

УДК 612.015.348:546.261

НАРУШЕНИЯ БЕЛКОВОГО СОСТАВА КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

© 2013 г. Н. В. Зайцева, М. А. Землянова, А. В. Тарантин

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий
управления рисками здоровью населения, г. Пермь

Ароматические углеводороды (по международной номенклатуре ИЮ-ПАК — арены) — класс органических соединений, в молекуле которых содержится одно или несколько ароматических колец — циклических групп атомов углерода с особым характером связей, более устойчивых по сравнению с алифатической двойной связью.

Простейшие и наиболее важные представители ароматических углеводородов — бензол, толуол, *о*-, *м*-, *п*-ксилолы, стирол — относятся к высокоопасным химическим веществам (II класс опасности) [2]. Являются компонентами эмиссий предприятий основного органического синтеза, химической, нефтеперерабатывающей, нефтехимической отраслей и представляют наибольший риск для здоровья населения. Главные источники поступления в объекты внешней среды — это перегонка угля и ряд нефтехимических процессов, в частности каталитический риформинг, перегонка сырой нефти и алкилирование низших ароматических углеводородов.

Характерной особенностью данных соединений являются значительная распространённость в атмосферном воздухе населённых мест и в воде поверхностных водоёмов, а также высокая повреждающая способность при длительном внешнесредовом поступлении в организм даже в незначительных количествах и концентрациях, не превышающих существующие гигиенические нормативы [4].

Основной путь поступления бензола и его гомологов в организм — ингаляционный. При воздействии бензола в виде паров через органы дыхания он сразу попадает в кровеносное русло в результате диффузии через альвеолярные капилляры, обходя защитные детоксикационные барьеры, в том числе и печень. Вследствие высокой липофильности бензол и его гомологи могут поступать в организм перкутанным путем — через неповрежденную кожу [3]. Находясь в кровеносном русле, бензол, его гомологи и их метаболиты оказывают негативное воздействие на широкий спектр функционально-метаболических систем на молекулярном, клеточном и системном уровнях [1], следствием чего могут являться локальные и системные токсические эффекты.

Сравнение протеома биологических образцов (тканей и жидкостей) индивидов, проживающих в различных условиях экспозиции, применяется в клинических и биомедицинских исследованиях для установления белков, экспрессируемых в ответ на воздействие химических факторов [30]. Исследование влияния воздействия ароматических углеводородов на экспрессию белков позволит выявить клеточный ответ на стадиях, предшествующих клеточному поражению.

Бензол

Бензол — один из важнейших химических продуктов, широко используемый во многих отраслях промышленности, входит в число

В обзоре рассмотрено влияние воздействия наиболее распространённых ароматических углеводородов (бензол, толуол, ксилол, стирол), загрязняющих объекты среды обитания и являющихся фактором риска развития различных нарушений состояния здоровья, на изменение белкового профиля организма человека.

Ключевые слова: протеом, белковые маркеры эффекта, бензол, толуол, ксилол, стирол, внешнесредовая экспозиция

наиболее распространенных загрязнителей среды обитания [31]. Международным агентством по изучению рака бензол признан канцерогеном человека 1-й категории [25].

Опасность бензола, как и ароматических углеводородов в целом, для организма при длительной экспозиции определяется политропностью повреждающего действия и способностью к образованию агрессивных метаболитов в процессе биотрансформации [4].

Биоактивация бензола может приводить к образованию электрофильных метаболитов, таких как фенол, гидрохинон и катехол. Катехол формирует семихиноны и реактивные хинины, которые, как предполагается, играют важную роль в образовании активных форм кислорода (АФК), непосредственно приводящих к изменениям клеточных макромолекул, включая ДНК и белки. Образующиеся электрофильные метаболиты могут формировать аддукты с гемоглобином, сывороточным альбумином и белками костного мозга, нарушая их структуру [46].

Потенциальные механизмы токсичности бензола были исследованы в следующих направлениях:

- метаболизм бензола в печени (CYP2E1 и т. д.) и транспорт в костный мозг для вторичного метаболизма (MPO, NQO1) [34, 45];
- окислительный стресс, вызванный активными формами кислорода, образующимися при метаболизме ароматических соединений [47, 56];
- хромосомные изменения, включая транслокации, делеции и анеуплоидии [54];
- повреждения белков тубулина, гистонов, топоизомеразы II и других [42];
- дисфункция иммунной системы (TNF- α , INF- γ , AhR и др.) [29, 53].

