к стрессу (например, от самок нематод и дрозофил) передается до 20-30 поколений [П. Г. Светлов, Г. Ф. Корсакова, 1970; Hourí-Ze'evi L. et al., 2016].

Изменения признаков могут быть связаны с нарушениями динамической памяти, а именно с воздействиями на короткоживущие регуляторные молекулы (белки или РНК), которые служат каналом обратной связи [Молекулярные механизмы ..., 1985]. Перед генетиками стоит вопрос установления порогового уровня эпигенетических изменений, в том числе обусловленных токсическим воздействием, выявления определенных процессов (эпигенетический код), участвующих в запуске патологической реакции, и определения «нормы» для этноса, популяции, возрастов, полов и индивидуумов [Е. Л. Паткин, Г. А. Софронов, 2012].

При оценке состояния здоровья индивидуума общепринятое понятие «норма» наполняется новым смыслом. Норма как среднестатистический показатель — это довольно условная величина, при применении которой не учитываются индивидуальные гено- и фенотипические особенности человека. Уровень здоровья индивида надо рассматривать в динамике относительно исходных для данного этапа обследования результатов, так как в течение жизни человека и в процессе развития заболевания молекулярное разнообразие меняется.

Так, существенным фактором развития негативных эффектов также может явиться использование лекарственных препаратов, которые оцениваются как четвертая по значимости причина смерти в США [J. Drews, S. Ryser, 1997].

Исходя из анализа современных сведений, на рисунке 9.1 представлена схема взаимодействия химического и наследственных факторов, вызывающих развитие нарушений в организме человека и заболеваний химической этиологии.

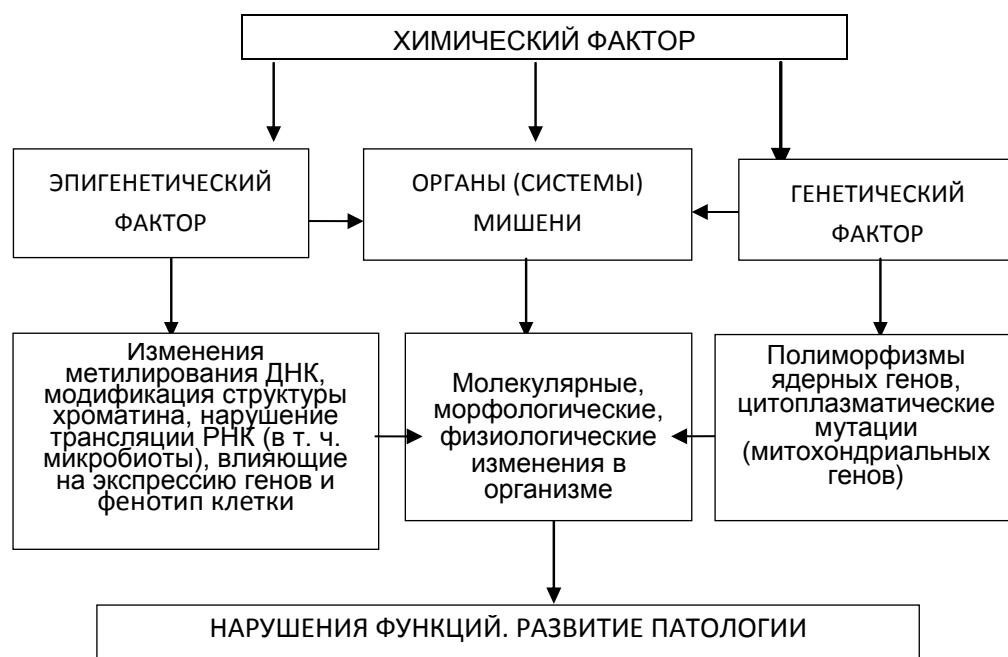


Рис. 9.1 Взаимосвязи влияния химического и генетического факторов на развитие патологии у человека.

Таким образом, наследственные факторы играют важную роль в обеспечении здоровья человека. Учет этих факторов через рационализацию образа жизни человека, в том числе обеспечение химической безопасности, может сделать его жизнь здоровой и долголетней; и, наоборот, их недоучет ведет к незащищенности перед действием химических загрязнителей и других неблагоприятных условий жизни.

9.3 От персонифицированной медицины к персонализированной токсикологии

В последние годы ученые многих стран активно развивают и внедряют в практику теорию персонифицированной медицины, которая направлена на раннее выявление рисков возникновения того или иного заболевания у конкретного пациента и повышение качества лечения [В. С. Баранов и др., 2000; 2016; В. И. Киселев, М. А. Пальцев, 2015; К. К. Jain, 2002; L. Hood, S. H. Friend, 2011].

Персонализированный подход на основе молекулярной диагностики может явиться приоритетным в развитии клинической токсикологии (профпатологии), основной проблемой которой является сложность доказательности развития «специфической и неспецифической» патологии при действии химических соединений, особенно при проявлениях низкоуровневых эффектов,

характерных для ряда химикатов, в частности для ФОС и веществ, обладающих канцерогенным действием.

Известно, что с древних времен существовали представления о человеке как целостном, о его структуре, связях с миром. Еще Авиценна и Гиппократ выделили несколько градаций здоровья. Задачу врача Гиппократ видел в изучении индивидуальных особенностей больного, в обеспечении мобилизации сил организма для восстановления здоровья.

В той или иной степени проблемы индивидуального подхода интересовали И. М. Сеченова, С. П. Боткина, И. П. Павлова, Н. М. Амосова, Г. Л. Апанасенко и других отечественных ученых [И. А. Тихомирова, 2007].

Основоположником науки о здоровье человека в современном ее понимании считается И. И. Брехман, который впервые (1982 г.) разработал методологические основы сохранения и укрепления здоровья практически здоровых людей.

Исследуя роль адаптогенов, он сформировал новое научное направление — фармакосанацію («лекарства» для здоровых), пришел к заключению о необходимости изменить всю стратегию здравоохранения путем изучения этиологии, диагностики качества и количества здоровья индивида. В 1987 г. И. И. Брехман издал первую монографию по этой проблеме «Введение в валеологию — науку о здоровье».

За рубежом аналогом валеологии является направление «health promotion» и «health education».

В конце 90-х годов XX века разработка современных на тот период молекулярно-генетических методов способствовала развитию нового направления отечественной медицинской генетики — предсказательной, профилактической (предупредительной) индивидуальной медицины.

Основателем индивидуальной (персонифицированной) медицины, является членкор РАН В. С. Баранов, который впервые в России сформулировал концепцию предиктивной медицины и обосновал создание «генетического паспорта» человека [В. С. Баранов и др., 1999, 2000, 2016; V. S. Baranov, 2009]; эти разработки получили и международное признание.

Развитие международной базы исследования генома человека в это же время поставило цель распространения назначения конкретного лекарства конкретному больному (индивидууму) на основании фармакокинетических и фармакогеномных сведений [К. К. Jain, 1998, 2002].

Это направление связано с развитием инновационных технологий, базирующихся на клеточных и биомолекулярных методах, разработкой новых генетических и эпигенетических методов диагностики, способов профилактики, средств лечения и реабилитации пациентов.

Термин персонифицированная (персонализированная) медицина — «personalized medicine» впервые появился в 1998 г. в названии монографии американского исследователя Кевала Джайна.

Имеются и другие термины для обозначения индивидуализации диагностики и лечения: «медицина под заказчика» (tailored medicine), предсказательная (predictive medicine) — предикативная (предупредительная) медицина, геномная медицина (genomic medicine), фармакогенетика (pharmacogenetics), фармакогеномика («pharmacogenomics»). Распространенный термин фармакогенетика был введен еще в 1959 г., а в 1962 г. появилась первая монография канадского фармаколога Вернера Кэлоу, обобщающая известные факты о генетических основах индивидуальной чувствительности, видовой, половой и возрастной восприимчивости организмов к лекарственным веществам, о метаболизме, толерантности к ним и т.д.

В настоящее время принято, что персонифицированная медицина — это медицина 4 «П» [L. Hood, S. H. Friend, 2011]: предиктивная (предсказательная); предупредительная (профилактическая); персонализированная (индивидуальная), партисипативная (при активном участии пациента).

Предиктивная медицина — это определение вероятности развития тех или иных заболеваний для корректировки образа жизни пациента (работника) в целях продления жизни, повышения ее качества и предопределение начала серьезных заболеваний, снижение рисков их проявления, подбор оптимального лечения.

Профилактическая медицина означает, что основной объем действий медико-санитарного обеспечения (лечащего и санитарного врача) должен быть направлен не на лечение заболевания, а на предупреждение начала его развития.

Партисипативная медицина — медицина будущего, подразумевающая активное участие пациента в процессе принятия как конкретных медицинских решений, так и в определении общей стратегии мониторинга состояния его здоровья.

Персонализированная медицина — подход к оказанию медицинской помощи с профилактической направленностью на основе индивидуальных характеристик пациентов.

На современном этапе персонализированная медицина — это целевая диагностика и лечение больного, ориентированные на использовании методов направленного пациентоориентированного лечебно-диагностического воздействия в соответствии с особенностями генетического профиля этого пациента. Ее основная задача — индивидуальное лечение в рамках

общественной системы здравоохранения.

Основополагающий принцип этой так называемой «персональной медицины»: подходящий пациент; подходящее лекарство; подходящая доза [Персонализированная медицина [Электронный ресурс].

В модели составление многофакторной базы данных на каждого пациента предполагает учет его биологических и психосоциальных особенностей, интеграцию конституциональных, поведенческих, морфофизиологических, метаболических особенностей во взаимосвязи с экологическими и другими факторами.

В основе дифференциальной диагностики болезней оценка клинической картины пациента складывается из результатов анализа работы множества систем гомеостаза организма, включая молекулярный уровень, наличие наследственной предрасположенности и др.

Становление персонализированной медицины, связанной с кастомизацией (подбором под индивидуальные особенности) лекарственных препаратов, означает переход медицины от традиционной фармакотерапии, ориентированной на всю популяцию, к новой модели групповой (а в идеале индивидуальной — молекулярно-таргетной («молекулярно-прицельной») терапии, к ее новому этапу — таргетной медицине.

Развитие этого направления может дать большую эффективность и безопасность лечения и затем на основе системной генетики позволит перейти к разработке трансляционной (точной) медицины на основе доказательности [В. С. Баранов, Е. В. Баранова, 2016].

В рамках формирования нового направления токсикологии, базирующейся на знаниях и практике персонифицированной медицины — персонализированной токсикологии, в том числе профпатологии, вызванной длительным установленным воздействием условий производства на организм, останутся три классических аспекта: профилактика патологического состояния, его диагностика и лечение (в случае возникновения заболевания вследствие действия химического фактора и сопутствующих причин).

Персонифицированная профилактика вместе с традиционными мероприятиями позволяет разрабатывать конкретные рекомендации по предупреждению производственно обусловленных и других заболеваний, связанных с химическим воздействием (соблюдение мер охраны труда и защиты окружающей среды, профессиональной ориентации, правил образа жизни, диспансерное наблюдение и ранняя регистрация, применение соответствующих немедикаментозных и медикаментозных средств профилактики).

Однако на современном этапе вопросы развития персонифицированной профилактики зачастую носят декларативный характер и требуют накопления

данных, получаемых при персонафицированной диагностике, которая развивается достаточно быстро.

Персонафицированная диагностика — это выбор биомаркеров и количественное их определение для свидетельства о наличии какого-либо специфического расстройства или предрасположенности к нему.

Важную роль в персонализированной медицине имеет молекулярный диагноз. Он включает определение геномов (GWAS, NGS), гаплотипов, исследование экспрессии генов (EWAS), а также «мультиомиксные» методы (метабономики, метаболомики, протеомики, липидомики и др.), которые начали внедряться при клинико-эпидемиологических исследованиях персонала и населения при работах на ХОО, проводимых ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России.

Молекулярная диагностика может применяться в генетическом скрининге больших популяций, а также как вспомогательное средство в клинических испытаниях. На современном этапе на основе молекулярной медицины расширяются возможности диагностики показателей различных патологических состояний.

В клинической практике применяются сотни генетических маркеров, разработаны панели генетических тестов для многих мультифакториальных болезней, включая заболевания, обусловленные загрязнением среды обитания человека химическими токсикантами.

Составление геномной сети для каждого мультифакториального заболевания, идентификация в ней центральных генов и генов-модификаторов, анализ ассоциации их полиморфизма с соответствующим заболеванием с целью разработки профилактических мероприятий для конкретного пациента составляют основу предикативной медицины.

Получаемые результаты позволяют проводить раннюю индивидуальную диагностику на предсимптомных стадиях, до появления клинических проявлений болезни, оценивать резервные возможности организма [В. С. Баранов и др., 2000, 2016; V. S. Baranov, 2009].

Роль генетических и средовых факторов многообразна в развитии наследственно обусловленных болезней и своеобразна для каждого больного, в том числе подвергающегося или подвергавшегося воздействию химических загрязнителей.

Первостепенное значение в клинической токсикологии на базе молекулярной диагностики, как и при классическом подходе, должно уделяться подбору молекулярных биомаркеров. Это позволит уточнить биологические соединения, свидетельствующие о наличии какого-либо специфического токсического эффекта или генетически обусловленной подверженности ему

при действии соответствующего химического агента.

Мишени воздействия (маркеры) чаще всего определяются на уровне клеток и субклеточных структур.

При оценке здоровья работающих с ОХВ необходимо учитывать влияние генетического, химического и сопутствующих факторов:

- мутации генов, обуславливающих изменение (снижение) активности ферментов биотрансформации, которое вызывает развитие разнообразной патологии, в наибольшей степени — злокачественных новообразований, болезней сердечно-сосудистой и дыхательных систем;

- сочетание неблагоприятных полиморфизмов генов, кодирующих ферменты биотрансформации, компонентов иммунной системы и антиоксидантной защиты;

- метаболиты предыдущей фазы детоксикации, влияющие на посредников последующих фаз биотрансформации и на конечную токсичность;

- эффект эпистаза — взаимодействие неаллельных генов, при котором действие одного гена (эпистатического) подавляет действие другого (гипостатического);

- эпигенетические изменения;

- значительное усиление токсической реакции на химический агент при комбинации двух и более генетически обусловленных токсикокинетических дефектов у индивидуума;

- генетически обусловленная предрасположенность к патологии органов-мишеней;

- уровень загрязненности ксенобиотиками среды обитания и пищевых продуктов;

- коканцерогенный и канцерогенный эффекты малых доз отдельных токсикантов;

- пол, возраст и другие внутренние факторы;

- нарушение образа жизни, в том числе наличие «вредных привычек» (табакокурение, употребление алкоголя, наркотиков и т.д.) и других неблагоприятных факторов.

Вместе с тем, несмотря на достигнутые успехи в области изучения генома человека и в разработке высокоразрешающих методов анализа ДНК, по-прежнему, известно относительно небольшое число генов, которые в совокупности только частично объясняют некоторые звенья патогенеза МФЗ и, тем более, токсического поражения при химическом воздействии.

Низкая эффективность таких генетических исследований обусловлена не только сложностью межгенных взаимодействий, генетической гетерогенностью, выраженным клиническим полиморфизмом данных

болезней, существенно затрудняющих картирование генов, обуславливающих развитие патологических состояний, но и эволюционно сложившимися взаимодействиями генотип — среда, специфичными для каждой человеческой популяции и отдельного человека [В. П. Пузырев, В. А. Степанов, 1997; А. В. Полоников, 2006].

Кроме того, в генетических исследованиях зачастую игнорируются эпигенетические и другие эффекты, обусловленные действием окружающей среды, которые для МФЗ и особенно для интоксикаций химической этиологии могут иметь решающее значение.

На современном этапе развития клинического раздела токсикологии приемы персонифицированной диагностики стали применяться и при изучении особенностей биологического действия ОХВ: генетико-биохимические показатели начали использоваться при выявлении индивидуального влияния разнообразных химических загрязнителей производственной и окружающей среды на здоровье контактирующих с ними людей.

Изучение полиморфизма генов, кодирующих ферменты биотрансформации, АОС, цитокины, белки иммунной системы, субстратов органов-мишеней, а также эпигенетических изменений показало их разнообразие, сложность взаимодействия, что требует углубленного анализа, накопления и систематизации пока еще разрозненных фактов на основе достижений молекулярной биологии, биоинформатики.

Основываясь на принципе предсказательности, подход к изучению химически обусловленных заболеваний на генетическом уровне создает более точное представление о болезнях, условия для проведения их классификации.

При персонализированной диагностике кроме современных генетических и традиционных клинико-физиологических, биохимических, иммунологических и других методов клинической токсикологии следует использовать новые «омиксные» технологии молекулярной диагностики (табл. 9.5).

Развитие генетико-аналитических методов (на основе омиксных технологий) позволяет определять маркеры на уровне генома, транскриптома, протеома, липидома, метаболома и более надежно оценивать индивидуальный статус здоровья человека, прогнозировать риск развития заболевания, его течение.

В токсикологии из омиксных методов начала применяться токсомика: в общепринятом значении — это измерение метаболома и транскриптома токсичных веществ с целью описания всех клеточных процессов, связанных с проявлением токсичности.

Однако токсомика также должна включать изучение генотипа, эпигенетических факторов, состава белков, липидов, патогенетически значимых показателей, которые определяют развитие наследственных, многофакторных и других заболеваний, отражающих ответную реакцию организма на действие ксенобиотиков.

Таблица 9.5 – Омиксные технологии, рекомендуемые для применения в персонализированной токсикологии

Омиксные технологии	Задачи исследования
Геномика	определение совокупности наследственного материала в клетке организма (совокупности генов, содержащихся в гаплоидном наборе хромосом)
Эпигеномика	определение совокупности эпигенетических механизмов (нарушения метилирования ДНК, гистонов, транскрипции и т.д.)
Транскриптомика	измерение комплекса РНК-транскриптов в клетке, в органе или ткани (влияние на экспрессию генов)
Интерферомика	измерение взаимодействия транскрибируемых РНК
Протеомика	измерение уровня белков или пептидов и анализ белок – белковых взаимодействий
Гликомика	измерение уровня углеводов, например, гликанов, участвующих в посттрансляционных модификациях белков
Липидомика	измерение набора и уровня липидов внутри клетки, ткани или организма
Метабомика	измерение концентраций так называемых малых молекул метаболитов — молекул с низкой молекулярной массой
Метабономика	количественное измерение динамического многопараметрического метаболического ответа живых систем на неблагоприятные воздействия или генные модификации
Токсомика	определение токсоса (особенностей проявления токсичности)

Кроме вышеуказанных методов, существуют более сложные омиксные технологии, позволяющие измерять динамику характеристик во времени и взаимодействие между компонентами: интерактомика, феномика, интегромика и др.

Многие из омиксных методик в настоящее время все ещё находятся на стадии становления и развиваются, как в направлении увеличения точности и информативности измерений, так и в способах численной обработки получаемых данных.

Цель токсимики будущего заключается в описании всех молекулярных и клеточных процессов, связанных с особенностями проявления токсичности разнообразных ксенобиотиков во взаимодействии с наследственными факторами, на основе использования современных генетических, омиксных и других методов молекулярной медицины.

Накапливаются данные о роли генетических особенностей в нейрогуморальной регуляции деятельности организма, влиянии ОХВ на наследственные факторы, которые свидетельствуют о необходимости развития новых генетических направлений в токсикологии — токсиконейрогенетики (изучение влияния полиморфизма генов, управляющих нейropsychической системой, например, серотонин- и дофаминергической регуляцией, на токсикокинетику ОХВ) и токсиконейрогеномики (изучение воздействия ОХВ на генетическую и эпигенетическую регуляцию нейрогуморальной деятельности организма).

Разработка новых токсикологических тестов должна упростить тестирование ксенобиотиков, лекарственных и пищевых веществ, сохранить жизни лабораторных животных.

В случае необходимости проведения опытов на животных целесообразно внедрение в экспериментальную токсикологию обязательного снятия всех индивидуальных генетических и других показателей в динамике наблюдения каждого животного с целью индивидуальной паспортизации состояния организма животных при воздействии ОХВ для дальнейшей классификации наблюдаемых эффектов.

Из-за сложности объекта изучения, большого количества параметров, переменных и уравнений, описывающих систему «химический токсикант — человек», современная токсикология немыслима без применения компьютерных технологий.

Компьютерные технологии используются для решения систем нелинейных уравнений, изучения устойчивости и чувствительности системы, определения неизвестных параметров уравнений по экспериментальным и клинко-эпидемическим данным, поиска информации в публикациях, в вычислительной лингвистике, для разработки и наполнения общедоступных баз данных и других технологий биоинформатики.

В связи с внедрением молекулярной методологии, возникшей на стыке генетики и теорий сложных систем, необходима переоценка роли лабораторной диагностики как ключевого механизма изучения характера многоуровневых связей в сложной иерархии взаимоотношения химического вещества с

конкретным организмом и выявления персонифицированных маркеров токсического процесса.

Развитие этого нового направления медицины важно и для разработки стратегий направленного, в том числе фармакологического и нутрициологического, обеспечения нормализации процессов поддержания гомеостаза в условиях адаптации организма к неблагоприятному воздействию [А. Н. Мартинчик и др., 2005; В. Р. Рембовский, Л. А. Могиленкова, 2017; V. G. Hale et al., 2005].

Для проведения сравнительного анализа результатов индивидуальных показателей генетического и морфо-функционального состояния здоровья персонала и населения, имеющих контакт с ОХВ при деятельности ХОО, оценки реального риска здоровью с целью разработки санитарно-гигиенических, лечебно-профилактических и других мероприятий по охране здоровья наблюдаемых контингентов целесообразно использовать универсальную классификацию.

Данная классификация состояния здоровья лиц, контактирующих с ОХВ в таблице 9.6.

На основе этой классификации целесообразно проводить ранжирование степени потери здоровья (табл. 9.7) [В. Р. Рембовский и др., 2006, 2014].

Ранги 1 и 2 свидетельствуют о хорошем здоровье (табл. 9.7). Ранг 3 — о пограничном состоянии (практически здоров).

Наличие других рангов свидетельствует о необходимости проведения мер по охране труда и выявлению сопутствующих причин нарушения здоровья (индивидуальные особенности, образ жизни, социально-экономические и другие факторы).

Особо выделен 8 ранг (профзаболевание, интоксикация) — группа лиц, связь нарушения здоровья которых доказана экспертным решением по данным клинических наблюдений в Профцентре и санитарно-гигиенической характеристики условий их труда.

Вопрос дифференциальной диагностики возможных индивидуальных проявлений токсического эффекта и его последствий в виде производственно обусловленных заболеваний от МФЗ требует системного подхода и наблюдения за пораженными в течение всей жизни (канцерогенез и др.), проведения риск-анализа с использованием методологии оценки не только реального, но и потенциального рисков [В. Р. Рембовский и др., 2014].

Таблица 9.6 – Классификация состояния здоровья работающих (граждан) в контакте с химическими веществами

Класс здоровья	Состояние Здоровья	Индекс потери здоровья, Баллы	Критерии оценки* статуса здоровья	Химический фактор**	Диагноз состояния здоровья
1	Нормальное	0	Отклонения показателей генетического, физического, функционального, психического здоровья отсутствуют. Работоспособность высокая	Воздействие химических веществ отсутствует.	Здоров
2	Адаптированное	до 0,03	Изменения показателей здоровья не выходят за пределы физиологических колебаний (или $\leq 2\sigma$ по сравнению с контрольным и/или исходным уровнем) с учетом возраста. Генетические показатели, соответствуют фоновому уровню. Работоспособность сохранена	Однократное действие на уровне или ниже порога запаха (но не выше Lim_{ac}). Длительное – на уровне или ниже ПДК	Практически здоров
3	Пограничное	0,03-0,10	Изменения показателей незначительно выходят за пределы физиологических колебаний (или 2σ по сравнению с контрольным и/или исходным уровнем). Генетические показатели в том числе предрасположенности к МФЗ, соответствуют фоновому уровню. Отдельные случаи острых заболеваний. Работоспособность восстанавливается после отдыха к началу следующей смены	Однократное действие (нештатные ситуации) – ниже Lim_{ac} . Длительное – на уровне 1,1-3,0 ПДК или ниже Lim_{ch}	Практически здоров
4	Неспецифическое патологическое	0,11-0,60	Повышение обращений по поводу общих заболеваний, ВУТ, развитие хронических болезней, в том числе МФЗ. Изменения генетических и других показателей состояния здоровья, характеризующие патологические сдвиги. Работоспособность соответствует степени поражения, восстанавливается после лечения	Однократное действие – на уровне и выше порогового. Длительное (чаще более 4 лет) – на уровне более 3,1 ПДК	Болен (конкретный диагноз хронического неспецифического (общего) заболевания, (тяжесть, стадия)

Продолжение табл. 9.6					
Класс Здоровья	Состояние Здоровья	Индекс потери здоровья, Баллы	Критерии оценки* статуса здоровья	Химический фактор**	Диагноз состояния здоровья
5	Специфическое патологическое	0,33-0,90	Острая и хроническая интоксикация и их последствия. Генотоксический эффект. Работоспособность соответствует степени тяжести интоксикации	Однократное действие – выше порогового уровня (Lim_{ac} или Lim_{sp}). Длительное – на уровне более 5 ПДК (или $>Lim_{ch}$)	Острая или хроническая интоксикация. Степени тяжести: легкая, средняя, тяжелая
6	Стойкая потеря трудоспособности	0,33-0,90	Стойкое снижение трудовой деятельности, вплоть до постоянной потери работоспособности. Оценивается на бюро МСЭ.	См. 4-5 классы здоровья	Инвалидность I-III группы
7	Угрожающее жизни состояние	0, 91 -1	Нарушение здоровья, не совместимое с жизнью (в том числе вследствие отдаленных эффектов воздействия). Снижение срока жизни	Однократное действие – на уровне летальных концентраций. Длительное воздействие канцерогенов.	1 группа инвалидности (чаще интоксикация). Летальный исход

Примечания. * – критерии устанавливаются в соответствии с современными на момент обследования патогенетически значимыми для каждого химического загрязнителя маркерными показателями;

** – для 2-3 классов здоровья внутренняя доза ОХВ не превышает БПДК, для 4-7 классов – выше экспериментально установленного порогового уровня содержания химического загрязнителя, его метаболитов и аддуктов с белками в биосредах.

Таблица 9.7 – Ранжирование состояния здоровья работающих (граждан) в зависимости от его потери при действии химического фактора

Класс состояния здоровья	Состояние здоровья и его потери	Диагноз	Ранг	Степень реального риска
1	оптимальное	практически здоров	1	отсутствует
2	адаптированное		2	
3	пограничное		3	малая

Продолжение табл. 9.7				
Класс состояния здоровья	Состояние здоровья и его потери	Диагноз	Ранг	Степень реального риска
4	неспецифическое патологическое	хроническое заболевание, степень тяжести:		
		ремиссия	4	малая
		легкая	5	средняя
		средняя	6	высокая
		тяжелая с реабилитацией	7	очень высокая
5	специфическое патологическое	профзаболевание	8	почти полная
6	инвалидность	3 группа	9	высокая или почти полная (при интоксикации)
		2 группа	10	
		1 группа	11	
7	состояние, угрожающее жизни		12	почти полная (интоксикация, отдаленные эффекты)

Создание мультифакториальной информационно-аналитической базы данных лиц, контактирующих с химическими токсикантами, полученной на основе современных методов персонафицированной диагностики, лечения, а также мониторинга эффективности их применения, является насущной задачей клинической токсикологии.

В оценке химического воздействия большое значение также имеют методы биоинформатики, включая математическое моделирование индивидуальной реакции на токсическое воздействие, определение ее связи с уровнями химических соединений в среде обитания человека и содержания их и метаболитов в биосредах.

Данный подход позволит обосновать биомаркеры устойчивости или, наоборот, скрытого (явного) проявления химически обусловленной патологии, выявлять чувствительных к соответствующему воздействию лиц, обосновывать группы риска.

Таким образом, большинство заболеваний являются результатом взаимодействия генетических, эпигенетических и средовых факторов, что важно для дифференциальной диагностики интоксикации (производственно обусловленных заболеваний) с «фоновой» генетически обусловленной патологией.

Следует подчеркнуть, что для лиц с предрасположенностью к нарушению

органов-мишеней даже низкоуровневое воздействие химических веществ на организм может явиться решающим фактором риска раннего развития производственно обусловленных и профессиональных заболеваний, а также экологически обусловленных МФЗ.

Исходя из вышеизложенного и основываясь на современных тенденциях развития токсикологии и персонализированной медицины, следует полагать, что должна быть выделена персонализированная токсикология как самостоятельный раздел медицинской науки, изучающая наследственно обусловленную реакцию организма человека на действие химических веществ, индивидуальные генетические механизмы, патогенез, клинику, потенциальный и реальный риски здоровью человека вследствие токсического воздействия, разрабатывать и совершенствовать методы диагностики донозологических, клинических проявлений и отдаленных эффектов химического воздействия, меры и способы профилактики и лечения развивающейся патологии у индивидуумов.

Предметом персонализированной токсикологии являются молекулярно-генетические и клинические проявления токсичности — развития адаптации или патологического процесса (отравления), вызванного воздействием на организм индивидуума химических соединений.

К объектам исследования относятся лица, подвергающиеся воздействию химических веществ, систематизация данных токсиколого-генетической оценки состояния здоровья которых является базой для дальнейшего проведения токсиколого-клинических и эпидемиологических исследований заболеваемости и других демографических показателей в производственных группах, когортах населения, этносов и других популяций с целью выявления химически обусловленных заболеваний и их индивидуальной профилактики и лечения.

Целью персонализированной токсикологии является разработка молекулярно-генетических и других методов диагностики, непрерывное совершенствование системы мероприятий, обеспечивающих сохранение жизни, здоровья и профессиональной работоспособности как отдельного человека, так и производственных коллективов, населения в целом в условиях контакта с химическими веществами.

Эта цель достигается путем решения фундаментальных и прикладных токсикологических, клинко-генетических задач, требующих углубленного научного исследования и внедрения новых персонализированных подходов в практику профотбора и совершенствования единого комплексного социально-медицинского мониторинга персонала и населения.

Для углубленного изучения механизмов взаимодействия химического

соединения с учетом индивидуальной генетически обусловленной чувствительности и оценки потенциальной опасности изучаемых химикатов необходимо проводить биологические эксперименты на лабораторных животных, учитывая, что даже небольшие различия в метаболизме могут влиять на полученные результаты, которые не всегда воспроизводимы, и их нельзя сводить только к усредненным данным.

То есть, в экспериментальной области персонализированной токсикологии необходимо создать новые лабораторные процедуры для улучшения контроля индивидуального различия в биотрансформации, обмене веществ, иммунном ответе и других процессах адаптации (повреждения) к воздействию агенту у подопытных животных, а также в опытах на клеточных культурах.

Для оценки потенциальной опасности химического соединения обязательным является изучение всего спектра патогенетически значимых биомаркеров воздействия, чувствительности/резистентности и эффекта для каждой особи группы экспериментальных животных.

Это необходимо для установления не среднестатистических закономерностей «доза — время — ответ» в динамике наблюдения, а выявления групповых генетически обусловленных особенностей ответных реакций организма для дальнейшей экстраполяции экспериментальных данных, полученных на животных, на группы людей.

Требуется разработка новых токсикологических подходов к изучению токсичности, механизма действия и определению безопасных уровней химических соединений (на основе классификации групповой генетической предрасположенности к влиянию химического токсиканта на организм), обоснованию новых молекулярно-генетических показателей для проведения периодических и при приеме на работу медицинских осмотров контингентов ХОО, создания паспорта общего состояния здоровья работника ХОО, включающего данные и генетического паспорта человека.

Схема связи персонализированной токсикологии со смежными направлениями медицинской науки представлена на рисунке 9.2.

Разработка данного направления должна проводиться на основе ее долгосрочной перспективы, современных достижений развития медико-биологических отраслей науки, духовно-нравственных ценностей и принципов, направленных на защиту интересов всех групп населения, (работающие граждане, пациенты, потребители и т.д.) и будущих поколений, охрану окружающей среды [В. С. Баранов, Е. В. Баранова, 2016; В. Р. Рембовский, Л. А. Могиленкова, 2017; Стратегия развития здравоохранения..., 2014; В. В. Уйба, 2015; V. G. Hale et al., 2005].

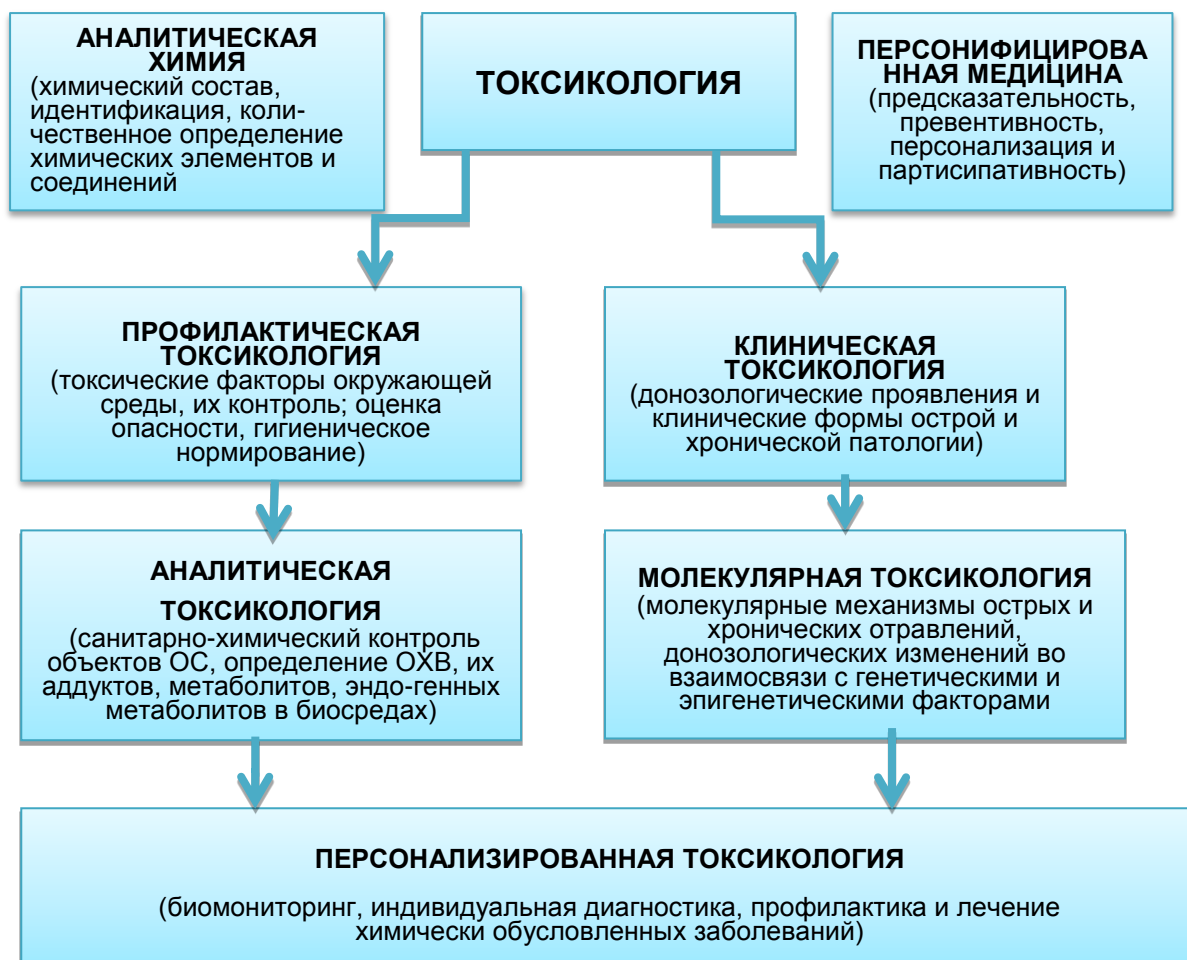


Рис. 9.2 – Персонализированная медицина в системе современного направления токсикологии.

Внедрение персонализированной медицины (и ее токсикологического раздела) тесно связано с социальной ответственностью специалистов.

Эффективность ее использования предполагает соотнесение экономической заинтересованности с социальными и экологическими последствиями производственной и других видов народно-хозяйственной деятельности, обеспечение безопасности при надзоре органами здравоохранения и наличия необходимых организационных программ, переоценку сложившейся системы жизнеобеспечения, в том числе доступа к эффективным индивидуально ориентированным лекарственным и другим средствам восстановления и сохранения здоровья.

10. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ОСНОВНЫХ ПРОЦЕССОВ ДЕТОКСИКАЦИИ У ЛИЦ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С ОПАСНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

В системе диагностики влияния ксенобиотиков на организм человека необходимо проведение всесторонних исследований состояния здоровья лиц, контактирующих с ОХВ, которые включают оценку биохимических (в т.ч. активности процессов биотрансформации), иммунологических, генетических и других показателей, характеризующих функциональное состояние организма и его детоксикационных механизмов в целом.

Важной задачей для контроля профилактических мероприятий и обеспечения эффективности защитных механизмов организма при действии химических веществ является установление корреляций между генетическими полиморфизмами и вариантами функционирования систем организма при различных воздействиях внутренних и внешних факторов.

Определение ферментативной активности, процессов ПОЛ и других биохимических показателей, характеризующих токсикокинетические и токсикодинамические процессы при воздействии ксенобиотиков, проводятся с помощью химических, физико-химических, физических, биохимических методов [В. С. Камышников, 2009; Лабораторные методы..., 1987; С. Н. Щербо, Д. С. Щербо, 2014; W. Dayton et al., 1977; L. Eidu, A. A. Harnanansingh; 1971; W. H. Habig et al., 1974; Isoniazid [Electronic resource].

Химические методы включают количественное определение субстрата или продуктов с помощью химических реагентов. Из физико-химических методов спектрофотометрический основан на измерении скорости ферментативной реакции по изменению поглощения субстрата при характеристической длине волны. Также применяют методы: манометрический (определение количества газа, выделяющегося в процессе реакции), поляриметрический (фиксирование изменения оптического вращения), хроматографический (количественное определение субстрата или продуктов с помощью различных видов хроматографии), потенциометрии, электрофорез и др.

При клинических исследованиях из биохимических все шире используют иммунохимические и биосенсорные методы анализа [Методы исследования лимфоцитов [Электронный ресурс]; Щербо [Электронный ресурс]; С. Н. Щербо, Д. С. Щербо, 2014].

Для исследования внешних и внутренних барьеров организма человека, главными функциями которых является регуляция проницаемости для разных

физиологически необходимых веществ и защита внутренней среды от поступления в них чужеродных соединений, предложен ряд методов (введение различных красителей, флуорометрия, прижизненная микроскопия, иммуноферментный анализ, радиоизотопная индикация, электронно-гистохимический анализ и т.д.), наиболее часто используемых в научно-практических целях.

Среди внутренних барьеров наиболее подробно изучен гематоэнцефалический барьер. Комплексный метод иммуноферментного определения нейроспецифических белков (НСБ) и антител к ним в сыворотке крови и ликворе может быть использован в клинико-лабораторной практике у больных различными нервно-психическими, онкологическими и соматическими заболеваниями, течение которых сопровождается нарушением резистентности ГЭБ [С. Celtik et al., 2000].

Новым направлением является изучение внутриклеточных барьеров, определение аддуктов химических токсикантов с белками крови (например, с альбумином, гемоглобином) с помощью иммунохимических, масс-спектрометрических методов анализа, ВЭЖХ с тандемным масс-селективным детектированием, использованием твердофазной экстракции, металл-афинной хроматографии, МАЛДИ-спектрометрии и т.д. [Е. М. Полянская, 2006].

С целью ранней диагностики и мониторинга целого ряда нарушений здоровья определяют активность ферментов, характеризующих так называемый «эстеразный статус» организма. В эту группу входят ацетилхолинэстераза (ЕС 3.1.1.7), бутирилхолинэстераза (ЕС 3.1.1.8), карбоксилэстеразы (ЕС 3.1.1.1) и нейротоксичная эстераза. Данные эстеразы являются важными биохимическими маркерами ряда болезней сердечно-сосудистой системы, атеросклероза, болезней Паркинсона и Альцгеймера, функциональных нарушений организма, в том числе вызванных ФОС [Л. Г. Соколовская, 2004; Е. В. Рудакова, 2014].

Для оценки фенотипирования обычно применяют методы определения биохимического фенотипа ацетилирования. В клинической практике широко используются количественные колориметрические и спектрофотометрические, флуориметрический, ВЭЖХ и другие методы определения изониазида в биологических жидкостях [Chen S-H., Chen Y-H.; 1999; W. Dayton et al., 1977; T. Omura and R. Sato, 1964], антипирина и его метаболитов в моче (микроколоночная ВЭЖХ и др.) [Е. М. Полянская, 2006].

Фенотипирование БХЭ для определения её сниженной активности в клинической практике осуществляется с помощью дибукаинового теста, основанного на подавлении активности бутирилхолинэстеразы дибукаином в

стандартных условиях [Клиническая фармакокинетика, 2009].

Общее содержание цитохрома P-450 определяют по методу Омуре и Сато [T. Omura and R. Sato, 1964]. Путем ингибирования в микросомальной фракции антителами, можно достаточно уверенно судить о специфической активности изоформ цитохрома P450 в реальном времени. В качестве маркерных субстратов для фенотипирования CYP1A2 используют фенацетин, кофеин и антипирин: фенацетин подвергают O-деметилированию, кофеин – 3-деметилированию, а антипирин — 4-гидроксилированию.

Оценка клиренса кофеина — важный диагностический тест, позволяющий определить функциональное состояние печени. В связи с тем, что CYP1A2 - главный метаболизирующий фермент кофеина, по сути, в данном тесте определяют активность указанного изофермента [Клиническая фармакокинетика, 2009]; определённый вклад в метаболизм кофеина также вносят цитохромы CYP3A4 и CYP2D6.

Измерение активности ферментов биотрансформации (CYP, GST, NAT и др.) проводится с учетом фенотипа, который формируется организмом на основе генотипа и влияния внешнесредовых факторов [Генетический паспорт., 2009; Генетический и фенотипический полиморфизм человечества [Электронный ресурс].

На генетически predeterminedенную степень активности ферментов могут влиять ряд физиологических параметров: раса, пол (например, зависимость от пола секреция гормона роста, модифицирующая активность ферментов), возраст, патологические состояния (например, болезни печени, почек, кишечника, нарушения печеночного и почечного кровотока), средовые влияния (например, состояние окружающей среды), профессия; поведенческие особенности (характер пищи, пристрастие к табакокурению и алкоголю и т.д.) [Генетический и фенотипический полиморфизм человечества [Электронный ресурс]; О. В. Макарова. 2004; С. Н. Щербо, Д. С. Щербо; 2014; I. Matsushita et al., 2002]. По этой причине фенотипы в разных условиях сильно отличаются друг от друга и не всегда согласуются с соответствующим генотипом. Например, соотношение между лицами со способностью к быстрому ацетилированию («быстрые» ацетиляторы) и лицами со способностью к медленному ацетилированию («медленные» ацетиляторы) у представителей разных рас различное [Генетический паспорт, 2009; М. В. Никишина, 2007]. Показано, что генотип фермента NAT2 является более существенной и стационарной характеристикой популяции по изучаемому признаку и имеет большое значение для метаболизма и детоксикации.

«Быстрый» аллель является исходной формой и одинаков у всех рас, тогда как «медленные» аллели европеоидов и монголоидов различны. В

популяциях европеоидов типично приблизительно равное распределение быстрых и медленных ацетиляторов. Фенотип медленного ацетилирования преобладает на Ближнем Востоке (70%).

В настоящее время для прогноза возможных путей биотрансформации, в частности органических соединений, начали внедряться скрининговые подходы компьютерной диагностики метаболизма ксенобиотиков [А. В. Рудик, 2007]. Это, прежде всего, методы молекулярного моделирования. Они ориентированы на изучение механизмов взаимодействия определенных ферментов с субстратами.

Определение активности изоформ ферментов биотрансформации также проводится методами генотипирования [Н. П. Бочков и др., 2011].

В системе детоксикации ксенобиотиков защитная роль иммунной системы изучается всесторонне. В рамках клинической иммунологии определяется эффективность и согласованность работы всех систем и звеньев иммунитета – макрофагов, системы комплемента, Т- и В-лимфоцитов, интерферонов, интерлейкинов и других цитокинов, главной системы гистосовместимости и т.д. [Иммунология, 2013; Т. П. Оспельникова, 2012; Руководство по клинической иммунологии, 2009; А. А. Ярилин, 1999].

Существующие методы оценки иммунного статуса постоянно совершенствуются, однако есть ряд общих правил, которых необходимо придерживаться и при оценке иммуннограмм:

- комплексный анализ, а не оценка одного-двух показателей;
- анализ в комплексе с клиническими и анамнестическими данными;
- оценка резких сдвигов показателей (не менее 20% от нормы);
- анализ в динамике;
- анализ не только (и не столько) абсолютных данных, а соотношений показателей (особо — индекс Th/Ts);
- учет возможных индивидуальных особенностей (возраст, сопутствующие заболевания) и колебаний показателей (физиологических и патологических: прием пищи, физические нагрузки, время суток, действие стрессоров и т.д.);
- учет региональных норм;
- учет материально-технической базы лаборатории. На вооружении современной лаборатории необходимо иметь оборудование, которое позволяет наиболее точно и подробно определить иммунный статус (лазерная проточная цитофлуориметрия; определение субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, иммуноглобулинов, цитокинов и др.).

Для постановки диагноза иммунопатологического состояния проводят сбор иммунологического анамнеза и постановку иммунологических тестов. Могут

также осуществляться тесты *in vivo* (кожные тесты), рентгенологическое исследование лимфоидных органов (тимуса).

При опросе определяют наиболее вероятный иммунопатологический синдром. Основными являются шесть его видов: инфекционный, аллергический, аутоиммунный синдромы, первичный, вторичный иммунодефицит, иммунопролиферативный синдром.

Для оценки общего иммунного статуса используют наиболее простые и достоверные показатели, отражающие суммарную эффективность работы всех систем иммунитета, для изучения уязвимого звена — специфичные для каждой системы дифференциальные тесты. Изучение иммунного статуса проводится с использованием двухэтапного подхода оценки состояния иммунной системы, в соответствии с которыми лабораторные иммунологические показатели разделены на тесты первого и второго уровня.

На первом этапе с помощью простых ориентировочных методов выявляют «грубые» дефекты фагоцитоза, клеточного и гуморального иммунитета. К тестам первого уровня относят:

- определение абсолютного и относительного содержания лимфоцитов в периферической крови;
- определение количества Т- и В-лимфоцитов;
- определение уровня иммуноглобулинов основных классов (IgG, IgM, IgA);
- определение фагоцитарной активности лейкоцитов;
- определение титра комплемента (не обязательно).

На основе анализа результатов тестов первого уровня определяют дальнейшую тактику иммунологического исследования.

Более тщательный и глубокий анализ состояния иммунной системы проводят с помощью тестов второго уровня — аналитических методов. К ним можно отнести методы оценки функциональной активности Т- и В-лимфоцитов, фагоцитов, вспомогательных клеток, естественных киллеров, компонентов системы комплемента и многих других.

Методы исследования главных компонентов иммунной системы принято делить также на скрининговые и развернутые.

К скрининговым тестам при оценке фагоцитоза относят определение количества нейтрофилов, изучение их морфологии и образования активных форм кислорода; при оценке Т-системы иммунитета — кожные тесты на антигены (аллергены), определение поверхностных маркеров Т-лимфоцитов, бласттрансформацию на фитогемагглютинин; при оценке В-системы иммунитета — определение количества CD19+ и CD20+ клеток IgM и IgA, а также IgG1, 2, 3, 4. К развернутым методам соответственно при оценке

фагоцитоза относят определение киллинга микробов, лизосомальных ферментов, цитокинов; Т-системы иммунитета лимфоцитов — изучение продукции цитокинов, активационных маркеров, Т-клеточных рецепторов; при изучении состояния системы В-лимфоцитов — бласттрансформацию на митоген лаконоса и *S. aureus*, определение поверхностных маркеров В-лимфоцитов.

Методы исследования лимфоцитов можно разделить на изучение поверхностных маркеров и функциональные тесты. Для идентификации поверхностных структур лимфоцитов и ряда других клеток в основном используют 3 группы методов [Методы исследования лимфоцитов [Электронный ресурс]: розеткообразование; иммунофлуоресценции; иммуноферментные методы.

В практику клинической иммунологии (Первое международное рабочее совещание по антигенам дифференцировки лейкоцитов, 1983 г.) введен термин «clusters of differentiation» (кластеры дифференцировки, сокращено CD).

Для определения количества Т-клеток чаще используют метод розеткообразования с эритроцитами барана. Метод основан на родстве рецептора CD2 с белками мембраны эритроцитов барана. При смешивании лимфоцитов с эритроцитами барана образуются фигуры в виде розеток. Количество розеткообразующих клеток (Е-РОК) соответствует количеству Т-лимфоцитов (CD2+ клеток). Для определения количества В-клеток используют ЕАС-розетки: лимфоциты смешивают с эритроцитами быка, обработанными комплементом и антителами к эритроцитам.

Более прогрессивным является использование метода иммунофлуоресценции, который позволяет с помощью наборов моноклональных антител к различным CD-антигенам идентифицировать практически любые поверхностные структуры лимфоцитов.

Помимо определения численности популяций и субпопуляций, большое значение придается вычислению индекса CD4/CD8 — так называемого хелперно-супрессорного отношения. Необходимо учитывать, что нет единого метода для оценки Т-хелперов и Т-супрессоров (Th и Ts). CD8+ несут Т-супрессоры и Т-киллеры, а также часть NK-клеток. CD4+ несут Т-хелперы, Т-индукторы, моноциты и эфффекторы — Т-клетки ГЗТ.

Оценку Ts и Th осуществляют также в теофиллиновом тесте, так как Т-супрессоры в присутствии теофиллина теряют способность к Е-розеткообразованию (теофиллин-чувствительные Т-лимфоциты), а Т-хелперы теофиллин-резистентны. Показатель Th / Ts в норме составляет 2,5-3,5.

Оценивают также субпопуляции Т-лимфоцитов с рецепторами для Fc фрагмента: IgM (Т_μ) и IgG (Т_γ). Т_γ — это преимущественно хелперы, Т_μ —

супрессоры.

Универсальным методом исследования лейкоцитов является метод лазерной проточной цитофлуориметрии, который позволяет не только получить детальные характеристики клеточных субпопуляций, но производить их препаративное разделение. Прежде всего, на основе анализа светорассеивания (без применения антител) в исследуемом образце можно определить содержание лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов. Используя метод иммунофлуоресценции (прямой или непрямой), можно определить численность различных субпопуляций лимфоцитов. Помимо регистрации свечения, возможна оценка его интенсивности. Обработка полученных данных по специальной программе позволяет определить количество сайтов связывания, т.е. вычислить плотность данного рецептора на клеточной мембране. За ограниченный отрезок времени можно произвести большое число анализов.

Оценку численности субпопуляций лимфоцитов желательно дополнять функциональными тестами.

Специфические показатели иммунитета оценивают с помощью 3 групп методов: обнаружения антигенов; определения антител различных иммуноглобулиновых классов (G, M, A, E, D) к определенным антигенам; выявления Т-лимфоцитов, несущих рецепторы к определенному антигену.

Наборы иммунохимических реагентов для определения антигенов называются диагностикумами. Для их создания необходимо решить задачи получения антигена, антитела, комплекса антигена или антитела с ферментом, регистрации иммунохимической реакции с помощью определенной метки.

Так, для проведения иммуноферментного анализа предварительно необходимо получить очищенный антиген, соответствующее антитело и подобрать фермент в качестве метки для антитела или антигена. Для количественного анализа используют два основных подхода.

Первый подход — направленное воздействие на ферментативную активность иммунохимического комплекса посредством связанного АТ, ведущее к торможению или, напротив, к возрастанию скорости ферментативной реакции. Такой ИФА может быть реализован в однофазной системе — в растворе и поэтому называется гомогенным или жидкофазным. Эта реакция осуществляется без предварительного физического разделения меченых лигандов (АТ или АГ) от их иммунохимических комплексов.

Второй подход — физическое разделение с помощью твердой фазы, связывающей меченый реагент. Это: гетерогенный или твердофазный ИФА. Высокая чувствительность в сочетании с быстротой выполнения анализа (от нескольких минут до нескольких часов), возможность одновременного

тестирования большого количества образцов и отсутствие трудоемких подготовительных операций по очистке и концентрированию анализируемой пробы придают ИФА неоспоримые преимущества перед другими аналитическими методами.

Методы иммуноферментного анализа в комплексе с другими методиками широко используются для выявления различной патологии, развития аллергии, гормональных и других изменений с помощью определения антигенов (ферментов и других белков) и антител (иммуноглобулинов), оценки проницаемости гематоэнцефалического барьера (определение нейроспецифических белков) и т.д.

Наряду с ферментами (ИФА) в качестве меток для антигенов используют радиоактивные и флуоресцирующие соединения: соответственно радиоиммунный и флуоресцентноиммунный анализы (РИА и ФИА).

РИА — метод выявления антигенов и антител, основанный на определении комплекса антиген-антитело за счет введения в один из компонентов реакции радиоактивной метки с последующей ее детекцией. РИА обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Используется для определения антигенов и антител, а также концентрации инсулина и других гормонов. Существует несколько модификаций метода.

Имунофлуоресцентный анализ применяют для выявления как антигенов, так и антител. Этот метод основан на использовании реагентов, меченных флуоресцентным красителем. Флуорохромы — это вещества, которые поглощают падающий свет определенной длины волны и излучают поглощенную энергию в виде света большей длины волны.

Использование трех флуорохромов (изотиоцианата, фикоэритрина и перидинина), поглощающих возбуждающий свет одной длины волны (488 нм позволяет одновременно определять три разных поверхностных антигена. Другие флуорохромы, например тexasский красный, родамин, аллофикоцианин, применяются лишь с исследовательской целью. Меченые антитела связываются с антигеном, образуя комплексы, которые можно выявить с помощью флуоресцентной микроскопии.

Предпочтением на практике пользуется ИФА, поскольку он не требует сложной измерительной аппаратуры и применения радиоактивных соединений, а поэтому безопасен и более прост.