Бензол, как активный мутаген, вызывает хромосомные нарушения, аналогичные тем, которые наблюдаются при терапиясвязанной миелодисплазии и остром миелобластном лейкозе [32]. Одним из возможных механизмов, лежащих в основе патологий, вызванных бензолом, является индукция генетических изменений, приводящих к хромосомным aberrациям, транслокациям, анеуплоидии и делеции длинного плеча [44], изменениям в дифференциации клеток и иммунного надзора. Различные хромосомные эффекты возникают после воздействия алкилирующих агентов и ингибиторов топоизомеразы II (текущие сбалансированные транслокации или инверсии), используемых в химиотерапии. С воздействием бензола или его метаболитов связана делеция длинного плеча хромосом 5 и 7 [55] и транслокации с участием участка двадцать первой хромосомы [43]. Достоверно установлено, что воздействие бензола приводит к развитию лейкемии по нескольким различным механизмам.

Показано, что при внешнесредовом воздействии бензола увеличивается содержание в плазме следующих белков: прекурсор коллагеназы 3, FK506-связывающий протеин, RAS-связывающий белок RAB-36, альфа субединица гуаниннуклеотид-связывающего белка G(O), белок homer-2, белок

AAMP-1, альфа-цепь рецептора интерлейкина-4, белок-адаптер-1 фосфоинозитол-4-фосфата, белок TERF2IP, изоформа FK23 FK506-связывающего белка, A6-подобный белок, предшественник CD1b (гликопротеина поверхности Т-клетки), ингибитор циклинзависимой киназы p27, Ras-подобный белок Rab-3D, Т-клеточный рецептор бета-1, варибельная область легкой цепи иммуноглобулина, С-область бета-цепи Т-клеточного рецептора [50]. Также показано, что при воздействии бензола происходит снижение экспрессии белков РВР и АРОВ100, что указывает на снижение иммунной реактивности и нарушение липидного обмена [57].

В результате воздействия низких доз бензола на фибробласты, клеточные линии пневмоцитов A549 и гепатоцитов HepG2 происходит экспрессия одного из белков стресса — GRP78, находящегося в эндоплазматическом ретикулуме. В то же время значимых изменений экспрессии других белков стресса (HSP72 и HSP90) не наблюдается [11]. На основании этого предполагается, что присутствие бензола приводит к неправильному свёртыванию белков в эндоплазматическом ретикулуме, тем самым неблагоприятно воздействуя на их выделение.

Метаболиты бензола образуют аддукты с гемоглобином и альбумином, присоединяясь к боковой цепи цистеина. Показана зависимость концентрации таких аддуктов от содержания бензола во внешней среде [33]. Модифицированные белки являются эффективными биомаркерами окислительного стресса, поскольку представляют собой ключевые молекулы различных структурных и функциональных аспектов деятельности организма, а их функции зависят от структуры и конформации. Изменение структуры полипептидной цепи в условиях окислительного стресса может привести к дисфункции белков и замедлению их деградации (а следовательно, их накоплению), а также к широкомасштабным функциональным последствиям, последующей клеточной дисфункции, повреждению тканей и патологии. По этой причине окислительный стресс, вызванный метаболитами бензола, рассматривается как основной фактор в бензолиндуцированной патологии [9], хотя сам по себе метаболизм бензола не является достаточным для полного описания токсичности этого соединения.

Метаболиты бензола, такие как катехол, гидрохинон, 1,2,4-тригидроксibenзол, парабензохинон при воздействии на мононуклеарные клетки в эксперименте *in vitro* периферической крови человека могут стимулировать производство хемокинов, провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6, Th-2 цитокинов IL-4 и IL-5, эотаксина, MIP-1 α , белка RANTES [15]. В активированных клетках наблюдается одновременное подавление экспрессии противовоспалительного цитокина IL-10. Увеличение уровня хемокина MCP-1 наблюдалось при обработке клеток гидрохиноном, тригидроксibenзолом и бензохиноном, но не катехолом. Исследование влияния метаболитов бензола на митогенаактивированные лейкоциты пока-

зало увеличение производства хемокинов/цитокинов GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , MIP-1 β , MCP-1, Eotaxin, MIP-1 α , RANTES на 1–4 порядка.