Имунохимический анализ не ограничивается ИФА, РИА и ФИА, основанными на прямом взаимодействии антигена с антителом. Имеются методы обнаружения и количественного определения антигенов по изменению их физического состояния при взаимодействии с антителами. Так, если антиген расположен на поверхности клеток, антитела вызывают их слипание

(агглютинацию). Для реакции агглютинации обычно используют эритроциты (гемагглютинация) или частицы латекса (латекс-агглютинация), покрытые известным антигеном. В присутствии антител к этому антигену происходит агглютинация эритроцитов или частиц латекса.

Гемагглютинация применяется для выявления антител к тиреоглобулину и микросомальным антигенам, латекс-агглютинация — для выявления ревматоидного фактора и некоторых других антител. Эти методы просты и позволяют количественно определить антиген, однако менее чувствительны, чем РИА и твердофазный ИФА.

Для определения антигенов (антител) используются распространенные в конце XX века методы, основанные на реакции преципитации:

- простая радиальная иммунодиффузия позволяет количественно определить содержание антигена в исследуемой пробе;
- двойная радиальная иммунодиффузия — полуколичественный метод, с помощью которого можно не только выявить антигены, но и оценить степень сходства между ними.

При образовании иммунных комплексов АГ-АТ в геле возникают линии преципитации, по форме этих линий можно судить о числе и иммунологическом родстве антигенов. Для идентификации белков широко применяется иммуноблоттинг: вначале смесь белков разделяют с помощью электрофореза в геле, затем на гель накладывают нитроцеллюлозную мембрану и на нее электрофоретически переносят (подвергают электроблоттингу) разделенные белки, которые идентифицируют посредством меченых антител.

Меченые антитела широко используют в исследовании локализации компонентов клеток и тканей: это методы иммуноцитохимии и иммуногистохимии. Клетки, меченные флуоресцирующими антителами, можно отделить от немеченых клеток методом проточной цитофлуориметрии.

Хроматографические колонки с сорбентом, с которым ковалентно связан антиген (или антитело), используются в аффинной хроматографии — отделении соответствующего антитела (или антигена) из смесей в результате образования иммунных комплексов. Еще одно применение иммунохимического анализа — иммуносенсоры: пьезокристалл, покрытый антигеном (антителом), в результате связывания антител (антигена) увеличивает свою массу и меняет частоту резонансных колебаний в переменном электрическом поле, что позволяет регистрировать изменение массы пьезоэлектрика.

Качественные и количественные методы определения IgA, IgG и IgM включают: электрофорез зональный, иммуноэлектрофорез, с иммунофиксацией.

К основным функциональным тестам относят методы оценки пролиферативной активности лимфоцитов на Т- и В-митогены (РБТЛ — реакция бластной трансформации лимфоцитов), продукции антител, синтеза мононуклеарами цитокинов.

Оценка функциональной активности лимфоцитов проводится следующими методами.

В-лимфоциты

Исследование функций В-лимфоцитов *in vivo*. Исследование функций В-лимфоцитов начинают с определения уровня иммуноглобулинов в сыворотке. Для этого чаще всего применяют нефелометрию и простую радиальную иммунодиффузию. Результаты исследования оценивают с учетом возраста. Пол и расовая принадлежность почти не влияют на уровень иммуноглобулинов в сыворотке.

Для углубленной оценки гуморального иммунитета определяют уровень подклассов IgG. Хотя в большинстве случаев изменение уровня подклассов IgG не сопровождается выраженными клиническими проявлениями, у больных с рецидивирующими инфекциями относительное содержание подклассов IgG значительно отличается от нормы. При этом общий уровень IgG и других иммуноглобулинов может быть нормальным. Поскольку определение подклассов IgG — дорогостоящий метод, он применяется в редких случаях. Наряду с определением подклассов IgG при диагностике иммунодефицитов оценивают также гуморальный иммунный ответ на определенные антигены.

Определение антител к белковым и полисахаридным антигенам.

Метод основан на определении уровня антител к белковым и полисахаридным антигенам до и после вакцинации. Нарушение продукции антител к белковым и полисахаридным антигенам подтверждает недостаточность гуморального иммунитета и свидетельствует о необходимости назначения нормального иммуноглобулина для в/в введения (даже при нормальном уровне иммуноглобулинов сыворотки).

Исследование функций В-лимфоцитов *in vitro*. Метод позволяет оценивать способность В-лимфоцитов к дифференцировке в плазматические клетки и выработке ими иммуноглобулинов в ответ на неспецифический (митоген) и специфический (антиген) стимул в культуре клеток. Его проводят в научных целях.

Т-лимфоциты

При исследовании функций Т-лимфоцитов *in vivo* определяют абсолютное число лимфоцитов, так как в норме Т-лимфоциты составляют около 70% всех лимфоцитов крови, существенное снижение числа Т-лимфоцитов значительно больше сказывается на общем числе лимфоцитов, чем снижение В- или NK-

лимфоцитов.

Кожные пробы позволяют оценить способность Т-лимфоцитов вызывать аллергическую реакцию замедленного типа при внутрикожном введении антигена. Размеры эритемы и папулы в месте инъекции определяют через 24 и 48 ч. Поскольку отрицательная реакция может быть следствием не только нарушения иммунитета, но и отсутствия предшествующего контакта с данным антигеном, пробу проводят с набором широко распространенных антигенов. Отрицательная реакция на несколько распространенных антигенов у больных с оппортунистическими инфекциями свидетельствует о выраженной недостаточности клеточного иммунитета. Важную роль в диагностике иммунодефицитов играют также данные анамнеза. Так, если в прошлом отмечался аллергический контактный дерматит, то недостаточность клеточного иммунитета маловероятна.

В настоящее время наиболее специфичным маркером Т-рег признан FOXP3 — транскрипционный фактор, регулирующий транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток и экспрессию цитокинов и других факторов, участвующих в супрессии иммунного ответа [Д. С. Гонсорунова *и др.*, 2011] (у FOXP3-нокаут-мышей наблюдается избыточная лимфоидная пролиферация и развитие аутоиммунных заболеваний)

Пролиферативную активность Т-лимфоцитов оценивают по интенсивности синтеза ДНК в ответ на стимуляцию митогеном (поликлональная стимуляция) или антигеном (моно- и олигоклональная стимуляция). В последнем случае применяются распространенные антигены или аллоантигены.

Интенсивность синтеза ДНК оценивают по включению в нее меченных радиоактивным изотопом нуклеозидов, например ³H-тимидина. Результаты обычно выражают в импульсах в минуту (имп/мин) и в виде индекса стимуляции — отношение радиоактивности стимулированных и нестимулированных лимфоцитов. Митогены стимулируют пролиферацию значительной части Т-лимфоцитов, поэтому результат оценивают обычно через 3 сут. Антиген стимулирует пролиферацию только тех Т-лимфоцитов, которые несут рецептор к нему, поэтому индуцированную антигеном пролиферацию оценивают через 5-7 сут.

Для оценки пролиферативной активности Т-лимфоцитов, как и при проведении кожных проб, применяют набор широко распространенных антигенов. Отсутствие реакции на митогены свидетельствует о тяжелой недостаточности клеточного иммунитета.

Обычно цитотоксичность оценивают по HLA, опосредованную лимфоцитами CD8. Клетками-мишенями служат собственные клетки, несущие на своей поверхности чужеродный антиген, связанный с антигенами HLA

класса I. Лимфоциты CD8 играют важную роль в защите от вирусных инфекций.

Наряду с лимфоцитами CD8 ограниченную по HLA цитотоксичность осуществляют некоторые лимфоциты CD4, распознающие антиген в комплексе с антигенами HLA класса II. Обе субпопуляции лимфоцитов несут антигенраспознающий рецептор, образованный альфа- и бета-цепями. Лимфоциты CD8 с антигенраспознающим рецептором, образованным гамма- и дельта-цепями, участвуют в цитотоксичности, не ограниченной по HLA. Эти лимфоциты присутствуют в крови в незначительном количестве и разрушают клетки-мишени подобно NK-лимфоцитам, то есть без предварительной иммунизации. Определение цитотоксичности необходимо для диагностики иммунодефицитов.

Исследование уровня цитокинов проводят с помощью готовых наборов для РИА и твердофазного ИФА. Существуют и более трудоемкие методы исследования цитокинов, основанные на оценке их биологических функций. Оценить содержание цитокинов *in vivo* довольно сложно, поскольку они прочно связаны с клеточными рецепторами, а в сыворотке и других биологических жидкостях быстро разрушаются.

Учитывают, что цитотоксичность NK-лимфоцитов не зависит от предварительной иммунизации и не ограничена по HLA. Цитотоксическую активность NK-лимфоцитов оценивают, используя в качестве клеток-мишеней разные линии трансформированных клеток, чувствительных к действию NK-лимфоцитов. Разрушение клеток-мишеней осуществляется лишь при образовании тесного контакта с NK-лимфоцитами. Этот контакт может быть прямым или опосредованным, при котором NK-лимфоциты прикрепляются к покрытым IgG клеткам-мишеням через рецептор к Fc-фрагменту IgG — антителозависимая клеточная цитотоксичность.

Антителозависимую клеточную цитотоксичность исследуют стандартным методом с помощью клеток-мишеней, покрытых антителами класса Ig G. NK-лимфоциты играют важную роль в противовирусном и противоопухолевом иммунитете, участвуют в отторжении трансплантата. Снижение цитотоксической активности NK-лимфоцитов выявляется при многих заболеваниях, в том числе при злокачественных новообразованиях, а отсутствие наблюдается крайне редко.

Проводят активацию NK-лимфоцитов цитокинами: после инкубации с определенными цитокинами цитотоксическая активность NK-лимфоцитов значительно повышается. Так, при добавлении γ -интерферона активность NK-лимфоцитов повышается уже через несколько часов. После инкубации с интерлейкином-2 в течение нескольких суток NK-лимфоциты становятся

активными в отношении любых трансформированных клеток-мишеней, в том числе опухолевых клеток.

В настоящее время исследуется возможность применения активированных цитокинами NK-лимфоцитов при некоторых злокачественных новообразованиях.

Моноциты и макрофаги

С помощью лабораторных методов можно оценить следующие функции моноцитов и макрофагов: представление антигена Т-лимфоцитам, антителозависимую клеточную цитотоксичность, противоопухолевую цитотоксичность, хемотаксис, фагоцитоз и бактерицидную активность. Кроме того, можно исследовать продукцию цитокинов активированными макрофагами. Исследование функции моноцитов и макрофагов проводят при недостаточности клеточного иммунитета, атипичных и оппортунистических инфекциях.

Нейтрофилы

Исследуют такие функции нейтрофилов, как хемотаксис, фагоцитоз, бактерицидную активность, продукцию свободных радикалов кислорода и адгезию. Хемотаксис нейтрофилов исследуют с помощью камеры Бойдена.

Другой способ исследования хемотаксиса нейтрофилов основан на применении полужидкого агара. Для исследования хемотаксиса нейтрофилов *in vivo* используется метод кожного окна.

Результаты, полученные с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия и хемилюминесценции, обычно совпадают.

При исследовании молекул адгезии обычно определяют экспрессию поверхностных антигенов CD11a/CD18, CD11b/CD18 и CD11c/CD18 с помощью проточной цитофлуориметрии и моноклональных антител к CD11a, CD11b, CD11c и CD18.

При иммунодефицитах, обусловленных нарушением адгезии лейкоцитов, наблюдается снижение экспрессии этих антигенов, как на покоящихся, так и на активированных нейтрофилах. К лабораторным признакам этих иммунодефицитов относятся нейтрофильный лейкоцитоз, снижение хемотаксической и фагоцитарной активности нейтрофилов и снижение скорости миграции нейтрофилов в очаг воспаления.

Иммунодефициты, обусловленные нарушением адгезии лейкоцитов, проявляются рецидивирующими инфекциями, медленным заживлением ран и отсутствием гноя в очагах инфекции.

Комплемент — это группа сывороточных белков, состоящая из протеаз и их активаторов. Существуют два механизма активации комплемента — классический и альтернативный.

Для исследования компонентов классического пути активации комплемента

определяют его гемолитическую активность. Существуют модификации метода, основанные на применении небольших объемов исследуемой сыворотки. Определение гемолитической активности комплемента по 100% гемолизу основано на гемолизе в геле.

Активность комплемента зависит от целого ряда факторов, поэтому нарушение правил забора и хранения сыворотки обычно приводит к ошибочным результатам исследования. Определение гемолитической активности комплемента позволяет обнаружить недостаточность компонентов комплемента, прежде всего участвующих в образовании мембраноатакующего комплекса.

При альтернативном пути активации системы комплемента основные события аналогичны тем, которые известны для классического пути, однако в альтернативной активации антитела не участвуют.

Инициатором процесса активации системы комплемента при альтернативном пути является ковалентносвязанный с поверхностью клетки C3b. В настоящее время этот метод находится на стадии разработки. Определение компонентов комплемента обычно проводят при обследовании больных с аутоиммунными заболеваниями и при подозрении на генетический дефект комплемента.

Количественное определение компонентов комплемента в большинстве лабораторий проводят с помощью простой радиальной иммунодиффузии и нефелометрии. Однако если функциональный дефект компонентов комплемента не сопровождается изменением их антигенных свойств, эти методы неинформативны.

Циркулирующие иммунные комплексы

Определение ЦИК проводится методами, основанными на выявлении C3 и продуктов его расщепления, связанных с иммунными комплексами, на их связывании с меченым или фиксированным на твердой подложке C1q.

Для получения надежных результатов рекомендуется одновременно использовать несколько методов определения иммунных комплексов. Поскольку результаты определения циркулирующих иммунных комплексов часто бывают противоречивы и малоинформативны, это исследование проводится редко.

Определение IgE

Общий уровень IgE обычно определяют с помощью РИА, поскольку низкое содержание этого иммуноглобулина не позволяет использовать те методы, которые применяются для определения IgG, IgA и IgM. По рекомендации ВОЗ, для стандартизации методов определения общего уровня IgE используется стандартизированный IgE.

Для постановки диагноза аллергического заболевания определение общего

уровня IgE не применяют, поскольку у больных и здоровых этот показатель часто бывает одинаковым. Тем не менее показано, что у грудных детей с высоким уровнем IgE риск аллергии повышен, а у взрослых с низким уровнем IgE (менее 50 нг/мл) аллергические заболевания маловероятны.

Измерение уровня общих сывороточных антител класса E также проводят с помощью твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов.

Определение специфических IgE обычно проводят с помощью кожных проб. Суть метода заключается в следующем: 1) к аллергену, сорбированному на твердой подложке, добавляют исследуемую сыворотку; 2) после отмывания несвязавшихся IgE добавляют меченые антитела к IgE; 3) по уровню радиоактивности оценивают содержание специфических IgE в исследуемой пробе. Применяется модификация метода с использованием меченных ферментом антител к IgE.

Тучные клетки

Методы, основаны на реакции высвобождения гистамина. Суть методов заключается в следующем: 1) к тучным клеткам, покрытым специфическими IgE, добавляют антиген; 2) связывание антигена с IgE вызывает дегрануляцию тучных клеток и высвобождение гистамина; 3) определяют содержание гистамина в растворе. Эти методы могут использоваться для изучения влияния лекарственных средств и других веществ на тучные клетки и базофилы при аллергических заболеваниях. Методы, основанные на реакции высвобождения гистамина тучными клетками, трудоемки и применяются редко.

Каталитически активные антитела (абзимы) могут быть использованы в практической медицине как дополнительный маркер при диагностике типа аутоиммунного заболевания.

В связи с тем, что влияние ксенобиотиков на организм характеризуется дисбалансом в системах АФК и ПОЛ – антиоксидантная защита, с выраженным дефицитом антиоксидантов; при изучении процессов пероксидации липидов рекомендовано определять концентрации в сыворотке крови субстратов с сопряженными двойными связями и продуктов ПОЛ, образующихся на различных этапах цепной свободнорадикальной реакции (ДК, КД-СТ, МДА).

Об активности системы антиоксидантной защиты судят по общей АОА сыворотки крови и содержанию основных низкомолекулярных компонентов (α -токоферола, ретинола, аскорбата, GSH, GSSG). Ферментативное звено АОЗ оценивается по активности ключевого антиоксиданта — СОД.

С развитием методической базы, особенно благодаря успехам

иммунохимического анализа, наряду с общепринятыми методами диагностики различных функциональных систем организма в настоящее время определение генотипа индивидуума стало насущной задачей современной медицины, ее профилактического направления.

Генотипирование представляет собой «косвенный» метод определения активности того или иного фермента метаболизма ксенобиотиков.

Оценка полиморфизма генотипов (генов маркеров) ферментов метаболизма ксенобиотиков позволяет прогнозировать токсикологический или фармакологический ответ, оценить системы защиты организма от неблагоприятного внешнего воздействия, повысить безопасность при действии ксенобиотиков и эффективность лекарственных средств [Генетический паспорт..., 2009].

Поиск генов-кандидатов МФЗ осуществлялся двумя способами – анализ ассоциаций и анализ сцепления. Первым способом, исходя из патофизиологии МФЗ, сравнивают частоту аллелей предполагаемого гена-кандидата у больных и в группе контроля. Такой путь не гарантирует, что выявленные аллельные различия являются главными в патогенезе заболевания, так как клинически разные формы болезни могут иметь разный паттерн генов-кандидатов.

Метод сцепления основывается на позиционном картировании локуса и не требует наличия предварительной гипотезы о патофизиологии болезни.

Аналитические методы открытия новых однонуклеотидных повторов (SNP) и обнаружения уже известных SNPs включают [Определение...(SNP) [Электронный ресурс] С. Н. Щербо, Д. С. Щербо, 2014]:

- 1) гибридизационные методы
 - молекулярные маяки (Molecular Beacons),
 - детекция с помощью микрочипов: технологии микрочипов на основе микросфер, методы ДНК-чипов и др.),
 - динамическая аллель-специфическая гибридизация;
- 2) ферментативные методы
 - полиморфизм длин рестрикционных фрагментов,
 - методы, основанные на ПЦР,
 - удлинение праймеров,
 - taqman пробы,
 - лигирование олигонуклеотидов,
 - капиллярный электрофорез;
- 3) методы, основанные на физических свойствах ДНК
 - одноцепочечный конформационный полиморфизм (SSCP),
 - электрофорез по градиенту температур (TGGE),

— высокоэффективная жидкостная хроматография в денатурирующих условиях,

— масс-спектрометрия;

4) ДНК секвенирование.

SNPs используют для сравнения участков генома у лиц исследуемых групп. Наиболее часто генотипирование аллельных вариантов осуществляется методом рестриктоного анализа продуктов амплификации специфических участков генома путем полимеразной цепной реакции, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов. Распространенным методом детекции известных SNP является метод ПЦР в реальном времени с помощью TaqMan системы.

Полимеразная цепная реакция — метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения числа определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в растворе (пробе). ПЦР относится к гибридационным методам анализа ДНК, основанным на достраивании комплементарной полинуклеотидной цепи на одинарной полинуклеотидной цепи – матрице (репликация ДНК).

Принцип метода ПЦР был разработан в начале 80-х годов прошлого столетия американским биохимиком Кэри Муллисом. Метод ПЦР представляет собой многократное увеличение числа копий (амплификация) специфического участка ДНК, катализируемое ферментом ДНК-полимеразой.

Естественная репликация ДНК включает в себя несколько стадий:

1) денатурация ДНК (расплетение двойной спирали, расхождение нитей ДНК);

2) образование коротких двухцепочечных участков ДНК (затравок, необходимых для инициации синтеза ДНК);

3) синтез новой цепи ДНК (комплементарное достраивание обеих нитей).

Алгоритм данного процесса используется для получения копий коротких участков ДНК, специфичных для конкретных субстратов.

Метод основан на многократном избирательном копировании определённого участка нуклеиновой кислоты ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях (*in vitro*). При этом происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце. В отличие от амплификации ДНК в живых организмах (репликации), с помощью ПЦР амплифицируются относительно короткие участки ДНК. В обычном ПЦР-процессе длина копируемых ДНК-участков составляет не более 3000 пар оснований.

Помимо амплификации ДНК, ПЦР позволяет производить другие манипуляции с нуклеиновыми кислотами (введение мутаций, гибридизация

фрагментов ДНК). Метод широко используется в биологической и медицинской практике, например, для диагностики заболеваний (наследственных, инфекционных), для установления отцовства, для клонирования генов, выделения новых генов.

Для раскрытия причин многофакторных генетических заболеваний и предрасположенностей к ним, в частности, связанных с «неправильной» экспрессией генов, осуществляется внедрение новых методов и средств клинической диагностики.

Широко используемый биосенсорный анализ с помощью ферментных биосенсоров, иммуносенсоров на основе нуклеиновых кислот, а также биочипов, регистрирует генные маркеры, ассоциированные, как с наиболее значимыми патологиями, так и с устойчивостью организма к неблагоприятным воздействиям.

Однонуклеотидные полиморфизмы используют в методе полногеномного анализа ассоциаций — GWAS (Genome Wide Association Studies). Основу GWAS в генетическом картировании составляет гаплоидная карта генома, содержащая информацию о молекулярных маркерах SNP, необходимую для идентификации генов-кандидатов, в том числе различных МФЗ [В. С. Баранов, 2011, Генетический паспорт, 2009].

GWAS основан на использовании микрочипов высокой плотности, позволяет идентифицировать одновременно до 6 000 000 SNP (или «снийпов»). В 2001 г. был получен «черновой» вариант генома. 2005 год стал годом широкого вывода на рынок первой генерации промышленных биочипов, отвечающих за получение информации для диагностики болезней и обнаружения опасных веществ. Существуют три основных типа биочипов: ДНК-чипы, белковые и клеточные чипы.

Биочипы совместно с прибором-анализатором можно характеризовать как мини-лабораторию для быстрого получения точных результатов. Данная технология может быть использована в клинической диагностике в биологических и медико-биологических исследованиях, в криминалистике, судебной медицине, для исследования в области экологии и биобезопасности, для определения вирусов и микроорганизмов, гормонов, аллергенов, наркотиков, любых биоактивных веществ в малых концентрациях. Уже имеются биочипы и для распознавания взрывчатых веществ, химического и биологического оружия.

Анализ с помощью микрочипов показывает, какие ключевые однобуквенные замены присутствуют в геноме конкретного пациента, то есть какие генные варианты (аллели) присутствуют в этом геноме. Метод позволяет отслеживать вариации числа копий генов. При помощи GWAS к 2010 году были

просканированы более 300 мультифакторных заболеваний, идентифицированы десятки новых генов-маркеров.

Секвенирование – последний этап молекулярного анализа предварительно отобранного, клонированного и протестированного более простыми методами фрагмента ДНК.

Секвенирование представляет собой определение биополимеров (белков и нуклеиновых кислот — ДНК и РНК) — их аминокислотной или нуклеотидной последовательности фрагмента ДНК путем получения серии комплементарных молекул ДНК, различающихся по длине на одно основание. В результате секвенирования перекрывающихся участков ДНК, получают последовательности участков генов, целых генов, тотальной мРНК и даже полных геномов организмов.

Классические методы секвенирования ДНК деградацией с ферментативным построением комплементарной цепи в условиях специфической терминации, кардинально различаясь в своих подходах, требуют деления меченых фрагментов ДНК, отличающихся по длине на один нуклеотид, в полиакриламидном гель-электрофорезе высокого разрешения метода определения первичной структуры ДНК.

Реакции селективной модификации по каждому типу гетероциклических оснований проводятся таким образом, чтобы в каждой молекуле ДНК в среднем модифицировалось только одно звено данного типа. Поскольку все звенья данного типа в составе молекулы эквивалентны и реагируют с модифицирующим агентом с одинаковыми скоростями, то в сумме каждое звено этого типа окажется частично модифицированным. Дальнейшая обработка ДНК вторичным амином или щелочью приводит к отщеплению модифицированных гетероциклических оснований от цепи ДНК и разрыву полинуклеотидной цепи в местах отщепления гетероциклов.

Широко используют два основных метода секвенирования: метод Максама-Гилберта (основан на химическом расщеплении ДНК по одному основанию) и метод Сэнгера (дидезокси-метод — с дидезоксинуклеозидтрифосфатами).

Данные методы основаны на одном принципе. В первом используется специфическое расщепление ДНК, обусловленное природой оснований, во втором — статистический синтез ДНК, заканчивающийся на каком-либо одном из 4 нуклеотидов. Основой обоих методов является получение полного (статистического) набора фрагментов ДНК, оканчивающихся на каждом из четырёх нуклеотидов.

Реакции химической модификации методом Максама-Гилберта проводят или в растворе, или ДНК предварительно иммобилизуют на твердой фазе (например, ДЭАЭ-целлюлозе).

До начала секвенирования при помощи ПЦР производят амплификацию участка ДНК, последовательность которого требуется определить. Ферментативным методом по Сэнгеру (метод полимеразного копирования, также называемый секвенированием путем терминации цепи) секвенирование полного генома обычно осуществляют при помощи технологий Next-generation sequencing.

Химический метод (метод Максама-Гилберта) проще использовать в том случае, когда исследуемая ДНК не слишком велика (200-500 звеньев). В том случае, если речь идет о секвенировании высокомолекулярной ДНК, лучше применять метод полимеразного копирования (метод Сэнгера), чтобы не вводить процедуру рестриктазного расщепления с выделением индивидуальных фрагментов.

При ферментативном секвенировании протяженных одноцепочечных ДНК можно применять набор олигонуклеотидов-затравок, синтез которых в настоящее время не требует больших затрат времени и труда.

Для двутяжевых высокополимерных ДНК наиболее удобен метод слепого энзиматического секвенирования с применением универсальной затравки (их выпускают многие фирмы) и обработки данных с помощью ЭВМ. Химический метод также может быть применен, но в этом случае необходимо вырезать из вектора исследуемые фрагменты ДНК, и это усложняет всю процедуру.

Распространение получила методология автоматического ДНК-секвенирования с использованием электрофореза меченных различными флуорохромами дезоксинуклеотидов. Этот метод широко применялся в ходе реализации программы «Геном человека». Автоматическое секвенирование относится к быстрым методам.

Одним из ее вариантов является секвенирование путем гибридизации исследуемой последовательности ДНК с набором олигонуклеотидов (олигонуклеотидной матрицей), включающим все возможные варианты перестановок из 4 стандартных нуклеотидов определенной длины.

При генотипировании с использованием масс-спектрометрии распространен подход, основанный на реакции минисеквенирования. В этом случае применяется МАЛДИ масс-спектрометрия [С. Н. Щербо, Д. С. Щербо, 2011].

Для картирования SNP на протяжении всего генома сейчас применяют методы секвенирования нового поколения [В. С. Баранов, Е. В. Баранова, 2016; Методы. Секвенирование ДНК /обзор/ [Электронный ресурс].

Метод полного секвенирования генома может помочь в понимании токсико- и фармакокинетики при действии различных ксенобиотиков на человека, включая изменение процессов их детоксикации, а также возникновение

патологических процессов в организме, которые, возможно, обусловлены однонуклеотидным полиморфизмом.

Однако, по мнению специалистов, имеется три основные проблемы, связанные с генетическим тестированием при оценке влияния многообразных внешних и внутренних факторов на поддержание гомеостаза организма [Генетический паспорт, 2009]:

- необходимость получения достоверных результатов генетического тестирования (ложноотрицательные и ложноположительные результаты значимо влияют на тактику лечебно-профилактических мероприятий),

- сложность выявления всех генов развития мультифакторного заболевания,

- разработка подходов к адекватной интерпретации результатов.

Эти проблемы решаемы в процессе разработки и совершенствования методов генетического тестирования и одновременного проведения анализа получаемых результатов с помощью современной вычислительной техники.

В настоящее время проводится внедрение генетического паспорта пациента, так как существующие методы диагностики полиморфизма генов позволяют получить индивидуальный «генетический» отпечаток [В. С. Баранов и др., 2000, 2012, 2016]. Результаты изучения генома могут использоваться для прогноза здоровья лиц, входящих в различные производственные и другие группы. Получение генетических данных включает следующие этапы:

1. Поиск и выделение фрагментов ДНК. Гибридизация с ДНК-зондами.
2. Клонирование (принципы и методы клонирования).
3. Создание и скрининг библиотек генов.
4. Методы поиска ДНК последовательностей (принципы полиморфизма генома).
5. Анализ мини- и микросателлитных маркеров ДНК (геномная дактилоскопия).
6. Выявление мутаций, в том числе методом ПЦР.
7. Выявление точковых мутаций.
8. Секвенирование ДНК.
9. Картирование и скрининг генома.
10. Создание макрорестрикционных карт (контиг; генетические карты и методы их построения).

Оценка результатов генетического тестирования проводится с учетом сведений по генным сетям конкретных МФЗ, популяционных, гендерных и возрастных особенностей частот полиморфных аллелей изучаемых генов.

Проводимые крупномасштабные исследования эпигеномных ассоциаций (EWAS) с использованием микрочипов, методов массового параллельного

секвенирования открывают новые возможности в диагностике наследственно обусловленных заболеваний, преимущественно для оценки профилей метилирования ДНК [Е. Л. Паткин, Г. А. Софронов, 2012].

В настоящее время в персонализированной медицине применяются следующие молекулярно-диагностические технологии [Щербо ...[Электронный ресурс]:

Методы, основанные на полимеразных цепных реакциях:

- количественная флуоресцентная ПРЦ;
- ПРЦ в режиме реального времени;
- ПЦР с использованием обратной транскриптации;
- полиморфизм длины рестрикционных фрагментов;
- Scorpions™ (DXS Ltd);
- конформационный полиморфизм однонитевых фрагментов;
- генетические и микрофлюидные микрочипы;
- тесты, основанные на экспрессии генов;
- ДНК секвенирование;
- множественное ДНК секвенирование;
- секвенирование в реакторах в пиколитровых микрообъемах;
- секвенирование всего генома;
- токсикогеномика;
- генотипирование одиночного нуклеотидного полиморфизма;
- исследование метилирования ДНК;
- микроРНК диагностика;

Методы, не основанные на полимеразных цепных реакциях:

- ферментативное обнаружение мутации;
- анализы на основе резонансного переноса энергии флуоресценции;
- трансформационно-опосредованная амплификация;
- цитогенетические методы;
- сравнительная геномная гибридизация;
- флуоресцентная гибридизация *in situ*;
- супрессионная вычитающая гибридизация для сравнения двух близкородственных геномов;
- нанодиагностика;
- протеомика;
- флуоресцентная детекция белка *in situ*;
- протеин/пептидные чипы для выявления множественных биомаркеров в крови и тканях;
- технологии протеиновых биочипов;
- токсикопроотеомика;

- метаболомика (метаболическое профилирование);
- ядерно-магнитный резонанс (ЯМР);
- масс-спектрометрия (МС);
- высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ);
- газовая хроматография (ГХ);
- капиллярный электрофорез;
- молекулярная визуализация;
- функциональная МРТ с контрастом наночастиц;
- диагностика в пункте медицинской помощи.

Результаты молекулярно-диагностических и других технологий комплексной оценки состояния здоровья являются основой для создания информационно-аналитической базы персонифицированных данных с использованием современных алгоритмов диагностики, лечения, мониторинга, бионики, а также компьютерных методов обработки материалов медицинского обследования контактирующих с химическими токсикантами лиц в целях сохранения их здоровья.

Таким образом, использование биохимических, иммунологических методов, определение процессов биотрансформации ксенобиотиков, идентификация генотипа, эпигенетического кода, создание генной сети, анализ ассоциации полиморфизма гена с соответствующим заболеванием позволяют выявлять особенности реагирования, механизмы действия химических загрязнителей на организм человека.

Составление индивидуального прогноза возможных нарушений здоровья на основе предиктивной (предсказательной) медицины, токсикогеномики и генной терапии является целью разработки лечебно-профилактических мероприятий, как для конкретного человека, так и для профессиональной группы и популяции населения в целом.

11. ВЛИЯНИЕ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ДЕТОКСИКАЦИИ В ОРГАНИЗМЕ

Примером сложности выявления влияния ОХВ на многообразные процессы детоксикации и роли их в развитии необратимых нарушений являются сведения по изучению опасности воздействия ФОВ на организм человека и подопытных животных. Возможность риска возникновения чрезвычайных ситуаций при выполнении международных соглашений о запрещении применения и уничтожении химического оружия, угроза терроризма с применением отравляющих веществ в конце XX века определили необходимость всестороннего изучения и проведения анализа возможных последствий при действии отравляющих веществ на организм человека и среду его обитания. До настоящего времени продолжают работы по завершению уничтожения химического оружия, в частности нейрорепаралитического действия — фосфорорганических веществ, проводится ликвидация этих конверсионных объектов. Поэтому продолжается выявление влияния ФОВ на защитные системы организма, от эффективности которых зависит жизнь и состояние здоровья пострадавших, развитие последствий в отдаленный период у ликвидаторов аварий при работах с ФОВ, а также при контакте с малыми дозами этих токсикантов.

11.1 Токсические свойства фосфорорганических отравляющих веществ

Первые фосфорорганические соединения были получены французским ученым Тенаром в 1846 году. В XIX веке имелось два центра по исследованию фосфорорганических соединений: один центр в России — в Казани, где работал А. Е. Арбузов, другой — в Германии, в Ростоке, под руководством Михаэлиса.

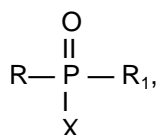
С 1934 года в Германии под руководством Шрадера начались широкие исследования по изысканию эффективных химических фосфорорганических инсектицидных средств. Одновременно большое внимание уделялось вопросу получения новых БОВ. В результате исследований в этом направлении уже в 1937 году в лабораториях концерна «И. Г. Фарбениндустри» Шрадером был получен табун. В 1938 году Шрадер синтезировал зарин, а в 1944 г. — зоман. В Англии в эти годы синтезирован диизопропилфторфосфат. В США работы по изысканию ФОВ начали проводиться с 1942 года. В 50-х годах шведский химик Таммелин синтезировал высокотоксичные аминотиоловые эфиры фосфоновых кислот. В основу синтеза фосфорилтиохолинов была положена стратегия получения искусственных аналогов, имитирующих структуру

природного лиганда холинорецепторов. В США с 1955 г. в качестве БОВ из фосфорилтиохолинов на вооружении появились наиболее высокотоксичные соединения (вещества типа УХ) под условным названием V-газы (Ви-газы), обладающие поражающими свойствами практически при всех боевых приложениях. Токсичность УХ оказалась близкой к токсичности, теоретически достижимой для веществ с небольшой молекулярной массой.

На вооружении стран НАТО состояли зарин, зоман, VX и другие ФОВ.

В 80-е годы XX века в США были созданы бинарные боеприпасы ФОВ — зарина и VX.

К нервнопаралитическим отравляющим веществам относятся производные фосфорной и алкилфосфоновых кислот общей формулы [В. Н. Александров, В. И. Емельянов, 1990; Руководство по токсикологии, 1972; 2004; Экстремальная токсикология, 2012]:



где R — алкил или алкоксигруппа; R₁ — алкоксигруппа, алкильная группа, меркаптогруппа, либо замещенная при атоме азота аминогруппа; X — заместитель, связь которого с атомом фосфора менее устойчива по сравнению с R и R₁. Это могут быть F, CN, ацилоксигруппа, диалкиламиноэтилмеркаптогруппа, нитрофеноксигруппа, остаток замещенных фосфорной или алкилфосфоновых кислот.

Большинство ФОВ обладают высокой летучестью, тяжелее воды, хорошо растворимы в органических соединениях (ацетон, хлороформ) и хуже растворимы в воде. Благодаря хорошей жирорастворимости и растворимости в воде ФОВ легко проникают через неповрежденную кожу, различные биологические мембраны, гематоэнцефалический барьер. Важным свойством ФОВ является их стойкость и способность длительное время (до нескольких месяцев) сохраняться в почвах, растениях и животных тканях.

ФОВ могут поступать в организм через рот, кожу, дыхательные пути, слизистые оболочки глаз. При поступлении через рот всасывание их начинается уже в полости рта и продолжается в желудке и тонком кишечнике. Они быстро проникают в кровоток, через гематопаренхиматозный и гематоэнцефалический барьеры — во все органы и ткани, где равномерно распределяются. Наиболее высокие концентрации наблюдаются в почках, печени, легких, кишечнике.

Первые сообщения о токсичности ФОС относятся к 1932 году (Ланге, Крюгер). Было установлено, что ФОС вызывают удушье, нарушение сознания, зрения. ФОВ (табун, зарин, зоман, фосфорилтиохолины) обладают нервно-

паралитическим действием, характеризующимся поражением различных отделов нервной системы, в результате чего происходит нарушение дыхания, кровообращения, возникают расстройства зрения, органов пищеварения, а в тяжелых случаях – судороги и параличи.

В боевых условиях массовый характер поражений имеет особенно важное диагностическое значение. К важным критериям оценки токсического влияния ФОВ и антитоксической функции организма при экстремальных ситуациях, длительном поступлении в организм, а также развитии отдаленных эффектов относятся биохимические, иммунологические и генетические, показатели, характеризующие процессы обезвреживания ФОВ.

Основными мишенями действия ФОВ являются В-эстеразы — ацетилхолинэстераза (3.1.1.7), бутирилхолинэстераза (3.1.1.8), карбоксилэстераза (3.1.1.1), фосфолипаза В — нейротоксическая эстераза (3.1.1.5), а также А-эстеразы — параоксоназы (3.1.8.1; 3.1.1.2).

По биологическому действию мишени ФОВ подразделяются на первичные (АХЭ, НТЭ) и вторичные (БХЭ, КЭ, PON1) [А. Андреева и др. [Электронный ресурс], Е. В. Рудакова, 2014].

Патогенез эффектов ФОВ обусловлен, с одной стороны, прямым токсическим действием на первичные мишени, с другой — нарушением защитной функции вторичных мишеней — ферментов многоуровневой детоксикационной системы, а также нехолинэстеразными механизмами.

Механизм токсического действия ФОВ до конца не изучен. Ведущим является выраженное их избирательное действие в отношении холинэстераз, приводящее к образованию стойких фосфорилхолинэстераз, не обладающих ферментной активностью [В. Н. Александров, В. И. Емельянов, 1990; С. А. Куценко, 2004, В. Р. Рембовский, Л. А. Могиленкова, 2016; Экстремальная токсикология, 2012].

Основным является избирательное угнетение фермента ацетилхолинэстеразы (маркера острой интоксикации), катализирующей гидролиз ацетилхолина – медиатора нервного возбуждения. Гидролиз ацетилхолина в здоровом организме происходит постоянно и необходим для прекращения передачи нервного импульса, что позволяет мышце возвращаться в состояние покоя.

Образующаяся при отравлении органофосфатом фосфорилированная холинэстераза в отличие от ацетилированной является прочным соединением и не подвергается самопроизвольному гидролизу. Процесс ингибирования холинэстеразы является двухэтапным. На первом этапе происходит обратимое, то есть непрочное блокирование, на втором этапе наступает необратимое блокирование фермента. Угнетение холинэстераз сопровождается повышением уровня ацетилхолина и гиперактивацией М- и N-холинэргической передачи в органах-мишенях. Тормозится разрушение молекул ацетилхолина,

который оказывает непрерывное действие на холинорецепторы, что приводит к генерализованному перевозбуждению холинорецепторов, вызванному интоксикацией эндогенным ацетилхолином.

Ацетилхолин непрерывно возбуждает холинэргические (чувствительные к его действию) рецепторы, вызывая вначале сильное возбуждение, а затем паралич функции органов и тканей. В первую очередь он действует на нервные клетки, поперечно-полосатые и гладкие мышцы, а также различные железы.

Под влиянием ФОВ происходит перевозбуждение холинреактивных рецепторов, чувствительных к мускарину и никотину: мускариноподобное и никотиноподобное действие. Мускариноподобное действие ФОВ проявляется сужением зрачка и спазмом accommodation, бронхоспазмом, усилением перистальтики желудка и кишечника, усилением секреции многих желез (бронхиальных, потовых, слюнных и других пищеварительных желез), брадикардией, частым мочеиспусканием.

Перевозбуждение холинреактивных систем, чувствительных к никотину, сопровождается развитием никотиноподобных симптомов: фибриллярных подергиваний мышц, тремора и судорог, слабости дыхательных мышц, тахикардии, повышения артериального давления.

Кроме мускарино- и никотиноподобного действия, ФОВ влияют на ЦНС. Последнее проявляется нервно-психическим возбуждением, пугливостью, страхом, беспокойством, головной болью, повышением сухожильных рефлексов, а затем угнетением и параличом нервной системы.

Перевозбуждение холинреактивных структур может объясняться не только антихолинэстеразной активностью яда, но и прямым действием ФОВ на эти структуры, а также сенсбилизацией их к ацетилхолину. При ингибировании АХЭ нарушается работа диафрагмы и других дыхательных мышц, а также центрального генератора ритма в стволе мозга и другие холинэргические эффекты.

Инициация ФОВ синдрома «отставленной нейротоксичности» путем необратимого ингибирования нейротоксической эстеразы с последующим быстрым старением этого фосфорилированного фермента — необратимое поражение, обусловленное дистальной дегенерацией сенсорных и моторных аксонов в периферических нервах и спинном мозге [Е. В. Рудакова, 2014]. Ее классифицируют как лизофосфолипазу (ЕС3.1.1.5) в связи с тем, что она гидролизует лизофосфосфолипиды до глицерофосфатов. НТЭ локализуется в клетках нервной ткани, особенно головного мозга, в сердце, селезенке, печени, лейкоцитах (лимфоцитах), тромбоцитах [Н. Г. Проданчук, Н. В. Кокшарева, 2001]. Может действовать и как фосфолипаза. НТЭ играет важную роль в липидном гомеостазе мембран; участвует в межклеточном сигнальном пути между нейронами и глиальными клетками. Липидная модель ОНТ

предполагает, что НТЭ наряду с другими лизофосфолипазами, PLA2 и ацилтрансферазами участвует в регулировании уровня токсичных лизофосфолипидов в мембранах эндоплазматического ретикулума. НТЭ необходима для развития и поддержания различных клеток и тканей, в том числе крупных нейронов в гиппокампе и мозжечке; участвует в межклеточном сигнальном пути, например, между нейронами и глиальными клетками и т.д. При этом под влиянием ФОС снижается возбудимость периферических нервов, наблюдаются нарушения иммунной системы [Н. Г. Проданчук, Н. В. Кокшарева, 2001; А. С. Пушкин и др., 2003]. Повышение транскрипционной активности НТЭ в периферических моноцитах наблюдается у пациентов с синдромом хронической усталости.

Кроме отставленной нейропатии, неантихолинэстеразные механизмы ФОВ включают [Н. Г. Войтенко и др., 2015; П. Ф. Забродский, В. Г. Мандыч, 2007; Санитарно-эпидемиологическое обеспечение..., 2012; Экстремальная токсикология..., 2012; Л. В. Янно и др., 2002]:

- фосфорилирующий эффект;
- прямое активирующее действие на холинреактивные системы, в первую очередь головного мозга, с их перевозбуждением;
- прямое действие на синаптическую передачу импульса и на постсинаптические мембраны;
- цито-мембранотоксический эффект;
- прооксидантное действие;
- сенсбилизацию к гаптену группы ФОВ;
- иммуномодуляцию;
- влияние на ГАМК-эргическую и симпатoadреналовую системы, аминокислотные нейромедиаторы;
- действие на гемостаз и систему комплемента вследствие обилия в этих системах сериновых протеаз.

Установлено, что патогенетические механизмы демиелинизирующих заболеваний, в том числе обусловленных отсроченными эффектами ФОВ, сходны и заключаются в развитии аутоиммунных реакций на нейроантигены, в снижении активности НТЭ, и, как следствие, в аксональной дегенерации, проявляющейся стойкими необратимыми неврологическими нарушениями [А. С. Пушкин и др., 2003].

В оценке механизма действия ФОВ важен факт угнетения многих ферментных систем, влияющих на деятельность ЦНС, метаболизм катехоламинов и серотонина, обмен веществ, эндокринную регуляцию, состояние врожденного и адаптивного иммунитета, антиоксидантную защиту.

При поступлении в организм ФОВ антиоксидантное действие оказывают

процессы детоксикации, начиная с внешних и внутренних защитных барьеров [А. А. Абдувахабов, С. С. Михайлов, 1989].

Метаболизм ФОВ способны осуществлять практически все органы и ткани в соответствии с содержанием и активностью в них энзимов, принимающих участие в превращениях ксенобиотиков. Период полуэлиминации зарина и зомана составляет около 5 минут, VX несколько больше.

Большое значение в связывании (образование аддуктов), гидролизе и транспорте ФОВ имеет сывороточный альбумин. Альбумин участвует в 3-стадийной реакции гидролиза ФОВ, кинетика которой соответствует уравнению Михаэлиса-Ментен. Взаимодействие с альбумином при гидролизе ФОВ происходит с образованием промежуточного комплекса и носит равновесный характер. В реализации этих взаимодействий важны полиморфизмы генов, кодирующих альбумины [Д. А. Сорокина, 1990], выделены «быстрый и медленный» варианты сывороточного альбумина. Существуют и редкие формы альбуминов (альбумин Ридинг, альбумин Джент, альбумин Маки), имеется мутация, вызывающая альбуминемию. Наследование полиморфизма альбуминов происходит по аутосомному кодоминантному типу, наблюдается в нескольких поколениях. Для изучения влияния ФОВ на генетические и функциональные изменения индивидуальных вариантов сывороточного альбумина требуется разработка токсикогенетических исследований с использованием методов токсикогеномики.

ФОВ в организме подвергаются биотрансформации с образованием в большинстве случаев менее токсичных и более гидрофильных соединений, которые выводятся почками.

Получены данные о возможности участия в метаболизме ФОВ ферментов 1-й и 2-й фаз биотрансформации (микросомальные ферменты подсемейства CYP2D6, GSTP, NAT и др.). Однако основной реакцией 1-й фазы биотрансформации ФОВ является их гидролиз немикросомальными сериновыми гидролазами. Метаболизм VX осуществляется и окислением по сульфидной группе. Из немикросомальных гидроксилаз представляет интерес бутирилхолинэстераза, карбоксилэстеразы и параоксоназы [И. Д. Курдюков и др., 2012, Е. В. Рудакова, 2014].

С дефицитом БХЭ связана повышенная чувствительность к фосфорорганическим пестицидам и отравляющим веществам. БХЭ стехиометрически связывается с ФОВ, препятствуя их воздействию на АХЭ вследствие быстрого взаимодействия ФОВ с БХЭ с последующим «старением» фосфонилированного фермента.

Как отмечено ранее, КЭ являются ключевыми ферментами, участвующими

в детоксикации ФОС (в том числе ФОВ) и защите организма от их токсического действия.

В крови человека уровень активности КЭ чрезвычайно низок. Это пред-полагает незначительную роль КЭ крови человека в качестве скавенджера и, соответственно, низкую роль КЭ крови человека в качестве биомаркера воздействия ФОВ.

Параоксоназа PON1, локализованная в плазме крови, играет центральную роль в детоксикации ФОС и ФОВ, действуя как каталитический скавенджер. Животные, у которых концентрация PON-1 в плазме высока, являются относительно устойчивыми к ФОС. PON-1 инактивирует зарин, зоман, табун, органофосфаты, карбаматы, эфиры уксусной кислоты и др.

Изучение токсикогеномики ФОВ имеет разрозненный характер, так как выявление взаимосвязи между активностью генома и биологическим действием ФОВ на индивидуальный организм в обследуемой когорте наблюдения или в опытной группе животных не имеет достаточно обоснованной методической базы. В опытах на животных необходимо использовать группы трансгенных (с врожденной чувствительностью к действию ФОВ) и нокаутированных животных, провести подбор ДНК-микрочипов, ПЦР и других средств и методов для выбора кандидатов (потенциальных биомаркеров) генотипов и специфического токсического воздействия при различных комбинациях доз и времени экспозиции. Необходимо изучение количества и типов генов, присутствующих соответственно в нормальных и подвергнутых воздействию ФОВ клетках, тканях и биожидкостях, для сравнения образцов на наличие определенных патологических признаков, в том числе с уже существующей базой данных соответствующих показателей, в том числе протеомики и метаболомики, для эффектов хорошо изученных ФОВ. Это позволит предсказать проявление новых свойств и эффектов у изучаемого соединения: исходя из класса ФОВ, воздействующих на животных и из вызываемых ими индивидуальных физиолого-гистопатологических, биохимических и других изменений в организме. При проведении токсикогеномного анализа необходимо достигнуть максимальной идентификации протеома в каждом образце; использовать при решении токсикологических задач ориентированные на поиск открытые методические платформы и другие методические приемы по обоснованию протеомного и метаболомного биомаркера индивидуального воздействия. Метаболический профайлинг предусматривает количественное измерение во времени мультипараметрического метаболического ответа живых систем на патофизиологическое воздействие или генетическую модификацию (при действии ФОВ) во взаимосвязи с генетическими особенностями организма.

Также необходимо использование компьютерного моделирования для прогноза групповой токсичности ФОВ, обусловленной наследственными факторами.

Особенности токсического действия ФОВ на организм человека определяются генотипом белковых структур, в том числе ферментов участвующих в различных обменных и других процессах поддержания гомеостаза [Е. В. Рудакова, 2014]. Установлен ряд замен в сDNA АХЭ, одна из которых в стоп-кодоне Q71stop связана с отсутствием активности АХЭ. Поскольку носители этой мутации являются гетерозиготами, активность АХЭ у этих лиц составляет примерно 30% от нормы.

Точечные мутации гена НТЭ человека приводят к снижению ферментативной активности НТЭ и развитию аутосомно-рецессивных расстройств двигательных нейронов. Нейродегенерация развивается в результате комбинации двух событий: потери функции нормального белка и усиления токсической функции измененного белка.

Ген БХЭ имеет множественные мутации. К неблагоприятным из них относятся «медленные» аллели (A209G и др.), вызывающие ингибирование фермента.

Ген PON1 кодирует фермент параоксоназу. Из более 200 единичных нуклеотидных полиморфизмов гена PON1 распространенными являются изоформы L55M и Q192R, существенно влияющие на каталитическую активность фермента.

Аллель M ассоциирован с ингибированием метаболизма ФОВ. Полиморфизм Q192R существенно влияет на каталитическую активность PON1 в отношении ФОС (ФОВ) и арилэфиров.

Неблагоприятными являются мутации в гене пролидазы (PEPD 170100), связанные со снижением активности этого фермента, участвующего в гидролизе зомана [Wang S.H., et al., 2006].

Недостаточность пролидазы вызывает аутосомно-рецессивное заболевание с большой меж- и внутрисемейной вариабельностью фенотипа: от отсутствия симптоматики до тяжелых и даже летальных случаев (умственная отсталость, спленомегалия, анемия и повторные инфекции) [Antonella F. et al., 2002].

Таким образом, важно учитывать, что при действии ФОВ во всех случаях усиливается снижение активности гидролаз у лиц с неблагоприятными полиморфизмами генов, кодирующих эти эстеразы.

Между процессами детоксикации и иммунным ответом на действие ФОВ существует тесное взаимодействие.

Выраженное влияние ФОВ на иммунную систему выявлено как в условиях эксперимента, так и при клинико-эпидемиологических исследованиях лиц, подвергавшихся воздействию данных ОВ [Войтенко Н. Г. и др., 2015; Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., 2007; Петленко С.В., Богданова Е.Г., 2010; Санитарно-эпидемиологическое обеспечение..., 2012]. Оно может быть обусловлено как их прямым действием, так нарушением процессов биотрансформации.

Подвергаясь метаболизму, ФОВ действуют как гаптены, вызывая сенсibilизацию, повышенную чувствительность к собственным белковым структурам организма (аутосенсibilизация), развитие вторичного иммунодефицита. Изменяют секреторную активность клеток (межклеточных медиаторов, тканевых регуляторов проницаемости). Иницируется хемотаксис лейкоцитов и освобождение цитокинов, кардинально меняется сложный каскад взаимодействий в системе иммунокомпетентных клеток — эффекторов и модуляторов. ФОВ вызывают потерю экспрессии молекул МНС класса I.

При исследовании естественной цитотоксичности установлено ее снижение, прямо связанное с дозой ФОВ. В дозах, превышающих 0,5 ЛД₅₀ (однократное введение), возможна суммация иммуносупрессирующего эффекта ацетилхолина и антихолинэстеразного эффекта токсиканта. ФОВ поражают ЕКК и цитотоксические Т-лимфоциты, индуцируют апоптоз иммунных клеток. Под влиянием острого отравления заринном и веществом VX в дозе 1,0 DL₅₀ происходит снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому в меньшей степени — к Т-независимому антигену, также отмечалась существенная редукция АЗКЦТ.

При острой интоксикации VX иммуносупрессивные эффекты не связаны с увеличением концентрацией в плазме крови адреналина и норадреналина. Экзогенное введение адреналина и норадреналина в низкой дозе (0,25 мг/кг) вызывает увеличение основных иммунных реакций, а в высокой (2,50 мг/кг) — их уменьшение. Под влиянием VX существенно увеличивалось содержание КОЕ в селезенке, происходило значительное снижение Т-клеток в тимусе, что может быть вызвано как активацией ацетилхолина, действующего на миграцию КОЕ из костного мозга в селезенку и М-холинорецепторы тимоцитов, так и мембранотоксическим эффектом, активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Под влиянием ФОВ наблюдается снижение концентрации в крови цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-4 ИЛ-2, ИЛ-6 и др.), с которым связано угнетение функций Th1- и Th2-лимфоцитов, снижение антителообразования. Снижение специфического (адаптивного) клеточного ответа на ФОВ более выражено, чем врожденного иммунитета.

Отмеченное уменьшение летальности от экспериментальной инфекции в течение 36 ч после острого отравления ФОВ в дозе 0,5 DL₅₀ (парадоксальный феномен) также может быть связано с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, в результате чего реализуется противовоспалительный и другие протективные эффекты кортикостероидов; возрастает бактерицидная активность сыворотки крови, лизоцима и тромбоцитарно-катионного белка (β -лизина); стимуляция ацетилхолином м-холинореактивных структур нейтрофилов, моноцитов и макрофагов увеличивает их фагоцитарно-метаболическую активность [Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., 2007].

Как известно, оксидантный стресс связан с нарушением процессов биотрансформации и действием метаболитов ФОВ на мембраны иммунокомпетентных и других клеток. Он вызывает нарушение синтеза белков, повреждение ДНК и РНК, влияет на нейроэндокринную и иммунную регуляцию, антиокислительную систему, вызывая полисистемные и полиорганные повреждения [Биохимия, 2009].