При воздействии низких доз бензола на клеточные линии A549 (эпителиальная аденокарцинома лёгких человека) и LL24 (человеческие фибробласты лёгких) *in vitro* установлено, что клетки LL24 менее устойчивы к воздействию бензола, чем клетки A549, что выражается в увеличении пролиферации в присутствии разбавленных растворов бензола [16]. Кроме того, бензол в низких концентрациях увеличивает активность теломеразы в клетках фибробластов лёгких LL24, чего не наблюдается в клетках аденокарциномы A549. Протеолиз лёгочного матрикса под действием металлопротеиназ (ММР) может приводить к невозможности восстановления повреждений ДНК или устранению клетки с непоправимыми повреждениями путём апоптоза, что приводит к развитию патологии лёгких. Воздействие бензола повышает уровень ММР-2 и ММР-3 мРНК, а отношение (ММР-1+ММР-2+ММР-3)/ингибиторы металлопротеиназ (TIMP-1+TIMP-2) может быть использовано в качестве показателя продроструктивной активности, которая находится в прямой зависимости от концентрации бензола.

Четыре гена (CXCL16, ZNF331, JUN и PF4), экспрессируемые в мононуклеарных клетках периферической крови человека, являются потенциальными биомаркерами раннего ответа на повышенное, но не превышающее нормативов воздействие бензола [14].

Более поздние исследования показали, что воздействие бензола значительно влияет на экспрессию по меньшей мере двадцати генов, участвующих в регуляции апоптоза, иммунного ответа, защитной реакции, реакции на стресс, воспалительного ответа, сборки хроматина [24]. Увеличение экспрессии наблюдалось для генов PLK2 (полоподобная киназа 2), ZNF331 (белок цинковый палец 331), C19orf59 (открытая рамка считывания 59 хромосомы 19), SLC16A3 (член 3 семейства переносчиков 16), NR4A2 (ядерный рецептор член 2 подсемейства 4 группы A), MAT2A (метионин аденозилтрансфераза II, альфа), CERK (церамидкиназа), NAB1 (NGFI-A-связывающий белок 1 (EGR1-связывающий белок 1)), NARF (ядерный фактор распознавания преламина), TTC19 (тетратрикопептид повторяющийся домен 19), ANKH (гомолог белка прогрессирующего анкилоза), ASMTL (ацетилсеротонин О-метилтрансферазаподобный белок), C6orf59 (открытая рамка считывания 59 хромосомы 6), ZNF155 (белок цинковый палец 155, транскрипционный вариант 1); уменьшение экспрессии наблюдалось для генов HSPA1B (белок теплового шока 70 kDa 1B), HSPA1A (белок теплового шока 70 kDa 1A), JUN (гомолог онкогена 17 вируса саркомы), KLF6 (Круппельподобный фактор 6), C14orf181 (открытая рамка считывания 181 хромосомы 14), PPP1R15A (регулирующий (ингибирующий) субюнит 15A про-