Полиморфные варианты генов, кодирующих белки АОС, оказывают сильное влияние на широкий спектр биохимических реакций. Неблагоприятные генотипы способствуют развитию патологических процессов, вызывая разнообразные заболевания. Например, показано [Пардо Пералес Г. Д. и др., 2009; Рудакова Е. В., 2014], что с сочетанием аллелей генов ферментов АОС, таких как A16V *SOD2*, C262T *CAT*, и биотрансформации (*POM1* 192R и 55M) связаны: увеличение уровня триглицеридов, холестерина ЛПОНП, значения коэффициента атерогенности в группе мужчин, перенесших инфаркт миокарда, повышение уровня общего холестерина, ЛПВП у женщин с ИБС. То есть носители этих комбинаций полиморфизма генов входят в группу риска при контакте с ФОВ.

11.2 Влияние фосфорорганических отравляющих веществ на показатели детоксикации по данным токсикологических экспериментов

Специального комплексного изучения защитного взаимовлияния разнообразных звеньев системы детоксикации при отравлениях ФОВ до сих пор не было проведено. Однако в рамках исследования токсичности ФОВ (Радилов А.С., Кузнецов А.В., Глашкина Л.М. и др.; 2003) при действии в различных дозах выявлены отдельные показатели этой многоуровневой системы, позволяющие обосновать ведущие механизмы ее нарушения.

В частности, анализ результатов хронического 3-месячного в/ж введения VX крысам в дозах 1×10^{-3} – 1×10^{-7} мг/кг показал, что из биохимических

показателей, характеризующих состояние процессов детоксикации, в начальный период (1 мес.) активность АХЭ была статистически значимо снижена при его введении в наибольшей дозе. Через 1 и 3 месяца воздействия VX в дозе 1×10^{-3} мг/кг в плазме крови также наблюдались: статистически значимое снижение активности БХЭ, процессов ПОЛ (по МДА) — в дозах 1×10^{-3} – 1×10^{-5} , активация ЩФ — в дозах 1×10^{-3} – 1×10^{-5} , каталазы — в дозах 1×10^{-3} и 1×10^{-4} , повышение содержания глутатиона — на уровне пороговой дозы 1×10^{-5} в конце затравки (3 мес.), а пероксидазы — во все сроки воздействия в дозах 1×10^{-6} и 1×10^{-7} мг/кг. Активность глутаматдегидрогеназы в печени снижалась в группе животных, подвергшихся наибольшему воздействию VX (на 3 мес. введения), а также во всех опытных группах через 2 мес. после окончания воздействия (восстановительный период).

В восстановительный период (до 6 мес.) в плазме крови наблюдалось снижение активности БХЭ в дозах 1×10^{-6} и 1×10^{-7} мг/кг, повышение активности каталазы — в дозе 1×10^{-4} , карбоэстеразы — в дозе 1×10^{-7} , снижение активности пероксидазы — в дозе 1×10^{-5} и ее повышение — в дозе 1×10^{-7} ; в печени наблюдалось уменьшение содержания белковых SH-групп белков (в дозах 1×10^{-3} и 1×10^{-4} мг/кг).

Изменение в состоянии иммунной системы (активация спонтанной лейкергии) и развитие сенсбилизации к ФОВ (по хлорофосу) в этом же эксперименте имели четкую дозовую зависимость. VX в дозе 1×10^{-3} мг/кг вызывал у подопытных животных слабую аллергическую реакцию. Пороговой явилась доза 1×10^{-5} мг/кг. Вместе с тем статистически значимое повышение спонтанной лейкергии сохранялось и по окончании хронического эксперимента (через 2 месяца восстановительного периода), тенденция к восстановлению показателя отмечена через 6 месяцев после окончания воздействия в указанных дозах VX.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о снижении процессов 1-й фазы биотрансформации — гидролиза (по БХЭ) в период и после окончания введения VX, а в восстановительный период — активации АОС (КЭ) даже при низкоуровневом воздействии.

Повышение активности гидролазы ЩФ, участвующей в реакции дефосфолирования, наряду с активацией трансаминаз в печени может свидетельствовать о поражении печени, и соответственно о снижении ее детоксикационной функции.

Снижение SH-групп белков может быть связано с окислительной модификацией структуры белков и соответственно со снижением антиоксидантной защиты, которое, однако, компенсируется активацией

пероксидазы, каталазы и повышением уровня глутатиона в крови на фоне угнетения процессов ПОЛ.

Проведено определение связывания ФОВ с сывороточным белком альбумином. Выявлено, что альбумин способен связывать ФОВ (зоман, зарин и RVX) и их метаболиты с образованием аддуктов с ними по Tug-411 и Tug-150 [Гончаров Н.В. и др., 2015; Дубровский Я.А. и др., 2013]. Установлено, что сайт альбумина Ser193 участвует в связывании или гидролизе зомана.

Идентифицированы аддукты ФОВ с альбумином: зарина (О-изопропилметилфосфонат), зомана (О-пинаколилметилфосфонат-серин), VX (О-этилметилфосфонат-серин) [Берзин И.А. и др., 2009].

В опытах *in vitro* для оценки нейро-, иммуно-, гепатотоксических эффектов и антиоксидантной защиты проведен поиск новых потенциальных маркерных генов-мишеней действия ФОВ на культурах клеток нейробластомы SH-SY5Y, выявивший различия в экспрессии генов при воздействии ФОВ. Из 84 проанализированных генов отмечено статистически значимое снижение экспрессии для *ARG1*, *NOSTRIN*, *PAPPA*, *PLP1*, *TACR1*, повышение экспрессии *SEMA3* при воздействии зомана в изученных концентрациях.

Функционально *ARG1*, *TACR1* и *NOSTRIN* связаны с процессами метаболизма NO в печени, нервной и других тканях [Icking A. et al., 2005; Uchino T. et al., 1995; Xu X.Y. et al., 2013]. Ген *TACR1* влияет на активность Tacr1-рецептора компонента нейrogenного воспаления — субстанции P [Takeda Y. et al., 1991]. Субстанция P присутствует в центральной и периферической нервной системе, эндотелии сосудов, в мышечной ткани, в легких, желудочно-кишечном тракте, в иммунных клетках и др. Обладает широким спектром биологической активности: оказывает сосудорасширяющее действие, увеличивает капиллярную проницаемость, способствует дегрануляции тучных клеток, является хемоаттрактантом для лейкоцитов, активирует синтез и высвобождение медиаторов воспаления, вызывает сокращение гладкой мускулатуры, оказывает секретогенное действие, стимулирует высвобождение пролактина и пищеварительных гормонов [Petersson J. et al., 1995]. Вазодилатация с участием субстанции P является эндотелий-зависимой и реализуется посредством синтеза оксида азота.

NOSTRIN влияет на активность NO-синтетазы, участвующей в регуляции сосудистого тонуса [Xu X.Y. et al., 2013]. Снижение NO-синтетазы может привести к артериальной гипертензии, атеросклерозу и другим сосудистым поражениям, наблюдаемым при длительном воздействии ФОВ.

PAPP-A, цинксодержащая металлопротеиназа, расщепляя инсулиноподобного фактора роста (IGFBP-4 и IGFBP-5; ИФР 4 и 5) способствует увеличению его биодоступности, стимуляции неоангиогенеза,

вазодилатации и цитопротективного действия [Слесарева Ю.С., 2011; Bayes-Genis A. et al., 2001]. Высокие концентрации PAPP-A в крови больных ишемической болезнью сердца связаны с неблагоприятным прогнозом.

Изоформа SEMA3A, экспрессируемая опухолевыми клетками, подавляет опухолевый рост, влияет на иммунные функции, в частности ингибирует первичный Т-клеточный иммунитет [Catalano A. et al., 2006]. Белок семафорин SEMA3B участвует в аксональном наведении [Chen H. et al., 1998].

Снижение экспрессии гена *PLP1*, кодирующего трансмембранный протеолипид, является маркером проявления острой интоксикации заринном на ранних сроках [Damodaran T.V., 2006]. Этот миелиновый белок ЦНС способствует стабилизации миелиновых оболочек, аксональному выживанию, что важно для защиты от действия ФОВ.

Как следует из материалов, полученных *in vitro*, к потенциальным мишеням ФОВ следует отнести ферменты, не являющиеся гидролазами (серин/треонин протеинкиназа, ЛДГ, синтетаза жирных кислот и др.), а также структурные (тубулин, рибосомальный белок, регулятор актина 2), регуляторные и ядерные белки (MAP киназа 6, ядерный рибонуклеопротеин К, белки семейства 14-3-3 и др.), значение которых во взаимодействии с ФОВ должно быть подтверждено дальнейшими исследованиями.

11.3 Влияние фосфорорганических отравляющих веществ на показатели детоксикации по данным клинико-эпидемиологических исследований

По результатам комплексных медико-гигиенических исследований [Рембовский В. Р. и др., 2010; Янно Л.В. и др., 2010] установлено, что работа по УХО (ФОВ) привела к развитию вегетативной симптоматики, росту болезней органов пищеварения и дыхания, изменению гемограммы, иммунологических показателей, являющихся начальными проявлениями воздействия производственных факторов неспецифического характера. Показано, что гематологические отклонения [Плотникова С.Д., Недоборский К.В., 2011] проявились в виде статистически значимого увеличения содержания лейкоцитов, снижения количества иммунокомпетентных клеток с фенотипами CD3, CD4 и CD8, отчетливой тенденции к увеличению содержания ретикулоцитов. У работников ОУХО «Марадыковский» [Янно Л.В. и др., 2010] характерными явились изменения клеточного иммунитета в виде увеличения числа Т-хелперов (CD4+), цитотоксических лимфоцитов (CD8+), естественных киллеров (CD16+), числа клеток CD25+, экспрессирующих IL2-R+, CD95 клеток, несущих рецепторные структуры, определяющие готовность к апоптозу, HLA-DR, клеток с экспрессией антигенных детерминант главного

комплекса гистосовместимости II класса. Отмечалось прогрессирование в динамике наблюдения сенсibilизации на стандартный митоген (Кон А) и на вещества из группы фосфорорганических соединений (ФОС). Наблюдалась тенденция к снижению содержания IgM и IgG в крови в сочетании с уменьшением количества В-лимфоцитов (CD20+), что свидетельствует о недостаточности гуморального звена иммунного ответа. У ряда работников наблюдалось повышение уровня онкомаркеров, развитие сенсibilизации к маркеру антигенов ФОС (хлороформу).

Наличие у персонала статистически значимого увеличения числа лейкоцитов, изменения содержания иммунокомпетентных клеток с фенотипами CD3, CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-супрессоры и ЦТЛ), CD16⁺ (естественные киллеры), D25 (ранней активации – IL2-R⁺), CD95 (готовность к апоптозу), HLA-DR (поздней активации — МНС II класса), тенденция к снижению содержания IgM и IgG в крови в сочетании с уменьшением количества В-лимфоцитов (CD20⁺), сенсibilизация к гаптенам ФОВ аналогичны результатам, полученным в условиях токсикологического эксперимента. Это должно настораживать в отношении возможности развития отдаленных эффектов ФОВ, при их содержании в объектах производственной среды даже на уровнях ниже ПДК.

Изучение «цитокинового профиля» (27 цитокинов) у работающих на объектах ХУХО [Войтенко Н.Г. и др., 2015], которые подвергались наибольшей возможности контакта с ФОС и продуктами их деструкции, показало тенденцию к снижению содержания в крови цитокинов, регулирующих провоспалительные (IL-2, IL-6, TNF α и др.), противовоспалительные (IL-4, IL-10, IL-13), а также регуляторные иммунологические процессы (IL-10 – Treg; IL-9 – Th 9; IL-17 – Th 17). Эти изменения по сравнению с контрольной группой наблюдались как у персонала «грязной», так и «условно грязной» зон (соответственно постоянно работающих с ФОВ в СИЗ и редко контактирующих с ними в производственных условиях). Наибольшие отклонения отмечены для IL-1, IL-15 и цитокина RANTES у лиц, работающих непосредственно в «грязной зоне». Наблюдалось статистически значимое повышение уровня хемокина – эотаксина, участвующего в активации эозинофилов, базофилов и других провоспалительных клеток при аллергической реакции.

У лиц, работающих в «грязной зоне», соотношение IFN γ / IL-4, характеризующее баланс Т-хелперов 1 и 2 типов (клеточного и гуморального) иммунитета, статистически значимо превышало этот показатель у персонала «условно грязной» и «чистой» зон, главным образом за счет повышения содержания интерферона (IFN γ) в плазме крови, взаимодействующего преимущественно с макрофагами. Авторами также рассчитан новый

показатель: Eotaxin* IFN γ /IL-4, который более чем в 2 раза был выше у персонала «грязной зоны». Это свидетельствует о том, что при работе по УХО ФОВ снижена иммунологическая защита, сопровождающаяся активацией аллергических и аутоиммунных воспалительных процессов.

Нарушения гомеостаза, выявленные у персонала объектов по УХУХО, могут быть связаны с иммуносупрессивным эффектом кортикостерона на стресс-реакцию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, инициацией оксидантного стресса, ингибированием АХЭ и БХЭ, наблюдаемых под влиянием ФОВ и продуктов их деструкции [Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., 2007].

Кроме того, при оценке влияния ФОВ на здоровье персонала объектов по УХУХО следует обратить внимание на возможность развития отдаленных эффектов у чувствительных к ним лицам. Так, у работавших на бывшем производстве VX был отмечен высокой и сверхвысокой степени реальный риск здоровью — по параметрам относительного риска и фракции атрибутивного риска (профессиональной интоксикации, болезней нервной системы и органов чувств, ИБС, язвенной болезни, канцерогенеза и др., установленных через 3 и более лет после завершения работ на этом объекте) [Рембовский В. Р. и др., 2014].

Учитывая данные современных исследований, продолжается выбор генетико-биохимических маркеров предрасположенности лиц, имеющих вероятность контакта с ФОВ, к ослаблению процессов естественной детоксикации и развитию отмеченной патологии для своевременного выявления групп риска и профилактики даже начальных патогенетически значимых отклонений здоровья, в том числе отдаленных эффектов у персонала УХУХО и конверсионных объектов [Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А., 2016]. Наиболее эффективным является персонализированный подход на основе методов клинико-молекулярной и генетической диагностики.

Таким образом, выявление общепринятых и ранее неизвестных мишеней ФОВ у лиц, контактирующих с ними, позволяет более обоснованно предполагать молекулярные механизмы нехолинергического влияния ФОВ на организм человека и на этой основе проводить прогноз и обоснование лечебно-профилактических мероприятий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из вредных и опасных антропогенных факторов воздействие химических соединений на здоровье человека отличается наибольшим разнообразием. Оно может проявляться в ухудшении здоровья, снижении трудоспособности, ухудшении медико-демографических показателей, вплоть до развития тяжелых отдаленных эффектов и смертельных исходов. Поэтому оценка здоровья персонала химически опасных объектов и населения, проживающего вблизи этих предприятий, является ведущей в проведении медико-гигиенической экспертизы и единого комплексного социально-медицинского мониторинга.

Исследование процессов очищения организма от чужеродных веществ — ксенобиотиков (промышленные загрязнители, сельскохозяйственные яды, фармакологические препараты и др.), которое носит индивидуальный характер и тесно связано с наследственным фактором, является обязательным условием диагностики при оценке влияния опасных химических веществ на состояние здоровья работающих и населения при деятельности ХОО. Вместе с тем этим вопросам до настоящего времени уделяется мало внимания из-за сложности выявления внутренних механизмов реагирования организма на многофакторное воздействие, а также из-за недостаточной подготовки кадров и обеспечения материально-технической базой для проведения всесторонних углубленных исследований на основе персонализированной медицины.

В настоящее время расширилось представление о системе детоксикации — обезвреживания токсичных веществ экзогенного и эндогенного происхождения. Многоуровневая система детоксикации включает внешние и внутренние барьеры, в том числе обитающую в них микробиоту, процессы биотрансформации и транспорта ксенобиотиков, иммунную и другие системы, которые предназначены для защиты от проникновения химических токсикантов в организм, образования токсичных метаболитов, а также «облегчения» выведения их из организма и ослабления токсичности. С помощью семейств ферментов биотрансформации, локализованных в барьерных органах, с различной субстратной специфичностью метаболизируются разные по химическому составу соединения. Биологическими последствиями биотрансформации ксенобиотиков могут быть: ослабление или полная потеря биологической активности токсикантов (ФОВ, синильная кислота); изменение биологической активности: исходное вещество и продукты его метаболизма в достаточной степени токсичны, но действуют на различные биомишени

(метанол, дихлорэтан и т.д.); усиление токсичности или появление новых свойств (иприт, фторэтанол, бенз(а)пирен и др.).

Все большее внимание уделяется изучению влияния процессов биотрансформации ксенобиотиков на иммунную систему, так как нарушения взаимодействия этих защитных механизмов может привести к усилению токсических эффектов ксенобиотиков. Например, индукторы монооксигеназной системы при отравлении токсикантами, метаболизирующимися в организме до высокотоксичных соединений, могут вызывать усиление иммунотоксических свойств токсикантов, а их ингибиторы — снижать образование токсичных метаболитов, ослаблять иммунотоксический эффект.

Перспективно исследование взаимодействия химических соединений с иммунной, нервной и эндокринной системами [С. В. Магаева и др., 1988; Эндокринная регуляция..., 2009], представляющими целостную регуляторно-управленческую метасистему. Например, тимус — эндокринный орган, производит Т-клетки и гормоны, регулирующие функции иммунитета. Нервная система регулирует выработку гормонов стресса, влияющих на состояние иммунитета. Гормоны оказывают либо стимулирующий, либо депрессивный эффект. Влияют на пролиферацию иммунокомпетентных клеток, митоз, синтез белка, репликацию нуклеиновых кислот, экспрессию генов, изменения на клеточных мембранах.

В результате метаболизма токсикантов и иммунного ответа зачастую развивается оксидантный стресс, для защиты от которого клетки имеют антиоксидантную систему, содержащую низко- и высокомолекулярные соединения, способные нейтрализовать источники возникновения свободных радикалов. Антиоксиданты блокируют активацию протоонкогенов, нормализуют иммунный статус. Нарушение взаимодействия процессов генерации свободных радикалов и антиоксидантной защиты при поступлении ксенобиотиков в организм нередко вызывает дестабилизацию биологических мембран, активацию процессов липопероксидации и другие нарушения.

Изменение эндогенного метаболизма, регуляторных механизмов и других систем поддержания жизнедеятельности у лиц, работающих с ОХВ или подвергающихся их воздействию в среде обитания, может приводить к возникновению нового состояния гомеостаза, отличающегося от такового у здоровых людей, не подвергавшихся воздействию вредных факторов, что нужно учитывать при проведении лечебно-профилактических мероприятий.

Использование антидотных свойств компонентов пищи может оказывать протекторное воздействие на структуру и функцию поражаемых органов, ограничение всасывания, восстановление метаболизма и ускорение выведения химических токсикантов из организма. В настоящее время также активно

рассматривается роль биологически активных веществ, а также самих ядов в малых дозах и СМД, которые могут активировать защитные механизмы организма и компенсировать последствия токсических эффектов. Однако воздействие отдельных веществ в малых дозах (соединения мышьяка, диоксины и другие канцерогены) отрицательно влияет на организм.

Требуется изучение «блокады» на первый взгляд «второстепенного звена» детоксикационных процессов, которая способна спровоцировать каскад серьезных нарушений, но при этом она может быть устранимой современными терапевтическими средствами. То есть необходимо выявление «слабого звена» и проведение дополнительной поддержки работы системы естественной детоксикации медикаментозными и другими средствами для коррекции защитных механизмов организма. Таким примером в нарушении процессов метилирования, в том числе 2 фазы детоксикации, может служить взаимовлияние генетического фактора (полиморфизм С677Т гена *MTHFR*) и гиповитаминоза фолиевой кислоты, витаминов В₁₂, В₆, необходимых для фолатного обмена, и, в частности, образования S-аденозилметионина, донора метильных групп при трансметилировании и других метаболических реакциях.

В настоящее время большое внимание научной общественности уделяется генетическим факторам, лежащим в основе индивидуальной чувствительности к действию конкретного химического вещества. Полиморфизм генов, кодирующих ферменты биотрансформации, транспортеров ксенобиотиков, а также компоненты иммунной и антиоксидантной систем, является важнейшим фактором, определяющим своеобразие фармако- и токсикокинетики ксенобиотиков в организме человека. Многие гены ферментов биотрансформации и других структур системы детоксикации могут выступать в качестве модификаторов течения болезней, в том числе проявления первых их симптомов. Выявлены группы генов, связанные с функциями органов и отдельных систем, развитием определенной патологии (фенотипами). На популяционном уровне одно и то же заболевание, в том числе обусловленное действием ОХВ, может характеризоваться существенными различиями, как по времени начала, так и по клинике проявления его манифеста. На особенности фенотипирования влияют и эпигенетические модификации, формирующие эпигенетический код соответствующего признака (болезни).

При дифференциальной диагностике заболеваний, обусловленных действием химического фактора, необходимо изучать «фоновые» генетический и эпигенетический коды на индивидуальном уровне. Важно оценивать вклад в развитие патологии «вредных привычек» (табакокурение, употребление алкоголя, наркотиков и т.д.), пола, возраста, особенностей питания и действия других факторов на обследуемых лиц.

В связи с развитием профилактического направления персонифицированной медицины актуальной задачей является создание генетического паспорта работников опасных химических производств и лиц группы риска среди населения, проживающего вблизи этих объектов. В него также должна быть включена информация об эпигенетической регуляции с учетом возможности передачи эпигенетических изменений потомству. Необходимо ведение базы данных генетического мониторинга и формирование банка индивидуальных ДНК-данных и результатов клинико-инструментальных и лабораторных исследований здоровья персонала и населения с использованием современных программ вычислительной техники для выявления сложных многообразных взаимосвязей ответной реакции организма и донозологических проявлений при токсическом воздействии.

Таким образом, изучение сущности и механизмов персонифицированного ответа на воздействие многообразных химических соединений является перспективным при проведении профотбора, предупреждении, выявлении и корректировки возможных нарушений защитных механизмов гомеостаза индивидуума в условиях негативного влияния химического фактора. Развитие данного направления требуется как для накопления фундаментальных материалов профилактической медицины, которые позволяют сформулировать задачи, создать программы и методологические основы эффективного проведения клинико-экспериментальных исследований многочисленных взаимосвязей в организме, направленных на сохранение здоровья человека, его долголетие и высокую работоспособность, так и для совершенствования профилактических мероприятий по улучшению экологической ситуации во многих промышленных регионах России, так и.

В этом плане специально созданный международный Геномный проект Окружающей Среды (The Environmental Genome Project — EGP; 1998 г. и по настоящее время) позволит создать уникальную базу данных генома (и эпигенома) людей для изучения влияния окружающей среды на возникновение и развитие различных заболеваний, продолжительность жизни человека. Проектом EGP выделены 554 гена-маркера, отвечающих за полигенные мультифакторные заболевания и состояния (диабет II типа, сердечно-сосудистые заболевания, аллергия, рак, процессы старения и пр.). Данные маркеры могут представить основной источник для развития индивидуальной профилактики и терапии МФЗ. Создание индивидуальной профилактической программы должно быть основано на выборе генов-маркеров и изучении взаимодействия «окружающая среда — эпигеном — ген», «ген — ген» согласно эпигеномной регуляции и межгенного взаимовлияния для поддержания гомеостаза организма.

Составление индивидуального прогноза возможных нарушений здоровья на основе персонифицированной медицины и ее составной части — персонализированной токсикологии является целью разработки лечебно-профилактических мероприятий и их внедрения в практику для сохранения здоровья конкретного человека, профессиональной группы и популяции в целом.

В связи с развитием персонализированной токсикологии потребуются пересмотр токсикологической концепции, методологических подходов к изучению токсичности и обоснованию гигиенических нормативов химических соединений с учетом индивидуальной чувствительности, а также внедрение новых молекулярно-генетических показаний к приему на работу, разработка других научно обоснованных мероприятий с использованием новых фундаментальных открытий в области молекулярной токсикологии при медико-санитарном (коллективном и индивидуальном) сопровождении обследуемых контингентов ХОО.

Использование системного подхода поднимает вопрос изучения на генетическом уровне роли ментальной составляющей в поддержании здоровья человека, что представляет насущную задачу для современных исследователей, особенно при изучении нейротоксикантов, значительно влияющих на когнитивную и другие функции ЦНС. В этом отношении правильно говорить о духовном здоровье, которое кроме мыслительной деятельности включает волевые качества, познание и соблюдение объективных законов мироздания, направленных на гармоничное развитие индивидуума и его деятельность в окружающем мире.

ЛИТЕРАТУРА

Абилев С. К. Химические мутагены и генетическая токсикология // Природа.- 2012.- № 10.- С. 39-46.

Абдувахабов А. А. Михайлов С. С. Антиферментное действие и детоксикация фосфорорганических ингибиторов холинэстераз.- Ташкент: Медицина.- 1989.- 184 с.

Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии / Под. ред. В. М. Попкова, Н. П. Чесноковой, М.Ю Ледванова. - Саратов: Изд-во СГМУ, 2012.- 365 с.

Александров В. Н., Емельянов В. И. Отравляющие вещества Емельянов В. И. Изд. 2 перераб и доп.- М.: Военное изд., 1990.- 271 с.

Алексеева О. Г., Дуева Л. А. Аллергия к промышленным химическим соединениям.- М.: Медицина, 1978.- 272 с.

Андреева А., Бодрова Т., Бочарова М. и др. Клиническое значение выявления полиморфизмов в геноме ... [Электронный ресурс]. www.eurolab.md//klinicheskoe-znachenie-vyyavleniya-polimorfizmov.

Антимонова О. И., Галкина О. В., Морозкина С. Н., А.Г.Шавва С. Н. Стероидные эстрогены как антиоксиданты // Вестник Санкт-Петербургского университета.- 2012.- Сер. 4. вып. 3.- С. 79–95.

Антидоты противоядия ... [Электронный ресурс]. www.medical-enc.ru/1/antidote_ov.shtml

Антонов Ю. П., Заугольников Д. С., Мусийчук Ю. И., Нагорный С. В. Принципы системного подхода к оценке опасности для человека вредных факторов среды // Гигиена и санитария.- 1979.- № 9.- С. 63-67.

Арчаков А. И. // Микросомальное окисление. М.: «Наука», 1975.- 326 с.

Асадуллина Н. Р., Гудков С. В., Брусков В. И. Антиоксидантные свойства некоторых пуриновых соединений // Биоантиоксидант: Тезисы докладов VIII Международной конференции 04-06 октября 2010 года.- М., 2010.- С. 28-30.

Ахмадишина Л. З, Корытина Г. Ф., Кочетова О. В. и др. Анализ ген (CYP1A2, CYP2F1, NQO1, UGT2B7, CAT, GSTP1)-средовых взаимодействий при профессиональном хроническом бронхите // Экологическая генетика. - 2014.-

Т. 12, № 2.- С. 47-59.

Ашмарин И. П., Карезиева Е. П., Млекова Т. В. К вопросу о развитии проблемы эффективности сверхмалых доз биологически активных соединений // Российский химический журнал.- 1999.- Т. XLIII.- № 5.- С. 21-28.

База знаний: Катехол-О-метилтрансфераза (COMT) [Электронный ресурс]. helix.ru>kb/item/18-049

Бакиров Б. А., Каримов Д. Ю., Викторова Т. В. Полиморфизм генов регуляторов апоптоза и факторов роста у больных хроническим лимфолейкозом // Онкология.- 2011.- Т. 7, № 4.- С. 827-831.

Балашов С. В. Доиммунный и иммунный гомеостаз, механизмы его регуляции при отравлении тетрахлорметаном. Способы коррекции: Автореф. дисс... к.м.н.- 2009.- 23 с.

Баранов В. С. Полиморфизм генов, экогенетические болезни и генетический паспорт // Экологическая генетика.- 2011.- Т. 9, № 3.- С. 3-14.

Баранов В. С. Программа «Геном человека» как научная основа профилактической медицины. Вестн. РАМН.- 2000.- № 10.- С. 27-37.

Баранов В. С., Асеев М. В., Баранова Е. В. «Гены предрасположенности» и генетический паспорт // Природа.- 1999.- № 3.- С. 17-27.

Баранов В. С., Баранова Е. В. Генетический паспорт - основа активного долголетия и максимальной продолжительности жизни [Электронный ресурс]. books.google.ru/books?isbn=5457377326

Баранов В. С., Баранова Е. В. Геном человека, эпигенетика многофакторных болезней и персонифицированная медицина // Биосфера.- 2012.- Т. 4, № 1.- С. 76-85.

Баранов В. С., Баранова Е. В. Эволюция молекулярной медицины: от электронного «генетического паспорта» до геномной электронной карты здоровья // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике.- 2016. Новосибирск: ООО «Академиздат», 2016.- Вып. 24.- С. 3-17.

Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э., Асеев М. В. Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину.- СПб.: Интермедика, 2000.- 272 с.

Барьерные функции / Клетки / Анатомия человека [Электронный ресурс]. Medkarta.com medkarta.com/?cat=article&id=20591

Белов А. А. К вопросу о токсичности и опасности гидразина и его производных (обзор) // Промышленная токсикология.- 1999 г.- № 5.- С. 3-15.

Береговская Н. Н., Савич А. В. Возможное кодирование железо-серных белков в митохондриальном геноме млекопитающих // Биополимеры и клетка.- 1988.- Т. 4, № 6.- С. 238-245.

Березикова Е. Н. Клинико-генетические и нейрогормональные механизмы развития ишемического ремоделирования, апоптоза миокарда и сердечной недостаточности: инновационная стратегия персонализированной диагностики, профилактики и лечения: Автореф. дисс... д.м.н.- Томск, 2014.- 49 с.

Берзин И. А., Романов В. С., Савельева Е. И. и др. Определение метаболитов фосфорорганических отравляющих веществ в биомедицинских пробах с использованием твердофазной экстракции // Medline.ru 2009.- Т. 10,- С. 44-56.

Библиотека НЕФТЬ-ГАЗ: Предложения в тексте с термином [Электронный ресурс]. .www.bezo.oglib.ru/bgl/9450/2593.html

Биологические свойства антител - Медицинские ... [Электронный ресурс]. www.dovidnyk.org/dir/21/115/1247.html

Биомолекула. ру: «Омики» - эпоха большой биологии [Электронный ресурс]. biomolecula.ru/content/1387.

Биохимия: Учебник для вузов / Под ред. Е. С. Северина.- 5-е изд.- 2009. - 768 с.

Блюменфельд Л. А. Параметрический резонанс, как возможный механизм действия сверхмалых концентраций биологически активных веществ на клеточном и субклеточном уровнях // Биофизика.- 1993.- Т. 38.- Вып. 1.- С. 129-132.

Болезни полигенные (мультифакториальные) [Электронный ресурс]. humbio.ru/humbio/eclin/0003de06.ht

Бодиенкова Г. М., Боклаженко Е. В., Курчевенко С. И. и др. Роль цитокинов в развитии профессиональных нероинтоксикаций у работающих // Современные наукоемкие технологии.- 2010.- № 10.- С. 38-41

Боринская С. А., Янковский Н. К. Генетика и геномика человека. Популяции и этносы в пространстве и времени: эволюционные и медицинские аспекты // Вавиловский журнал генетики и селекции.- 2013.- Т. 17, № 4/2.- С. 930-942.

Бочков Н. П., Пузырев В. П., Смирнихина С. А. Клиническая генетика: Учебник. / Под ред. Н. П. Бочкова.- 4-е изд., перераб. и доп.- М.: ГЭОТАР-МЕД, 2011.- 592 с.

Брагина Е. Ю. Сравнительный анализ структуры наследственной компоненты подверженности к бронхиальной астме и туберкулезу по генам ферментов метаболизма ксенобиотиков: Автореф. дисс...к.б.н.- Томск, 2005.- 23 с.

Булатов В. В., Хохоев Т. Х., Дикий В. В. и др. Проблема малых и сверхмалых доз в токсикологии. Фундаментальные и прикладные аспекты // Российский химический журнал.- 2002.- Т XLVI.- № 6.- С. 58-62.

Бунева В. Н., Красноруцкий М. А., Невинский Г. А. Природные антитела к нуклеиновым кислотам // Биохимия. - 2013. - Т. 78, № 2. - С. 185-203.

Бурлакова Е. Б. Наномир слабых воздействий - «карликов», его законы, общность и различия с миром» гигантов» // Биоантиоксиданты: тезисы докладов VIII Международной конференции; 04-06 октября 2010 года.- М., 2010.- С. 69-71.

Бурлакова Е. Б. Сверхмалые дозы - загадка природы // Экология и жизнь.- 2000.- № 2.- С. 36-48.

Буров Ю. В., Ведерникова Н. Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма.- М.: Медицина, 1985.- 237 с.

Вайсерман А. М. К эпигенетической этиологии возраст-зависимых заболеваний // Успехи геронтологии.- СПб., 2008.- Т. 21, № 3.- С. 477-479.

Вахрушева С. Е. Полиморфизм генов детоксикации ксенобиотиков у курьщиков и пациентов с ранними стадиями хронической обструктивной болезни легких: Автореф. дисс...к.м.н.- Владивосток, 2012.- 22 с.

Взаимодействие с альбумином [Электронный ресурс].doc iemgrams.spb.ru.

Витамины - Лечебно-профилактическое питание [Электронный ресурс]. LekMed.ru>Архивы>.. -pitanie_5.html

Владимиров Г. Н., Кононихин А. С., Ильина Е. Н. и др. Точное измерение масс продуктов полимеразно-цепной реакции как метод генотипирования // Труды МФТИ. -2009. - Т. 1, № 1. - С. 37-41.

Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал.- 2000.- № 6.- Т. 12.- С. 13-19.

Войтенко Н. Г., Гарнюк В. В., Прокофьева Д. С., Гончаров Н. В. О новом

скрининговом биомаркере для оценки состояния здоровья персонала предприятия по уничтожению химического оружия // Медицина труда и промышленная экология.- 2015.- № 3.- С. 38-42.

Выявление мутаций в генах, кодирующие ферменты II фазы [Электронный ресурс]. www.biolinklab.ru/..../vyavlenie-mutatsii-v-genakh-kodiruyushchie-fer...

Газизова Р. Г. Молекулярно-генетические маркеры предрасположенности к гипертонической болезни населения республики: Автореф. дисс...к.б.н. Казань, 2007.- 28 с.

Гамма-глобулин - Медицинская. [Электронный ресурс]. www.medical-enc.ru/4/gamma-globulin.shtml

G6PD-Ген - Биология человека humbio.ru/humbio/rett/000040fa.htm Генетические детерминанты токсической ответной ... [Электронный ресурс]. base.safework.ru/iloenc?print&nd=857400325

Генетический паспорт - основа индивидуальной и предикативной медицины / Под ред. В. С. Баранова.- СПб.: Изд-во Н-Л, 2009.- 528 с.

Генетический полиморфизм TNF-а и заболевания печени [Электронный ресурс]. www.medvestnik.ru/..../geneticheskiy_polimorfizm_tnfa_i_zabolevaniya_pecheni/

Генетический и фенотипический полиморфизм человечества [Электронный ресурс]. estnauki.ru/./812-geneticheskij-i-fenotipicheskij-polimorfizm-chelvoec.

Гены биотрансформации, детекция генов CYP1A1, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, GSTM1, GSTT1, NAT2, MTHFR, TPMT [Электронный ресурс]. www.eurolab.md/./geny-biotransformacii-detekcija-genov-cyp1a1-cyp.

Гены иммунитета и минерального обмена, ДНК анализ ... [Электронный ресурс]. www.vitasite.ru/..../geny-immuniteta-i-mineralnogo-obmena/

Гены системы детоксикации GSTT1, GSTM1, GSTP1 - Наука [Электронный ресурс]. <https://www.labnauka.ru/..../genyi-sistemyi-detoksikaczii-gstt1-gstm1-gst...>

Гены системы гистосовместимости и долгожительство [Электронный ресурс]. www.vechnayamolodost.ru/pages/..../gensigiido.html.

Голденкова-Павлова И.В., Брускин С. А., Абдеев Р. М. Сравнительный анализ результатов фенотипирования и генотипирования по полиморфизму N-ацетилирования у человека // Генетика: журнал Российской академии наук.- 2006.- Т. 42, № 8.- С. 1143-1150.

Голиков С. Н., Саноцкий И. В., Тиунов Л. А. Общие механизмы токсического действия.- Л.: Медицина, 1986.- 280 с.

Гонсорунова Д. С., Огородова Л. М., Фёдорова О. С. и др. Участие Т-регуляторных клеток в иммунном ответе при атопическом дерматите // Бюллетень сибирской № 4.- С. 82-88.

Гончаров Н. В., Белинская Д. А., Разыграев А. В., Уколов А. И. О ферментативной активности альбумина // Биоорганическая химия.- 2015.- Т. 41, № 2.- С. 131-144.

Григорьева С. А. Изучение генетически обусловленной чувствительности к действию мутагенов окружающей среды в индуцированном мутагенезе на клетках человека: Автореф. дисс...к.м.н.- М., 2011.- 24 с.

Григорьева С. А., Никитина В. А., Ревазова Ю. А. Связь аллельных вариантов генов детоксикации ксенобиотиков с цитогенетическим ответом на действие мутагена // Гигиена и санитария.- 2007.- № 5.- С. 62-63.

Гусев В. А., Даниловская Е. В. Роль активных форм кислорода в патогенезе пневмокониозов // Вопросы медицинской химии.- 1987.- № 5.- С. 9-15.

Дворянкова Е. В. Терапевтическая эффективность применения отечественного иммуномодулятора «Полиоксидоний» у больных витилиго: Автореф. дисс...к.м.н.- М., 2002.- 18 с.

Дворчик Т. Я. Прогнозирование риска низкодозовых воздействий на персонал производств фосфорорганических веществ: Автореф. дисс...к.м.н.- Волгоград, 2006.- 22 с.

Деацетилирование гистонов (выключение генов) [Электронный ресурс]. emet.in.ua>xanthin/OLIGOPEPTIDY_I_POLIPEPTIDY

Детоксикация организма | Здоровый образ жизни [Электронный ресурс]. nazdor-e.ru/immunologija/detoksikaciya-organizma

Долгих В. В., Большакова С. Е., Колесникова Л. И., Михалевич И. М. Молекулярно-генетические маркеры предрасположенности к тромбозам у подростков с эссенциальной артериальной гипертонией // Терапевтический архив.- 2014.-Т. 86, № 9 - С. 45-48.

Доценко В. А. Лечебно-профилактическое питание как фактор сохранения трудового потенциала производства // Вопросы здорового и диетического питания.- 2011.- № 3.- С. 38-50.

Доценко В. А. Практическое руководство по надзору за организацией питания и здоровьем населения .- СПб.: Фолиант, 2006.- 312 с.

Дубровский Я. А., Мурашко Е. А., Подольская Е. П. и др. Оптимизация условий проведения металл-аффинной хроматографии для выделения фосфонилированных пептидов // Научное приборостроение.- 2013.- Т. 23, № 3.- С. 13-19.

Духович Ф. С., Горбатова Е. Н., Курочкина В. В. и др. Количественный подход к определению понятия «сверхмалые дозы» лекарственных веществ и ядов // Российский химический журнал.- 1999.- Т. XLIII.- № 5.- С. 12-15.

Железникова Г. Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию // Журнал инфектологии.- 2001.- Т. 3, № 1.- С. 6-13.

Желобенко Т. В., Сергеев Д. С. Алкогольдегидрогеназы и их роль в биохимических и физиологических процессах организма. Метаболизм этанола в организме / .процессах организма. метаболизм этанола в организме. [Электронный ресурс]. scienceforum.ru>Список научных направлений>758/1192.

Жулай Г. А., Олейник Е. К. Регуляторные Т-лимфоциты CD4+CD25+FOXP3+. Перспективы применения в иммунотерапии // Труды Карельского научного центра РАН.- 2012.- № 2.- С. 3-17.

Забродский П. Ф. Иммуотропные свойства ядов и лекарственных средств.- Саратов: Издательство СГМУ, 1998.- 213 с.

Забродский П. Ф., Мандыч В. Г. Иммуотоксикология ксенобиотиков.- Саратов: СВИБХБ, 2007.- 420 с.

Зайцева Н. В., Долгих О. В., Дианова Д. Г. Особенности иммунологических и генетических нарушений человека в условиях дестабилизации среды обитания.- Пермь: изд-во ПНИПУ, 2016.- 300 с.

Зенин С. В. Структурированное состояние воды как основа управления поведением и безопасностью живых систем: Автореф. дисс...д.б.н.- М.- 1999.- 46 с.

Ивашкин В. Т. Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.- 2008.- Т. 18, № 4.- С. 4-13.

Ивлева К. Д., Баирова Т. А., Калюжная О. В., и др. Ген фолатного цикла

MTHFR и питание // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН.- 2016.- № 3-2 (109).- С. 138-144.

Иммуноглобулины: генетическая организация, введение [Электронный ресурс]. umbio.ru/humbio/immunology/000c415e.htm

Иммунологические аспекты комбинированного воздействия. [Электронный ресурс]. www.chelsma.ru/files/misc/diisertacija_mikhajlovoj_i.v..pdf

Иммунология: Учебник / Р. М. Хаитов.- 2-е изд., перераб. и доп.- 2013.-528 с.

Имянитов Е. Н. Наследственный рак молочной железы // Практическая онкология.- 2010.- Т. 11, № 4.- С. 258-264.

Интерфероны [Электронный ресурс]. dic.academic.ru/dic.nsf/enc_medicine/12789/Интерфероны История создания отравляющих веществ ...- Главная refwin.ru/188801424.html

Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике - М.: МЕДпресс-информ., 2009.- 896 с.

Каркищенко Н. Н. Классика и альтернативы биомедицины Том.2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии.- М.: Межакадем. изд. ВПК, 2007.- 448 с.

Карузина И. И. Самоинактивация цитохромов P450 при химическом восстановлении и в процессе катализа: Науч. докл...докт. биол. наук.- 1999.- 73 с.

Кассиль Г. Н. Внутренняя среда организма.- 2-е изд., перераб. и доп.- М.: Наука, 1983.- 227 с.

Кетлинский С. А. Роль Т-хелперов 1-го и 2-го типов в регуляции клеточного и гуморального иммунитета // Новости науки и техники. Серия Медицина аллергия, астма и клиническая иммунология № 8: Первый всероссийский симпозиум «Физиология иммунной системы» 15-16 июня 2000 года, г. Москва. М., 2000.- С. 85-89.

Киселев В. И., Пальцев М. А. Регуляция активности генов и новые лекарственные вещества // Научные основы эффективности и безопасности лекарственных средств / Под ред. М. А. Пальцева, Н. Н. Белушкиной.- М.: РАН, 2015.- С. 93-106.

НК-клетки. Функции НК-клеток [Электронный ресурс]. dommedika.com>physiology/796.html

Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: Руководство / Под ред. В. Г. Кукеса.- 2009.- 432 с.

Клиническое значение выявления полиморфизмов в геноме ... [Электронный ресурс]. www.eurolab.md/.. /klinicheskoe-znachenie-vyyavleniya-polimorfizmov.

Ковалев И. Е., Полевая О. Ю. //Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным химическим соединениям.- М.: Наука, 1985.- 303 с.

Кожа (строение, функция, общая патология и терапия) / Под ред. А. М. Чернуха, Е. П. Фролова.- М.: Медицина, 1982.- 336 с.

Кожанова С. В., Шортанбаев А. А., Бижигитова Б. Б. Субпопуляции специализированных лимфоцитов (I). nk-клетки. [Электронный ресурс]. kaznmu.kz>Вестник КазНМУ.

Колесникова Л. И., Баирова Т. А., Первушина О. А. Гены ферментов антиоксидантной системы // Вестн. Росс. акад. мед. наук.- 2013.- № 12.- С. 83-88.

Коляскина М. М. Роль генов системы биотрансформации ксенобиотиков в механизмах формирования и развития профессиональных аллергических дерматозов: Автореф. дисс...к.м.н.- М., 2011.

Комиссаренко А. А., Салычева Л. В. Влияние «информационного следа» ксенобиотиков на иммунитет // Журнал Медлайн экспресс.- 2005.- № 1.- С. 10-12.

Комиссаренко А. А., Салычева Л. В. Гипотеза механизмов гомеопатического воздействия [Электронный ресурс]. www.homeoassociatia.ru/topics/consepcia.htm

Комплексное иммунологическое исследование [Электронный ресурс]. spravochnik.synevo.ua/ru/ch17/kompleksnoeimmunologicheskoeissledo.

Кондратьев А. Д. Исследование процессов образования активных форм кислорода под влиянием низких концентраций гептила.- НТО, НТЦ «Экон ЦНИИмаш», 2004.- 83 с.

Кондрашов В. А. Значение кожного пути поступления химических веществ в организм и профилактика перкутанных отравлений / Под ред. В. Р. Рембовского.- СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2014.- 288 с.

Коненков В. И., Ракова И. Г., Максимов В. Н., Воевода М. И. Аллельный полиморфизм генов про- и противовоспалительных цитокинов при инфаркте миокарда в европеоидной популяции мужчин // Бюллетень СО РАМН.- 2006.- № 2 (120).- С. 29-42.

Королев А. А. Гигиена питания.- М., 2006.- 528 с.

Корытина Г. Ф. Молекулярно-генетический анализ наследственной предрасположенности к хроническим заболеваниям органов дыхания: Автореф. дисс. д.б.н.- Уфа, 2012.- 48 с.

Кравков Н. П. О пороге чувствительности протоплазмы // Успехи экспериментальной биологии.- 1924.- Т. 3, № 3-4.- С. 147-172.

Кравченко П. Н., Олейник Е. К. Система регуляторных т-клеток и аутоиммунные процессы // Журнал Труды Карельского научного центра Российской академии наук.- 2013.- № 3.- С. 18-29.

Кубанов А. А., Абрамова Т. В. Распознающие рецепторы врожденного иммунитета (толл-подобные рецепторы) в патогенезе заболеваний кожи // Цитокины и воспаление. 2015.- Т. 14, № 1.- С. 11-17.

Кукес В. Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты.- М.: Реафарм, 2004.- 144 с.

Кукес В. Г., Сычев Д. А., Раменская Г. В. Фармакогенетика системы биотрансформации и транспортеров лекарственных средств: от теории к практике // Биомедицина.- 2007.- Вып. 1, Т. 1.- С. 29-47.

Курдюков И. Д., Шмурак В. И., Надеев А. Д. и др. Эстеразный статус» организма при воздействии токсических веществ и фармпрепаратов // Токсикол. вестник.- 2012.- № 6.- С. 6-13.

Курдюков И. Д., Дубровский Я. А., Бабаков В. Н., Гончаров Н. В. Исследование полиморфизмов параоксоназы-1 у населения Кировской области // Токсикологический вестник.- 2012.- № 4.- С. 13-18.

Куценко С. А. Основы токсикологии: научно-методическое издание.- СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2004.- 720 с.

Ланкин В. З., Капелько В. И., Руге Э. К. и др. Коэнзим Q10: физиологическая функция и перспективы использования в комплексной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы. Пособие для врачей.- М.: Медпрактика-М., 2008.- 22 с.

Лечебное питание. Основы организации лечебно-профилактического питания на производстве с вредными условиями труда // Основы организации лечебно ... [Электронный ресурс]. bibliotekar.ru/lechebnoe-pitanie/89.htm.

Лимфа [Электронный ресурс]. dic.academic.ru/dic.nsf/enc_medicine/16554/

Лимфа.

Литвинов В. И., Чуканова В. П., Маленко А. Ф. и др. Проблемы иммуногенетики болезней легких // Сборник трудов Центр. научн-исслед. ин-та туберкулеза.- 1983.- Т. 37.- С. 16-19.

Лошадкин Н. А., Голденков В. А., Дикий В. В. и др. Случаи массовых заболеваний «неясной этиологии»: токсикологические аспекты. Роль малых доз физиологически активных веществ // Российский химический журнал (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева).- 2002.- Т. XLVI - № 6.- С. 46-57.

Луговая О. В., Должиков А. А., Чурносков М. И. Анализ ассоциаций полиморфизмов генов факторов некроза опухолей и их рецепторов с иммунофенотипическими особенностями рака молочной железы // Вестник новых медицинских технологий.- 2012.- Т. 19, № 2.- С. 123-125.

Любишин М. М., Сивак К. В., Саватеева-Любимова Т. Н. Особенности формирования отдаленных последствий отравления этиленгликолем у крыс на фоне хронической нагрузки этанолом // Химбиобезоп. Спец. вып. М.: Кириллица, 2012.- С. 18-23.

Ляхович В. В., Гавалов С. М., Вавилин В. А. и др. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и особенности бронхиальной астмы у детей // Пульмонология.- 2002.- Т. 12.- № 2.- С. 31-38.

Ляхович В. В., Цирлов И. Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков.- Новосибирск: Наука, 1981.- 242 с.

Магаева С. В., Куликова О. С., Мартыненко М. В. и др. Проблемы нейрогуморальной метаболической регуляции иммунной системы в клинике.- Горький: ГМИ, 1988.- С. 38-44.

Макарова О. В. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков у рабочих нефтехимических производств: Автореф. дисс...к.б.н.- Уфа, 2004.- 22 с.

Малочкина Е. И., Ходаковская О. А., Водолазкая Н. А. и др. Уничтожение химического оружия и проблема малых и сверхмалых доз // Хим. и биол. безопасность.-2004.- № 6 (18).- С. 11-23.

Малярчук Б. А. Мутационный процесс в эволюции митохондриального генома человека // Успехи современной биологии. 2004.- Т. 124, № 2.- С. 109-122.

Мартинчик А. Н., Маева И. В., Янушевич О. О. Общая нутрициология: Учебное пособие.- М.: Медпрес-информ, 2005.- 392 с.

Мартынович Т. В., Акимова Н. С., Аристарин М. А. Взаимосвязь полиморфизма генов ABCA1, APOC3 И PON1 с выраженностью атеросклероза и течением хронической сердечной недостаточности у пациентов с ишемической болезнью сердца // Бюллетень медицинских интернет-конференций.- 2014.- Т. 4, № 3.- С. 230.

Маянский А. Н., Маянский Д. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге.- Новосибирск, 1989.- 344 с.

Медицинская токсикология: национальное. руководство / Под ред. Е. А. Лужникова.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.- 305 с.

Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник / Под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.- Т. 1.- 450 с.

Медицинские проблемы в экологии человека - Лекция [Электронный ресурс]. rudocs.exdat.com/docs/index-375868.html?page=5

Мельниченко П. И., Архангельский В. И., Козлова Т. А. и др. Гигиена с основами экологии человека: Учебник / Под ред. П. И. Мельниченко.- 2013. - 751 с.

Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике.- М.: Медицина, 1987.- 368 с.

Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты - М.: Изд-во: М.: Фирма «Слово», 2006.- 556 с.

Метилирование ДНК [Электронный ресурс]. epigenetiki.net/scientific/dnamethylation.html

Методы исследования лимфоцитов [Электронный ресурс]. marinahleb.narod.ru/design_new/limfocity.html.

Методы расшифровки нуклеотидной последовательности фрагментов ДНК // Секвенирование ДНК /обзор/ [Электронный ресурс].| molbiol.ru | Методы molbiol.ru>Методы>13_03.html.

Мешкова Р. Я. Иммунопрофилактика: Руководство для врачей. - Смоленск: Русич, 1999. - 256 с.

МикроРНК (miRNA): механизм действия и биологические. [Электронный ресурс]. humbio.ru/humbio/rna_interf/0003f69d.htm.

Мингазова С. Р. Клинико-генетические особенности профессионального

бронхита у работников промышленных предприятий: Автореф. дисс...к.м.н. М., 2011.

Миненко А. Н. Конструирование и изучение топогенеза гибридных белков на основе цитохрома P450scs (CYP11A1) в гетерологических системах: Автореф. дисс...к.х.н.- М., 2008.

Минина В. И., Савченко Я. А., Баканова М. Л. и др. Изучение вклада генетического полиморфизма в формирование индивидуальной чувствительности генома у рабочих теплоэнергетики // Гигиена и санитария.- 2011.- №5.- С. 30-32.

Митин А. Н., Литвина М. М., Митина Т. А. и др. Анализ экспрессии молекулы FOXP3 и ее изоформ CD4* Т-клетками периферической крови при различных формах течения множественной миеломы методом проточной цитометрии // Иммунология.-2014.- № 4.- С. 215-219.

Митохондриальные заболевания - этиология, классификация ... Секвенирование ДНК /обзор/ [Электронный ресурс]. liqmed.ru/disease/mitochondrialnye-zabolevaniya/

Могиленкова Л. А., Криницын Н. В., Филиппова Ю. В., Киселев Д. Б. Оценка риска здоровью персонала химически опасных производств // Теоретическая и прикладная экология.- 2011.- № 4.- С. 73-76.

Могиленкова Л. А., Рембовский В. Р. Роль генетического полиморфизма и различия в детоксикации химических веществ в организме человека // Гигиена и санитария.- 2016.- Т. 95, № 3.- С. 255-261.

Могиленкова Л. А., Рембовский В. Р. Явления лейкергии в патогенезе гемодинамических расстройств при профинтоксикации // Токсикол. вестн.- 2006. - № 5.- С. 8-13.

Могиленкова Л. А., Филиппова Ю. В., Филиппов В. Л. и др. Развитие психоневрологических нарушений при контакте с опасными химическими веществами // Клиническая больница.- 2013.- № 4 (6).- С. 13-17.

Моисеев А. А. Роль фармакогенетики в индивидуализации противоопухолевой химиотерапии // Фарматека.- 2013.- № 8.- С. 15-20.

Молекулярные механизмы генетических процессов: Молекулярная генетика, эволюция и молекулярно-генетические основы селекции.- М.: Наука, 1985.- 374 с.

Морозова К. В., Луценко Н. Н. Роль полиморфизма генов ферментов антиоксидантной системы в генезе невынашивания беременности // Акушерство, гинекология и репродукция.—2015.- № 2.- С. 54-61.

Москалев А. А. Старение и гены.- СПб.: Наука, 2008.- 358 с.

Мусийчук Ю. И., Терещенко Г. Ф., Лебедев Г. П. и др. Клинико-эпидемиологическое подтверждение канцерогенной опасности гидразина и 1,1-диметилгидразина для человека // Экологическая химия.- 1998.- № 7 (1).- С. 42-47.

Надеев А. Д., Зинченко В. П., Авдонин П. В., Гончаров Н. В. Токсические и сигнальные свойства активных форм кислорода // Токсикол. вестн.- 2014.- № 2.- С. 22-27.

Наследственно обусловленные патологические реакции на действие внешних факторов [Электронный ресурс] www.vuzlib.org.

Недостаточность Г-6-ФД (Г6ФД; G6PD) в эритроцитах:.. [Электронный ресурс]. humbio.ru/humbio/har/003cde8d.htm.

Нижегородова Д. Б., Зафранская М. М. $\gamma\delta$ T-лимфоциты: общая характеристика, субпопуляционный состав, биологическая роль и функциональные особенности // Медицинская иммунология.- 2009.- №№ 2-3.- С. 115-130.

Никишина М. В. Исследование полиморфизма генов ариламинов N-ацетилтрансфераз и ассоциации полиморфных вариантов с раком легкого у европеоидов г. Новосибирска: Автореф. дисс...к.б.н.- Новосибирск, 2007.

Нутригенетика | Лаборатория БиоЛинк [Электронный ресурс]. biolinklab.ru/nutrigenetika/

Нутриенты [Электронный ресурс]. [vmeste-so-vsemi.ru>wiki/images/2/2a/](http://vmeste-so-vsemi.ru/wiki/images/2/2a/)
Нутриенты.

Обзор по иммунологии репродукции [Электронный ресурс]. kemmed.ru>Статьи>detail.php.

Общая токсикология / Под ред. Б. А. Курляндского, В. А. Филова.- М.: Медицина, 2002.- 608 с.

Окислительный (оксидантный) стресс (кислородный, взрыв) [Электронный ресурс]. humbio.ru/humbio/apopt_amo/0000e40c.htm

Онкология: Учебник для вузов / Вельшер Л. З., Матякин Е. Г., Дудицкая Т. К., Поляков Б. И.- 2009.- 512 с.

Определение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) [Электронный ресурс]. www.ld.ru/PCR/ilist-4316.html

О применении витаминов в сочетании с лекарственными средствами.

[Электронный ресурс]. vittaminy.ru>

Оспельникова Т. П. Выявление и коррекция интерферонодефицитов // Интерферон - 2011: Сб. научн. статей.- М., 2012.- 107-129.

Оспельникова Т. П., Миронова Т. В., Полосков В. В. и др. Влияние индукторов интерферона на цитокиновый профиль // Цитокины и воспаление.- 2014.-Т. 13, № 1.- С. 37-40.

О токсичности гептила / Под. ред. Л. С. Ягуджинского.- Черногловка: РИО ИПХФ РАН.- 2014.- 128 с.

От топологии ДНК к лечению онкологических болезней [Электронный ресурс]. <https://scientificrussia.ru/articles/prezidium-ran-22-12-2015>.

Пальмина Н. П. Механизм действия сверхмалых доз // Химия и жизнь.- 2009.- № 2 - С. 12-15.

Пальцев М. А., Сучков С. В. «Функциональность» антител: значение для клинической практики // Терапевтический архив.- 2008.- № 8.- С. 68-75.

Пардо Пералес Г. Д., Войтович А. Н., Богданова М. А. и др. Полиморфизм L55M и Q192R в гене параоксоназы 1 у больных ишемической болезнью сердца разного пола и возраста // Артериальная гипертензия.- 2009.- № 1.- С. 97-102.

Паткин Е. Л., Софронов Г. А. Эпигенетика популяций, экотоксикогенетика и болезни человека // Экологическая генетика.- 2012.- Т. 10, № 4.- С. 14-28.

Патология: Учебник в 2-х томах / под ред. М. А. Пальцева, В. С. Паукова.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010 - 1024 с.

Патологическая физиология: Конспект лекций. / Селезнева Т. Д., Барсуков В. Ю.- М. Эксмо, 2009.- 160 с.

Патрушев М. В., Каменский П. А., Мазунин И. О. Мутации митохондриальной ДНК и методы их коррекции // Биохимия.- 2014.- Т. 79, вып. 11.- С. 1417-1428.

Петленко С. В., Богданова Е. Г. Структурно-функциональное состояние клеточного иммунитета у персонала объектов хранения химического оружия // Токсикология, гигиена, профпатология при работе с опасными химическими веществами. Информационный сборник № 5 / Под ред. Горшковой Р. Б., Криницына Н. В.- СПб., 2010.- С. 62-78.

Пилат Т. Л., Кузьмина Л. П., Измерова Н. И. Детоксикационное питание / Под ред. Т. Л. Пилат.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.- 683 с.

Пичугина Л. В. Изменение фенотипа лимфоцитов при неиммунодефицитных

патологиях // Лабораторная медицина.- 2008.- № 9.- С. 39-44.

Плотникова О. М. Лунева С. Н., Корепин А. М. и др. Биологическая активность алкилфосфонатов: влияние метилфосфоновой кислоты на гомеостаз, методы исследования // Курган: Курганский гос. ун-т., 2011.- 120 с.

Плотникова С. Д., Недоборский К. В. Определение принадлежности к группе риска на этапе отбора лиц для работы с фосфорорганическими отравляющими веществами // Medline.ru. - Т. 11, 2011.- С. 449-457.

Подколзин А. А., Мегреладзе А. Г., Донцов В. И. и др. Система антиоксидантной защиты организма и старение // Профилактика старения.- 2000.- Вып. 3.- С. 23-27.

Полетаев А. Б., Морозов С. Г., Ковалев И. Е. Регуляторная метасистема - иммунонейроэндокринная регуляция гомеостаза.- М.: Медицина, 2002.- 344 с.

Полиморфизм генов: общие сведения - Биология человека [Электронный ресурс]. humbio.ru/humbio/canc-horm/00054606.htm.

Полиморфизмы генов системы детоксикации организма ... [Электронный ресурс]. www.punny.ru/hlp_genes_8.htm.H

Полоников А. В. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и их комплексное влияние на предрасположенность к мультифакториальным заболеваниям: Автореф...д.м.н.- М., 2006.- 48 с.

Полунина Т. Е., Маев И. В. Синдром перегрузки железом: современное состояние проблемы // Фарматека.- 2008.- № 13.- С. 54--61.

Полякова И. С., Чурносоев М. И. Пахомов С. П., Орлова В. С. Молекулярные и генетические механизмы биотрансформации ксенобиотиков // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация.- 2011.- Вып. 16 (111), т. 15.- С. 298-303.

Полянская Е. М. Определение противотуберкулезных препаратов методом ВЭЖХ для оценки их фармакокинетики и анализ ее соответствия генетическим предикторам у больных туберкулезом легкого: Автореф...к.х.н.- 2006.- 24 с.

Пособие по токсикологии, гигиене, химии, индикации, клинике, диагностике острых и хронических интоксикаций и профилактике профессиональных заболеваний при работе с несимметричным диметилгидразином / Под ред. М.Ф. Киселева, В. Р. Рембовского, В. В. Романова.- СПб., 2009.- 252 с.

Приказ Минздравсоцразвития РФ от 16 февраля 2009 г. N 46н г. Москва «Об утверждении перечня производств, профессий и должностей, работа в

которых дает право на бесплатное получение лечебно-профилактического питания в связи с особо вредными условиями труда, рационов лечебно-профилактического питания, норм бесплатной выдачи витаминных препаратов и Правил бесплатной выдачи лечебно-профилактического питания».

Проданчук Н. Г., Кокшарева Н. В. Достижения в области изучения механизмов действия и прогнозирования отдаленных нейропатий, вызванных фосфорорганическими соединениями // *Соврем. пробл. токсикол.*- 2001.- № 3.- С. 3-8.

Прозоровский В. Кровеносные сосуды и рак // *Наука и жизнь.* - 2006.- № 9.- С. 9-14.

Прозоровский В. Б., Козяков В.П, Федонюк В.П, Тяптин А. А. Повышение устойчивости персонала объектов по уничтожению химического оружия к воздействию ФОВ // *Medline.ru.*- 2004.- Т. 5.- С. 98.

Профессиональная патология / Под ред. Н. Ф. Измерова.- М.: 2011.- 777 с.

Пузырев В. П., Фрейдин М. Б., Рудко А. А., Стрелис А. К., Колоколова О. В. Анализ взаимосвязи полиморфных маркеров генов NRAMP1 и IL12p40 и туберкулеза // *Медицинская генетика.*- 2002.- Т. 1, № 1.- С. 44-46.

Пузырев В. П., Степанов В. А. Патологическая анатомия генома // Новосибирск: Наука.- 1997.- 224 с.

Пушкин А. С., Дворецкая С. И., Малочкина Е. И. и др. Иммуноморфологические аспекты изучения отставленной нейротоксичности, вызываемой фосфорорганическими соединениями // *Химическая и биологическая безопасность.*- 2003.- № 7-8.- С. 10-19.

Пять способов укрощения опасного гомоцистеина - Питание для ... [Электронный ресурс] umopitanie.ru/.. /pyat-sposobov-ukroscheniya-opasnogo-gomotsisteina.html

Райс Р. Х., Гуляева Л. Ф. Биологические эффекты токсических соединений: курс лекций.- Новосибирск: изд-во Новосибирский ГУ, 2003.- 208 с.

Регуляторные лимфоциты. Типы регуляторных лимфоцитов [Электронный ресурс]. dommedika.com/physiology/798.html

Рембовский В. Р., Могиленкова Л. А. Генетико-биохимические показатели естественной детоксикации в оценке риска воздействия фосфорорганических отравляющих веществ // *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях.*- 2016. - № 2.- С. 93-103.

Рембовский В. Р., Могиленкова Л. А. Естественные процессы детоксикации

химических веществ, загрязнителей среды обитания человека // Биомедицинский журнал Medline.ru.- 2015.- № 16.- С. 216-239.

Рембовский В. Р., Могиленкова Л. А. Классификация состояния здоровья работающих при воздействии химического фактора // Мед. труда и пром. эколог.- 2006.- № 11.- С. 25-32.

Рембовский В. Р., Могиленкова Л. А. Современные тенденции оценки влияния химического фактора на здоровье персонала химически опасных объектов в рамках последних достижений здравоохранения / Под ред. В. Р. Рембовского // Медико-биологические аспекты химической безопасности: Сборн. матер. Всеросс. научно-практ. конф., посв. 55-летию ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 17 февраля 2017 г., г. Санкт-Петербург.- СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2017.- С. 117-121.

Рембовский В. Р., Могиленкова Л. А., Матвеева К. В. Оценка риска влияния химического фактора на здоровье населения // Экология и развитие общества, Материалы XIV международной конференции 8-13 июля 2012 г. / Под ред. Л. К. Горшкова.- СПб. МАНЭБ, 2012.- С. 73-81.

Рембовский В. Р., Могиленкова Л. А., Олейникова Е. В. Анализ риска в системе мониторинга воздействия химического фактора.- СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2014.- 304 с.

Рембовский В. Р., Могиленкова Л. А., Туржова Е. Б. Проблема низких и сверх малых доз в экотоксикологии // Второй международный Петербургский экологический форум (ЭКОФОРУМ-2008). - Вестн. РВМА. Приложение 2. Часть I.- 2008.- № 3 (23).- С. 172-173.

Рембовский В. Р., Радиков А. С., Нагорный С. В. и др. Медико-гигиеническое обеспечение объектов по уничтожению химического оружия на современном этапе // Токсикол. вестн.- 2010.- № 3.- С. 26-30.

Роль генетических факторов в развитии СПКЯ [Электронный ресурс]. cironline.ru>articles/169/92520/

Рудакова Е. В. О-фосфорилированные этилтрифторлактаты и гексафторизопропанола как ингибиторы сериновых эстераз *in vitro* и *in vivo*: Автореф. дисс...к.х.н.- Черноголовка.- 2014.- 24 с.

Рудик А. В. Компьютерный прогноз биотрансформации ксенобиотиков: Автореф. дисс...к.б.н.- М., 2007.- 20 с.

Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы руководство для врачей Руководство по клинической

иммунологии: диагностика заболеваний / Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Ярилин А. А.- М.: ГЭОТАР-медиа, 02009.- 352 с.

Руководство по токсикологии боевых отравляющих веществ / Под ред. С. Н. Голикова.- М.: Медицина, 1972.- 471 с.

Салмина А. Б., Моргун А. В., Кувачева Н. В. и др. Эндотелиальные прогениторные клетки в развитии и восстановлении церебрального эндотелия // Современные технологии в медицине.- 2014 - Т. 6, № 4.- С. 213-222.

Саловарова В. П., Приставка А. А., Берсенева О. А. Введение в биохимическую экологию: Учебное пособие. - Иркутск: Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2007.- 159 с.

Санитарно-эпидемиологическое обеспечение химической безопасности производственной и окружающей среды». Руководство / Под ред. М. Ф. Киселева, В. Р. Рембовского, В. В. Романова // М.: ООО «Комментарий», 2012.- 476 с.

Светлов П. Г., Корсакова Г. Ф. Критические периоды в эмбриогенезе мутации forked у *Drosophila melanogaster* и их морфологическая характеристика // Цитология и генетика.- 1970.- Т. 12, № 5.- С. 642-650.

Сидорин Г. И. Метаболические нарушения как показатель вредного действия промышленных ядов в проблеме профилактической токсикологии: Автореф. дисс...д.м.н.- СПб., 1994.- 39 с.

Сидорин Г. И. К вопросу о биохимической адаптации при экстремальном и хроническом действии промышленных ядов // Современные проблемы профилактической токсикологии / Под ред. Г. И. Сидорина.- М.: изд-во МНИИГ им. Ф. Ф. Эрисмана, 1991.- С. 3-25.

Сидорин Г. И., Луковникова Л. В., Фролова А. Д. Адаптация как основа защиты организма от вредного действия химических веществ // Рос. хим. журн.- 2004.- Т. 48, № 2.- С. 44-50.

Силков А. Н., Сенникова Н. С., Горева Е. П. и др. Продукция TNF- α и ИЛ1- β мононуклеарными клетками периферической крови у носителей разных аллельных вариантов генов. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2012.- Т. 153.- № 1.- С. 78-81.

Системы генетических и эпигенетических маркеров в диагностике онкологических заболеваний / Под ред. М. А. Пальцева и Д. В. Залетаева.- М: Медицина, 2009.- 384 с.

Система кровообращения и артериальная гипертензия: биофизические и

генетико-физиологические механизмы, математическое и компьютерное моделирование / Под. ред. Л. И. Иванова, А. М. Блохина, А. Л. Маркель.- Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2008.- 252 с.

Смирнова О. В., Выхристенко Л. Р. Роль клеток системы иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы // Медицинские новости.- 2011.- № 5.- С. 18-19.

Соколовская Л. Г., Сиголаева Л. В., Еременко А. В. и др. Семейство биосенсорных анализаторов для оценки «эстеразного статуса» организма // Химическая и биологическая безопасность.- 2004.- № 1-2 (13-14).- С. 21-31.

Солодилова М. А. Вовлеченность полиморфизма генов ферментов антиоксидантной системы в формирование предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям человека: Автореф...дисс. д.б.н.- М., 2009.- 49 с.

Сорокина Д. А. Молекулярные основы происхождения сывороточного альбумина (обзор) // Вопросы медицинской химии. 1990. Т. 36, вып. 2. С. 2-5.

Спицын В. А., Макаров С. В., Пай Г. В., Бычкова Л. С. Полиморфизм в генах человека, ассоциирующихся с биотрансформацией ксенобиотиков // Вестник ВОГиС.- 2006.- Т. 10, № 1.- С. 97-105.

Степанов В. А. Генетическое разнообразие популяции человека и проблемы эволюционной медицины // Генетика человека и патология. Проблемы эволюционной медицины: Сб. научных трудов.- Томск: из-во «Патентная мануфакта», 2014.- С. 7-17.

Степанов Ю. М. Физиология в тестах: Учебное пособие для студентов вузов.- Красноярск: Красноярский ГАУ, 2008.- 540 с.

Стратегия развития здравоохранения Российской Федерации на долгосрочный период 2015-2030 гг.- М., 2014.- 28 с.

Сулейманов К. Г., Бухарин О. В. Свойства и функции тромбоцитарного катионного белка // Успехи современной биологии.- 1998.- N2.- С. 194-204.

Танюхина О. Н., Могиленкова Л. А., Рембовский В. Р. Токсиколого-гигиеническая характеристика 1,2-динитратэтиленгликоля (ДНЭГ) при энтеральном воздействии // Токсикология, гигиена, профпатология при работе с опасными химическими веществами. Информационный сборник № 1.-2007. - С. 16-44.

Тарасенко С. В., Натальский А. А., Никаноров А. А. и др. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков, TNF-а и ИЛ4 у больных механической желтухой // Цитокины и воспаление.- 2014.- Т. 23, № 1.- С. 51-56.

Тиунов Л. А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты // Вестник РАМН.- 1995.- № 3.- С. 9-13.

Тихомирова И. А. Физиологические основы здоровья. Краткий курс лекций по валеологии Ярославль: ГОУ ВПО «Ярославский государственный педагогический университет им. К. Д. Ушинского», 2007.

Ткачев В. О., Меньшикова Е. Б., Зенков Н. К. Механизм работы сигнальной системы Nrf2/Keap1/ARE (обзор) // Биохимия.- 2011.-Т. 76, № 4.- С. 502-519.

Ткаченко Е. И., Орешко Л. С., Ситкин С. И. Гастроэнтерология XXI века с позиций многомерной биологии // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.- 2012.- № 2-3.- С. 2-4.

Токсикокинетика ксенобиотиков ... [Электронный ресурс]. www.ecololife.ru/study-463-1.html.

Топтыгина А. П. Семикина Е. Л., Копыльцова Е. А., Алешкин В. А. Возрастная динамика экспрессии изоформ CD45-T-хелперами и T-цитотоксическими лимфоцитами крови здоровых людей // Иммунология.- 2014.- № 4.-С. 229-232.

TPMT (тиопурин S-метилтрансфераза) || ПИННИ... [Электронный ресурс]. punny.ru/information/165.html.

Тупицына Т. В., Бондаренко Е. А., Сломинский П. А. Ассоциация полиморфизмов rs10912745 и rs4916375, расположенных в кластере генов флавиносодержащих монооксигеназ, с развитием ишемического кардиоэмболического инсульта // Генетика.- 2012.- Т. 48, № 5.- С. 672-675.

Туржова Е. Б., Кузнецов А. В., Сочава Е. А. и др. Методология идентификации воздействия отравляющих веществ (ОВ) и продуктов их деструкции с применением метода лазерной корреляционной спектроскопии // Токсикология, гигиена, профпатология при работе с опасными химическими веществами. Информационный сборник № 2 / Под ред. М. Ф. Киселева, А. С. Радилова - СПб., 2008.- 260 с.

Тутельян В. А. Самсонов М. А., Каганов Б. С. и др. Картотека блюд диетического (лечебного и профилактического) питания оптимизированного состава. Практическое руководство - М., 2008.- 448 с.

Уйба В. В. Концептуальные подходы к развитию системы антидотного обеспечения Российской Федерации / Под. ред. В. В. Уйба, В. Б. Назарова, В. Д. Гладких.- М.: Изд-во «Комментарий», 2013.- 300 с.

Уйба В. В. Современные технологии охраны здоровья при воздействии

особо опасных факторов. Персонифицированный подход // Научные основы эффективности и безопасности лекарственных средств / Под ред. М. А. Пальцева, Н. Н. Белушкиной.- М.: РАН, 2015.- С. 30-44.

Фаворова О. О., Кулакова О. Г., Бойко А. Н. и др. Геномная медицина: пути поиска «потерянной» наследуемости полигенных заболеваний. // V Съезд физиологов СНГ. V Съезд биохимиков России. Конференция Adeflim: Научные труды.- Acta natura. Спецвыпуск - 2016.- Т.2.- С. 110-111.

Фегервари З., Сакагучи Ш. // В мире науки.- № 12.- 2006. Стражи иммунной системы - Элементы [Электронный ресурс]. elementy.ru/lib/430394?page_design=print

Фермент раскола цепи стороны холестерина [Электронный ресурс]. ru.knowledgr.com>02952982.

Фефилова И. Б. Антивозрастная медицина. Современная энциклопедия.- М.: ООО «Издательство Эксмо», 2015.- 382 с.

Физиология и патология гистогематических барьеров / Под ред. Л. С. Штерн.- М., 1968.- 431 с.

Хавкин А. И., Жихарева Н. С., Дроздовская Н. В. Медикаментозная терапия язвенной болезни у детей // Лечащий врач.- 2006.- № 1.- с. 26-30.

Хаитов Р. М., Алексеев Л. П. Система генов HLA и регуляция иммунного ответа // Новости науки и техники. Серия Медицина аллергия, астма и клиническая иммунология № 8: Первый всероссийский симпозиум «Физиология иммунной системы» 15-16 июня 2000 года, г. Москва.- М., 2000.- С. 5-14.

Хоменко А. Г., Литвинов В. И., Чуканова В. П. и др. Антигены комплекса HLA у больных туберкулезом и здоровых лиц в различных популяциях // Иммунология.- 1985.- № 1.- С. 22-24.

Храпова М. В., Душкин М. И. Стресс-зависимые механизмы развития метаболического синдрома: роль рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом // Атеросклероз. - 2011, Т. 7, № 2. - С. 23-43.

Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев.- СПб.: Фолиант, 2008.- 552 с.

Цитохром P450 (изоферменты CYP2C19 и CYP3A4) [Электронный ресурс]. www.gastroscan.ru/handbook/117/3504.

Черняк Ю. И. Состояние процессов биотрансформации ксенобиотиков при воздействии различных классов полициклических соединений: Автореф. дисс... д.б.н.- Иркутск, 2005.

Шангареева З. А., Викторова Т. В., Насыров Х. М. и др. Анализ полимор-

физма генов, участвующих в метаболизме этанола, у лиц с алкогольной болезнью печени // Медицинская генетика.- 2003.- Т. 2., № 11.- С. 485-490.

Шангин-Березовский Г.Н., Перчихин Ю. А., Колбасин А. А. Влияние малых доз N-нитрозо-N-диметилмочевины на толерантность перепелов к токсичному действию некоторых мутагенов // Эффективность химических мутагенов в селекции: Сб. ин-та хим. физики АН СССР.- М., 1980.- С. 283-286.

Шевченко А. В., Голованова О. В., Коненков В. И. и др. Анализ полиморфизма трех позиций промоторного региона гена TNF- α у пациентов с ишемической болезнью сердца, нестабильной стенокардией и инфарктом миокарда // Кардиология.- Т. 50, № 2.- 2010.- С. 9-13.

Шевченко О. В. Бычков Е. Н., Свистунов А. А. и др. Влияние полиморфизмов гена NAT2 на метаболизм холестерина у больных артериальной гипертензией // Фундаментальные исследования.- 2012.- № 7 (часть 1).- С. 219-223.

Шерлин Смит М. Д., Энн Мелвин, М.Д., М.Р.Н. Развитие и нормальная физиология иммунной системы [Электронный ресурс]. www.volgmed.ru/. /6958-razvitiie_i_normalnaya_

Шестеренко Е. А., Романовская И. И., Севастьянов О. В., Андронати С. А. Карбоксилэстеразы в энантиоселективном синтезе органических соединений // Biotechnologia Acta^- 2013.- Т. 6, № 1.- С. 9-21.

Щербо Сергей Николаевич. Лабораторные основы персонализированной медицины [Электронный ресурс]. ramld.ru>userfiles/file/Irkutsk2012/Sherbolrk.pdf.

Щербо С. Н., Щербо Д. С. Лабораторная медицина как основа персонализированной медицины. Применение биочипов в медицине. Клиническая лабораторная диагностика.- 2014.- № 5.- С. 1-11.

Экстремальная токсикология: Учебник / Под ред. Г. А. Софронова, М. В. Александрова.- СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2012.- 256 с.

Экстренная медицинская помощь при отравлениях / Хоффман Р., Нельсон Л., Хауланд М. -Э. и др. Перевод с англ.; / Под ред. К. В. Котенко // М.: Практика, 2010.- 1440 с.

Эндокринная регуляция. Биохимические и физиологические аспекты: Учебное пособие / Под ред. В. А. Ткачука.- 2009.- 368 с.

Эпигенетика. Александр Вайсерман [Электронный ресурс]. (Alexander Vaiserman).moikompa.ru>Alexander Vaiserman

Эпштейн О. И. Возможные механизмы действия потенцированных ле-

карственных средств и некоторые вопросы функционирования биосистем // Бюлл. СО РАМН.- 1999в.- № 1.- С. 132-149.

Эпштейн О. И. Сверхмалые дозы (история одного исследования) // М.: Издательство РАМН, 2008.- 336 с.

Эффекты возраста, пола и других факторов base.safework.ru>Энциклопедия по от [Электронный ресурс]. ...&nd=857000901&nh=1&nh=1...

Ямсков И. А., Ямскова В. П., Даниленко А. Н. и др. Экспериментальные доказательства роли физико-химических факторов в механизме биологического действия сверхмалых доз // Российский химический журнал (ЖРХО им. Д. И. Менделеева) 1999.- Т. 43, № 5.- С. 34-39.

Ямскова В. П., Ямсков И. А. Механизм биологического действия физико-химических факторов в сверхмалых дозах // Рос. хим. ж.- 1999.- Т. 43, № 2.- С. 74-79.

Янно Л. В., Прохоренко О. А., Холодова Е. Д., Татарина О. М. Оценка состояния иммунной системы у лиц, работающих на объекте по уничтожению химического оружия «Марадыковский» // Токсикология, гигиена, профпатология при работе с опасными химическими веществами. Информационный сборник № 4 / Под ред. Радилова А. С., Филиппова В. Л.- СПб., 2010.- С. 46-53.

Янно Л. В., Федорченко А. Н., Конева Т. А. Итоги многолетних исследований профессиональной патологии в условиях получения фосфорорганических отравляющих веществ // Медико-гигиенические аспекты обеспечения работ с особо опасными химическими веществами: Труды научно-практ. конф., посв. 40-летию НИИГПЭЧ.- С.Пб., 2002.- С. 392-398.

Ярилин А. А. Основы иммунологии.- М: Медицина.-1999.- 608 с.

Ярилин А. А., Донецкова А. Д. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор FOXP3 // Иммунология.- 2006.- № 3.- С. 176-188.

Agrawal B. Krantz M. J., Parker J., Longenecker B. M. Expression of MUC1 mucin on activated human T cells: implications for a role of MUC1 in normal immune regulation // Cancer. Res.- 1998.- V. 58.- P. 4079-4081.

Aksu K., Turgan N., Oksel F. et al. Hyperhomocysteinaemia in Behcet's disease. // Rheumatology (Oxford).- 2001.- V. 40, N6.- P. 687-690.

Allen K. J., Gurrin L. C., Costantine C. C. et al. Iron-overload-related disease in HFE hereditary hemochromatosis // N. Engl. J. Med.- 2008.- V. 358 (3).- P. 221-230.

Ambros V., Chen X. The regulation of genes and genomes by small RNAs // *Development* 2007.- V. 134.- P. 1635-1641.

Antonella F., Lupi A., Cornaglia P. et al. Mutation analysis of five new patients affected by prolidase deficiency: The lack of enzyme activity causes necrosis-like cell death in cultured fibroblasts // *Hum. Genet.*- 2002.- Vol. 111, N4-5.- P 314-322.

Anttila S., Luostarinen L., Hirvonen A. et al. Pulmonary expression of glutathione S-transferase M3 in lung cancer patients: association with GSTM1 polymorphism, smoking, and asbestos exposure // *Cancer Res.*- 1995.- V. 55.- P. 3305-3309.

Arndt R., Lehrbuch D. *Psychiatrie.*- Wien- Lpz, 1883.

Auguste P., Lemire S., Larrieu-Lahargue F. et al. Molecular mechanism of tumor vascularization // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*- 2005.- V. 54(1).- P. 53-61.

Avksentyuk A. V., Kurilovich S. A., Duffy L. K. et al. Alcohol consumption and flushing response in natives of Chukotka, Siberia // *J. Stud. Alcohol.*- 1995.- V. 56, N 2.- P. 194-201.

Baranov V. S. *Genome Paths: A Way to Personalized and Predictive Medicine* // *Acta Naturae.*- 2009.- V. 1 (3).- P. 70-80.

Bayes-Genis A., Conover C. A., Overgaard M. T. et al. Pregnancy-associated Plasma Protein A as a Marker of Acute Coronary Syndromes // *N. Engl. J. Med.*- 2001.- V. 345.- P. 1022-1029.

Beissert S., Schwarz A., Schwarz T. Regulatory T cells // *J. Invest. Dermatol.*- 2006.- V. 126.- P. 15-24.

Benveniste J., Dayenas E., Beauvais F. et al. Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE // *Nature.*- 1988.- V. 333.-P. 816-818.

Bergman-Jungstrom M., Wingren S. Gatachol-O-methyltransferase (COMT) gene polymorphism and breast cancer risk in young women // *Br. J. Cancer.*- 2001.- V. 85.- N 6.- P. 859-862.

Beyer W., Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions // *Anal. Biochem.*- 1987.- V. 161.- P. 559-566.

Blatter Garin M. C., James R. W., Dussoix P. et al. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes.// *J. Clin. Invest.*- 1997.- V. 99, N 1.- P. 62-66.

Bolt H. M. Metabolic activation of vinyl chloride, formation of nucleic acids adducts and relevance to carcinogenesis // *IARC Sci. Publ.*- 1986.- V. 70.- P. 266-

268.

Born W. K., Jin N., Aydintung M. K. et al. $\gamma\delta$ T Lymphocytes - selectable cells within the innate system? // J. of Clin. Immunol.- 2007.- V. 27(2).- P. 133-144.

Bornman L., Campbell S. J., Fielding K. et al. Vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in West Africa: a case-control and family study // J. Infect. Dis.- 2004.- V. 190, N9.- P. 1631-1641.

Braeckman R. A., Audenaert F., Willems J. L. et al. Toxicokinetics of methyl parathion and parathion in the dog after intravenous and oral administration // Arch. Toxicol.- 1983.- Sep. 54(1).- P. 71-82.

Brattstrom L., Wilcken DE. Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? // Am. J. Clin. Nutr.- 2000.- V. 72, N2.- P. 315-323.

Brewer G. J. Annotation: human ecology, an expanding role for the human geneticist. Am. J. Hum. Genet.- 1971.- V. 23.- P. 92-94.

Brophy V. H., Jampsa R. L., Clendenning J. B. et al. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression // Am. J. Hum. Genet.-2001.- V. 68.- N6.- P. 1428-1436.

Brosnan JT., da Silva R., Brosnan ME. Amino acids and the regulation of methyl balance in humans. // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.- 2007.- V. 10, N1.- P. 52-57.

Burchell R., Weatheril P. 4-nitrophenol UDP-glucuronosyltransferase // Meth. Enzymol.- 1981.- V. 77.- P. 169-177.

Burger H., Loos W. J., Eechoute K., et al. Drug transporters of platinum-based anticancer agents and their clinical significance // Drug Resist Updat.- 2011.- V. 14(1).- P. 22-34.

Campbell R. D., Trowsdale J., Raquoussis J. Map of the human major histocompatibility complex // Immunol Today.- 1993.- V. 14.- P. 349-352.

Carbone E., Terrazzano G., Colonna M. et al. Natural killer clones recognize specific soluble HLA class I molecules // Eur. J. Immunol.-1996.- V. 26, N3.- P. 683-689.

Carding S., Egan P. $\gamma\delta$ T cells: functional plasticity and heterogeneity // Nature Reviews.- 2002.- V. 2.- P. 336-345.

Cascorbi I., Gerloff T., Johne A. et al. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects // Cl. Pharmacol. and Ther.- 2001.- V. 69.- P. 169-174.

Cashman J. R., Lattard V., Lin J. Effect of total parenteral nutrition and choline on

hepatic flavin-containing and cytochrome P-450 monooxygenase activity in rats // John R. Cashman, Virginie Lattard, Jing Lin // *Drug Metab. and Dispos.*- 2004.- V. 32, N 2.- P. 222-229.

Catalano A., Caprari P., Moretti S. et al. Semaphorin-3A is expressed by tumor cells and alters T-cell signal transduction and function // *Blood.* - 2006.- V. 107, N 8.- P. 3321-3329.

Chen E. Y., Cheng A., Lee A., Kuang W-J., Hillier L., Green P., Schlessinger D., Ciccodicola A., D'Urso M. Sequence of human glucose 6-phosphate dehydrogenase cloned in plasmids and a yeast artificial chromosome // *Genomics.*- 1991.- V. 10.- P. 792-800.

Chen H., He Z., Bagri A., Tessier-Lavigne M. Semaphorin-neuropilin interactions underlying sympathetic axon responses to class 3 semaphorins // *Neuron.*- 1998.- V. 21.- P. 1283-1290.

Chen K. G., Sikic B. I. Molecular pathways: regulation and therapeutic implications of multidrug resistance // *Clin. Cancer Res.*- 2012.- V. 18(7).- P. 1863-1869.

Chen S-H., Chen, Y-H. Pharmacokinetic applications of capillary electrophoresis // *Electrophoresis.*- 1999.- V. 20.- P. 3259-3268.

Chen Z., Lin F., Gao Y. et al. FoxP3 and ROR γ t: transcriptional regulation of Treg and Th 17 // *International Immunopharmacology.*- 2011.- V. 11.- P. 536-542.

Chess L., Jiang H. Resurrecting CD8⁺ suppressor T cells // *Nat. Immunol.*- 2004.- N 5.- P. 469-471.

Ciarimboli G., Deuster D., Knief A. et al. Organic cation transporter 2 mediates cisplatin-induced oto- and nephrotoxicity and is a target for protective interventions // *American J. of Pathol.*- 2010.- V. 176, N3.- P. 1169-1180.

Corbo R. M., Scacchi R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE*4 a «thrifty» allele? // *Ann. Hum. Genet.*- 1999.- V. 63.- P. 301-310.

Crump C., Chen C., Appelbaum F. R. et al. Glutathione S-transferase theta 1 gene deletion and risk of acute myeloid leukemia // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.*- 2000.- V. 9.- P. 457-460.

Damodaran T. V., Greenfield S. T., Patel A. G. et al. Toxicogenomic studies of the rat brain at an early time point following acute sarin exposure // *Neurochem. Res.*- 2006.- V. 31.- N3.- P. 367-381.

Daniel W. Nebert, Ross A. McKinnon. Генетические детерминанты токсической ответной реакции / Nebert D.W., Mckinnon R.A. [Электронный ресурс].

base.safework.ru/iloenc?print&nd=857400325.

Davenas E., Poitevin B., Benveniste J. Effect on mouse peritoneal macrophages of orally administered very high dilutions of silica // *European journal of Pharmacology.*- 1987.-V. 135.- P. 313-319.

Dayton W., Israili P., Pruitt Z. A. Spectrophotofluorimetric assay for isoniazid and acetylisoniazid in plasma adapted to paediatric studies // *Clin Chem.*- 1977.- V. 23/24.- P. 745-748.

DeFranco A.L., Locksley R. M., Robertson M. Immunity. The immune response in infections and inflammatory disease.- London, 2007.- P. 208-217.

Drews J., Ryser S. The role of innovation in drug development // *Nature Biotechnology.*- 1997.- V. 15.- P. 1318-1319.

Eidu L., Harnanansingh A. A more sensitive spectrophotometric method for determination of isoniazid in serum or plasma // *Clin. Chem.*- 1971.- V. 17,- N 6.- P. 492-494.

Evans D. A.P. N-acetyltransferase // *Pharm. Therap.*- 1989.- N42.- P. 157-234.

Gaydos L. J., Wang W., Strome S. H3K27me and PRC2 transmit a memory of repression across generations and during development // *Science.*- 2014.- V. 345 (6203) - P. 1515-1518.

Gomes A. P., Price N. L., Ling A. J. et al. Declining NAD(+) induces a pseudohypoxic state disrupting nuclear-mitochondrial communication during aging. (англ.) // *Cell.*- 2013.- V. 155, N 7.- P. 1624-1638.

Habig W. H., Pabst M. J., Jacoby W. B. Glutathione-S-transferases. The first enzymes step mercapturic acid formation // *J. Biol. Chem.*,- 1974.- V. 249.- Issue 22.- P. 7130-7139.

Hale V. G., Woo K., Lipton H. L. Oxymoron no more: the potential of nonprofit drug companies to deliver on the promise of medicines for the developing world // *Health Affairs.*- 2005.- V. 24.- P. 1057-1063.

Handy D. E., Zhang Y., Loscalzo J. Homocysteine downregulates cellular glutathione peroxidase (GPx1) by decreasing translation // *J. Biol. Chem.*- 2005.- V. 280, N 16.- P. 15518-15525.

Hawiger D., Wan Y. Y., Eynon E. E., Flavell R. A. Homeodomain only protein is required for the function of induced regulatory T-cells in dendritic cell-mediated peripheral T cell unresponsiveness // *Nat. Immunol.*- 2010.- V. 11, N10.- P. 962-968.

Hebbring S. J., Moyer A. M. and Weinshiboum R. M. Sulfotransferase gene copy

number variation: pharmacogenetics and function // *Cytogenet. Genome Res.* 2009.- V. 123 (1-4).- P. 205-210.

Hettenbach N. Einfluss chronischer elektromagnetischer Befeldung mit Mobilfunkstrahlen (GSM und UMTS) auf die Integritat der Blut-Hirn-Schranke von Ratten // Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universitat Munchen.- 2008.

Hinson J. A., Forkert P. G. Phase II enzymes and bioactivation. // *Can. J. Physiol. Pharmacol.*- 1995.- V. 73 (10).- P. 1407-1413.

Hoekstra M. et al. Intermittent rises in plasma homocysteine in patients with rheumatoid arthritis treated with higher dose methotrexate. // *Ann. Rheum. Dis.*- 2005. V. 64, N 1.- P. 141-143.

Holgate S. T., Cherch M. K., Howarth P. H. et al. Genetic and environmental influences on airway inflammation in asthma // *Int. Arch. Allergy Immunol.*- 1995.- V. 107.- P. 29-33.

Hood L., Friend S. H. Predictive, personalized, preventive, participatory (P4) cancer medicine - // *Nat. Rev. Clin. Oncol.*- 2011.- V. 8.- P. 184-187.

Hori S., Nomura T., Sakaguchi S/ Control of regulation T cell development by the transcription factor Foxp3 // *Science.*- 2003.- V. 299.- P. 1057-1061.

Houri-Ze'evi L. Korem Y., Sheftel H. et al. A Tunable Mechanism Determines the Duration of the Transgenerational Small RNA Inheritance in *C. elegans* // *Cell.*- 2016. - V. 165, N 1. - P. 88-99.

Hung-Liang T., Eugene Y. K., Charles R. Y. et al. Thiopurine S-Methyltransferase Deficiency: Two Nucleotide Transitions Define the Most Prevalent Mutant Allele Associated with Loss of Catalytic Activity in Caucasians // *Am. J. Hum. Genet.* – 1996.- V. 58.- P. 694-702.

Ibrahim W. H., Bhagavan H. N., Chopra R. K., Chow C. K. Dietary coenzyme Q10 and vitamin E alter the status of these compounds in rat tissues and mitochondria // *J. of Nutrition.*- 2000.- V. 130.- P. 2343-2348.

Ishii T., Matsuse T., Teramoto S et al. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *^orax.*- 1999.- V. 54.- P. 693-696.

Isoniazid. International Programme on Chemical Safety. Poisons Information: Monograph [Electronic resource].

Jaffe E. S., Harris N. L., Stein H., Vardiman J. W. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues // IARC Press: Lyon, 2001.- V. 12.- P. 12-17.

Jain K. K. Personalized Medicine // Decision Resources Inc. Waltham, MA, USA.- 1998.

Jain K. K. Personalized medicine // Current Opinion in Molecular Therapeutics.- Basel: Current Drags.- 2002.- V. 4(6).- P. 548-558.

Janosikova B., Pavlikova M., Kocmanova D. et al. Genetic variants of homocysteine metabolizing enzymes and the risk of coronary artery disease. // Mol. Genet. Metab.- 2003.- V. 79, N3.- P. 167-175.

Jourenkova-Mironova N., Wikman H., Bouchardy C. et al. Role of glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTP1 and GSTT1 genotypes in modulating susceptibility to smoking-related lung cancer // Pharmacogenetics.- 1998.- V. 8.- P. 495-502.

Kalow W. Pharmacogenetics: heredity and the response to drugs. Philadelphia: WB Saunders, 1962.

Kalow W. Pharmacogenetic research: a revolutionary science // J. Psychiatry Neurosci.- 1999.- V. 24(2).- P. 139-140.

Kaufman R. J. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. // J. Clin. Invest.- 2002.- V. 110, N 10.- P. 1389-1398.

Kihara M., Noda K. Lung cancer risk of the GSTM1 null genotype is enhanced in the presence of the GSTP1 mutated genotype in male Japanese smokers // Cancer Lett.- 1999.- V. 137.- P. 53-60.

Kim J. K., Mastronardi FG, Wood DD. et al. Multiple sclerosis: an important role for post-translational modifications of myelin basic protein in pathogenesis. // Mol. Cell. Proteomics.- 2003.- V. 2, N 7.- P. 453-462.

Koop D. R. Hydroxylation of p-nitrophenol by rabbit ethanol-inclucible cytochrome P-450 isozyme //Mol. Pharmacol.- 1986.- V. 29, N 4.- P. 399-404.

Lachovsky J. The secret of life.- 1924.

Lachman H. M., Morrow B., Shprintzen R. et al. Association of codon 108/158 catechol-O-methyltransferase gene polymorphism with the psychiatric manifestations of velo-cardio-facial syndrome // Am. J. Med. Genet.- 1996.- V. 67.- P. 468-472.

Lambert D.M., Hamet P., Gaudet D. et .Variation in the flavin containing monooxygenase 3 (FMO3) gene as a risk factor for essential hypertension // J. Inherit. Metab. Disease.- 2000.- Vol. 23, N 1 - P281.

Lewis D. F.V., Dickins M., Eddershaw P. J. et al. Cytochrome-P450 Substrate Specificities, Substrate structural Templates and Enzyme Active Site Geometries //

Drug Metabol. Drug Interact.- 1999.- V. 15.- P. 1-51.

Lill C. M. Recent advances and future challenges in the genetics of multiple sclerosis // Front. Neurol.- 2014.- V. 5.- P. 130.

Lomas D. A., Silverman E. K. The genetics of chronic obstructive pulmonary disease // Respir. Res.- 2001.- V. 2, N 1.- P. 20-26.

Luu S. U., Wang M. F., Lin D. L. et al. Ethanol and acetaldehyde metabolism in Chinese with different aldehyde dehydrogenase-2 genotypes // Proc. Natl. Sci. Counc. Repub. China B.- 1995.- V. 19, N 3.- P. 129-136.

MacLeod S., Sinha R., Kadlubar F. F. et al. Polymorphisms of CYP1A1 and GSTM1 influence the in vivo function of CYP1A2 // Mutat. Res.- 1997.- V. 376.- P. 135-142.

Mailer R. K.W., Kirsten Falk K., Rotzschke O. Absence of leucine zipper in the natural FOXP3D2D7 isoform does not affect dimerization but abrogates suppressive capacity // PloS ONE.- 2009.- V. 4.- P. 1-17.

Mangoni A. A., Jackson S. H. Homocysteine and cardiovascular disease: current evidence and future prospects. // Am. J. Med.- 2002.- V. 112, N 7.- P. 556-565.

Matsushita I., Hasegawa K., Nakata K. et al. Genetics Variants of Human b-Defensin-1 and Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Biochemical and Biophysical Research Communications.- 2002.- V. 291.- P. 17-22.

Miller D. P., Liu G., De Vivo I. et al. Combinations of the variant genotypes of GSTP1, GSTM1 and p53 are associated with an increased lung cancer risk // Cancer Research.- 2002.- V. 62.- P. 2819-2823.

Munaka M., Kohshi K., Kawamoto T. et al. Genetic polymorphisms of tobacco- and alcohol-related metabolizing enzymes and the risk of hepatocellular carcinoma // Journal of cancer research and clinical oncology.- 2003.- V. 129, N 6.- P. 355-360.

Nacak M. Human arylamine N-acetyltransferase 2 polymorphism and susceptibility to allergic contact dermatitis // Int. J. Dermatol. [Electronic resource] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16533241>.

Nakanishi T, Tamai I. Genetic polymorphisms of OATP transporters and their impact on intestinal absorption and hepatic disposition of drugs // Drug Metab. Pharmacokinet.- 2012.- V. 27.- P. 106-121.

Nelson D. R. The Cytochrome P450 Homepage // Human Genomics.- 2009 - V. 4.- P. 59-65.

Nicola N. Guidebook of cytokines and their receptors // Sambrook and Tooze,

Oxford.- 1994.

Omura T. and Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature // J. Biol. Chem.- 1964.- V. 239.- P. 2370-2378.

Osier M. V., Pakstis A. J., Soodyall H. et al. A global perspective on genetic variation at the ADH genes reveals unusual patterns of linkage disequilibrium and diversity // American Journal Hum. Genet.- 2002.- V. 71,- P. 84-99.

Paley H., Goff B., Gown A. et al. Alteration in SPARS and VEGF immunoreactivity in ovarian cancer // Gynecol. Oncol.- 2000.- V. 7.- P. 336-341.

Pande J. N. Singh SPN, Khilnani G. C. et al. Risk factors for hepatotoxicity from antituberculosis drugs: A case-control study // Thorax.- 1996.- V. 51.- P. 132-136.

Parham P. MHC class I molecules and KIRs' in human history: health and survival // Nat. Rev. Immunology.- 2005.- V. 5.- P. 201-209.

Paul S., Voile D. J., Beach C. M. et al. Catalytic hydrolysis of vasoactive intestinal peptide by human autoantibody // Science.- 1989.- V. 244.- P. 1158-1162.

Petersson J., Zygmunt P. M., Brandt L, Hogestatt E. D. Substance P-induced relaxation and hyperpolarization in human cerebral arteries // Br. J. Pharmacol.- 1995. - V. 115, N 6.- P. 889-894.

Ra J., Jagadeesan V. Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in iron deficiency and effect of carcinogen feeding // Free Radic. Biol. Med.- 1996.- V. 21, N 1.- P. 103-108.

Rajagopalan S., Long E. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease // J. Exp. Med.- 2005.- V. 201.- P. 1025-1029.

Renard C., Vayron P. Y., Taran P., Mioskowski F. Design and synthesis of haptens for antibody catalyzed hydrolysis of organophosphorus nerve agents // Tetrahedron Lett.- 1999.- V. 40, N 2.- P. 281-284.

Renton K. W. Cytochrome P450 regulation and drug biotransformation during inflammation and infection // Curr Drug Metab.- 2004.- V. 5, N 3.- P. 235-243.

Rockwell C. E., Zhang M., Fields P. E., Klaassen C. D. Th2 skewing by activation of Nrf2 in CD4+ T cells // J. Immunol.- 2012.- V. 188.- P. 1630-1637.

Rodriguez R. J., Miranda C. L. Isoform specificity of N-deacetyl ketoconazole by human and rabbit flavin-containing monooxygenases // Drug Metab. and Disposit.- 2000.- V. 28, N 9. - P. 1083-1086.

Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C. M., Hafler D. A. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system // Nat. Rev. Immunol.- 2010.- V. 10.- P. 490-

500.

Salama S. A., Sierra-Torres C.H., Oh H-Y. et al. A multiplex-PCR/RFLP procedure for simultaneous CYP2E1, mEH and GSTM1 genotyping // *Cancer Lett.*- 1999.- V. 143.- P. 51-56.

Sandford A. J., Silverman E. K. Chronic obstructive pulmonary disease. 1: Susceptibility factors for COPD the genotype-environment interaction // *Thorax.*- V. 57, N 8.- P. 736-741.

Serravallo M., Jagdeo J., Glick S. A. et al. Sirtuiny - enzymy dlugowiecznosc? // *Arch Dermatol Res.* 2013.- V. 305.- P. 269-282.

Shevach E. M. Mechanisms of Foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression // *Immunity.*- 2009.- V. 30.- P. 636-645.

Shimizu J., Moriizumy E. CD4+CD25+T-cells in aged mice are hyporesponsive and exhibit suppressive activity // *J. Immunol.*- 2003.- V. 170, N 5.- P. 1675-1682.

Siegel D., Gustafson D.L., Dehn D.L., et al. NADP(H): Quinone oxidoreductase 1: role as a superoxide scavenger. - *Mol. Pharmacol.* – 2004.- V. 5. - P.1238-1247.

Smart J., Daly A. K. Variation in induced CYP1A1 levels: relationship to CYP1A1, Ah receptor and GSTM1 polymorphisms // *Pharmacogenetics.*- 2000.- V. 10.- P. 11-24.

Skoog T., Dicht W., Boquist S. et al. Plasma tumour necrosis factor a and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men. *Eur. Heart. J.*- 2002.- V. 23.- P. 376-383.

Spitx M. R., Duphrone C. M., Detry M. A. et al. Dietary intake of isothiocyanates: evidence of a joint effect with glutathione S-transferase polymorphisms in lung cancer risk // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.*- 2000.- V. 9.- P. 1017-1020.

Spurdle A. B., Chen X., Abbazadegan M. et al. CYP17 promoter polymorphism and ovarian cancer risk // *Int. J. Cancer.*- 2000.- V. 86.- P. 436-439.

Symmans W. F., Katz R. L., Ordonez N. G. et al. Transformation of follicular lymphoma. Expression of p53 and Bcl-2 oncoprotein, apoptosis and cell proliferation // *Acta Cytol.*- 1995.- N 39.- P. 673-682.

Sweet D. H., Bush K. T., Nigam S. K. The organic anion transporter family: from physiology to ontogeny and the clinic. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*- 2001.- V. 281.- P. 197-205.

Tadokoro C. E., Shakhar G., Shen S. et al. Regulatory T cells inhibit stable contacts between CD4+ T cells and dendritic cells in vivo // *J. Exp. Med.*- 2006.- V.

203.- P. 505-551.

Takeda Y., Chou K. B., Takeda J. et al. Molecular cloning, structural characterization and functional expression of the human substance P receptor // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991.- V. 179, N 3.- P. 1232-1240.

Tiihonen J., Hallikainen T., Lachman H. et al. Association between the functional variant of the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and type 1 alcoholism // *Molec. Psychiat.*- 1999.- V. 4,- P. 286-289.

To-Figueras J., Gene M., Gomez-Catalan J. Glutathione-S-transferase M1 and codon 72 p53 polymorphisms in a northwestern Mediterranean population and their relation to lung cancer susceptibility // *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*- V. 5.- P. 337-342.

Vafai S. B., Mootha V. K. Mitochondrial disorders as windows into an ancient organelle // *Nature.*- 2012.- V. 491.- P. 374-383.

Vavricka S. R., Van Montfoort J., Ha H. R. et al. Interactions of rifamycin SV and rifampicin with organic anion uptake systems of human liver // *Hepatology.*- V. 36 (1).- P. 164-172.

Uchino T., Snyderman S. E., Lambert M. et al. Molecular basis of phenotypic variation in patients with argininemia // *Hum. Genet.*- 1995.- V. 96.- P. 255-260.

UGT1A1 [Электронный ресурс]. www.pyunny.ru/information/genes-information/195.html.

Ulianov S. V., Khrameeva E. E., Alexey A. Gavrilov A. A. et al. Active chromatin and transcription play a key role in chromosome partitioning into topologically associating domains // *Genome Res.*- 2016.- V. 26.- P. 70-84.

Wang M., Lang X., Zou L. et al. Four genetic polymorphisms of paraoxonase gene and risk of coronary heart disease: a meta-analysis based on 88 case-control studies // *Atherosclerosis.* 2011.- V. 214, N 2.- P. 377-385.

Wang R. F. CD8+ regulatory T cells, their suppressive mechanisms and regulation in cancer // *Hum. Immunol.*- 2008.- V. 69, N 11.- P. 811-814.

Wang S. H., Zhi Q. W., Sun M. J. et al. Dual activities of human prolidase // *Toxicol. In Vitro.* 2006.- Vol. 20, N 1.- P. 71-77.

Weber W. W. *Pharmacogenetics.*- Oxford: Oxford University Press.- 1997.

Weber W. W., King C. M. N-acetyltransferase and Arylhydroxamic Acid acyltransferase // *Meth. Enzymol.*- 1981.- V. 77.- P. 272-281.

West A. P., Shadel, G.S., Ghosh S. Mitochondria in innate immune responses. *Nature Rev. Immunol.*- 2011.- V. 11.- P. 389-402.

Wilson M. H., Grant P. J., Hardine L. J. et al. Glutathione S-transferase M1 null genotype is associated with a decreased risk of myocardial infarction // The FASEB Journal.- 2000.- V. 14.- P. 791-796.

Winqvist R., Lundstro'm K., Salminen M., Laatikainen M., Ulmanen I. The human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene maps to band q11.2 of chromosome 22 and shows a frequent RFLP with BglI // Cytogen. Cell. Genet.- 1992.- V. 59.- P. 253-257.

Woo J.-M., Yoon, K.-S., Yu, B.-H. Catechol O-methyltransferase genetic polymorphism in panic disorder // Am. J. Psychiat.- 2002.- V. 159.- P. 1785-1787.

Wright D. T., Cohn L. A., Li H. et al. Interactions of oxygen radicals with airway epithelium // Environ. Health Perspect.- 1994.- V. 102 (Suppl.10).- P. 85-90.

Yeung C. K., Adman E. T., Rettie A. E. et al. Functional characterization of genetic variants of human FMO3 associated with trimethylaminuria // Arch. Biochem. and Biophys.- 2007.- V. 464, N 2. P251-259.

Young J., Libby P., Schonbeck U. Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis // Thrombos Haemostas.- 2002.- V. 8.- P. 554-567.

Yuen R., Robinson W. Review: a high capacity of human placenta for genetic and epigenetic: variation implications for assessing pregnancy outcome // Placenta.- 2011. - V. 32.- S. 136-141.

Zhang Y. Q., Sun B. Y., Dai J. J. Studies on the genetic diathesis of asthma bronchial // Yi Chuan.- 2004.- V. 2, N 26.- P. 147-150.

Ziegler S. F. FOXP3: of mice and men // Annu. Rev. Immunol.- 2006.- V. 24.- P. 209-226.

Xu X. Y., Pang W. J., Wen Z. N. et al. Changes in human umbilical vein endothelial cells induced by endothelial nitric oxide synthase traffic inducer // J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.-2013.- V. 33, N 2.- P. 272-276.

В.Р. Рембовский, Л.А. Могиленкова

ПРОЦЕССЫ ДЕТОКСИКАЦИИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ
ВЕЩЕСТВ НА ОРГАНИЗМ

Подписано в печать 21.11.2017 г. Формат 70x100/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Minion Pro. Усл. печ. л. 31,0 Тираж 500 Заказ 235

Отпечатано с готового оригинал-макета, предоставленного авторами, в
ИПЦ Политехнического Университета, СПб.