теинфосфатазы 1). Некоторые из обнаруженных генов показали значительные изменения экспрессии только при низких уровнях бензола и, таким образом, являются потенциальными биомаркерами малых доз воздействия. Результаты показывают, что даже низкий уровень профессионального воздействия бензола вызывает значительные изменения экспрессии генов, участвующих в иммунных и воспалительных реакциях. Два белка (PF4 — тромбоцитарный фактор, STAP-III — пептид активации соединительной ткани) — СХС-хемокины, производимые тромбоцитами, проявили сильную обратную корреляцию с индивидуальными уровнями бензола. Тромбоцитарный фактор 4 (PF4) также показывает снижение уровня ещё на стадии экспрессии генов. Следовательно, снижение уровня белка PF4 или STAP-III может служить биомаркером ранних биологических эффектов бензола. Другие исследования [28] показывают, что у лиц с диагностированным отравлением бензолом в мононуклеарных клетках периферической крови происходит увеличение экспрессии генов PTGS2 (простагландин-эндопероксид синтетаза 2), BAI3 (специфический ингибитор ангиогенеза 3), GCL (гранкальцин), CYP4F3 (лейкотриен-В (4) омега-гидроксилаза), MYO47 (рецептор лептина), TRA (активная альфа-цепь мРНК Т-клеточного рецептора человека), AD022 (TRAF и TNF рецепторсвязанный белок), PRKCH (протеинкиназа C), RASGRP1 (RAS гуанил высвобождающий белок 1, регулируемый кальцием и DAG), FPR1 (формилпептидный рецептор 1), TGFBR3 (бета-рецептор 3 изменяющего фактора роста), GRO1 (онкоген GRO1, стимулирующий рост активности меланомы), SEL1L (Sel-1-подобный), CSF2RB (рецептор колониестимулирующий факторов 2, бета-, низко-близости (гранулоцитарно-макрофагальный)), IFITM1 (интерферониндуцируемый трансмембранный белок 1 (9-27)), STAT4 (переносчик сигнала и активатор транскрипции 4), IFITM2 (интерферониндуцируемый трансмембранный белок (1-8D)), ABLIM (актинсвязывающий LIM белок 1), KIAA1382 (переносчик аминокислот 2), SPTBN1 (неэритроцитарный спектрин бета 1), HBB (бета гемоглобин), PRKDC (каталитический полипептид ДНК-активируемой протеинкиназы); и снижение экспрессии — генов S100A10 (S100 кальцийсвязывающий белок A10), ITGB2 (Интегрин бета-2), TKT (транскетолаза), VAMP8 (везикуласвязанный белок мембраны 8), FOSB (гомолог онкогена В мышинной вирусной остеосаркомы), ASAH1 (N-ацилсфингозинаминогидролазаподобный белок), CDC37 (гомолог цикла клеточного деления 37), SLC25A6 (член 6 семейства транспортёров растворённых веществ), CLN2 (поздний детский церебральный липофусциноз (болезнь Бильшовского — Янского)), ACTA2 (альфа-2 актин гладкой мускулатуры аорты), CST3 (цистатин C), HLA-DMB (главный комплекс гистосовместимости, класса II антигенов, DM бета цепи), ALDH2 (альдегиддегидрогеназа 2 (митохондриальная)), LGALS2 (галактозидсвязывающий растворимый лектин 1

(галектин 1)), ARHB (член В семейства гомологов гена Ras), KLF4 (Крупноподобный фактор 4), ATF3 (фактор активации транскрипции 3). Показано, что фенол, образующийся при метаболизме бензола, индуцирует CYP4F3A в клетках человеческого промиелоцитарного лейкоза HL-60 и в клетках хронической миелоидной лейкемии человека K562, а также в человеческих нейтрофилах. Гидрохинон и фенол индуцируют DNA-PKcs (ДНК-зависимая протеинкиназа) в клетках HL-60, которая коррелирует с увеличением числа двойных разрывов ДНК. Предполагается, что индукция гена CYP4F3A увеличивает инактивацию лейкотриена B-4 (LTB4) и, таким образом, снижает хемотаксис и функции лейкоцитов; в то же время индукция этого гена способствует пролиферации клеток. Оба этих изменения вносят вклад в миелотоксичность бензола [52].

Метаболиты бензола играют большую роль в повреждении ДНК. Однако ДНК не является единственной мишенью воздействия. Некоторые метаболиты могут влиять на белки, участвующие в поддержании целостности ДНК и геномной стабильности. Это было продемонстрировано наиболее четко для ингибирования топоизомеразы II, приводящего к двунитевым разрывам ДНК. Ингибирование ферментов, участвующих в репликации ДНК, таких как топоизомеразы, метаболитами бензола представляет собой один из возможных механизмов, посредством которого бензол может вызвать хромосомные нарушения. Показано, что в присутствии человеческой миелопероксидазы и перекиси водорода гидрохинон активируется и выступает в качестве мощного ингибитора топоизомеразы II [12]. Топоизомераза II является ядерным АТФ-зависимым ферментом, который играет важную роль в ряде процессов, связанных с обеспечением функций ДНК. Имеющиеся данные показывают, что в развитии лейкозов, индуцированных бензолом, участвуют многочисленные механизмы, а ингибирование топоизомеразы II может представлять собой важную стадию в развитии некоторых типов лейкемии [17].

Другими механизмами, потенциально способствующими канцерогенности, являются гиперэкспрессия факторов транскрипции, активация онкогенов и клеточной сигнализации [8].

НАДФН-хиноноксидоредуктаза 1 (NQO1) относится к флавиносодержащим ферментам с широкой субстратной специфичностью. NQO1 индуцируется при воздействии многих факторов, включая электрофильные метаболиты бензола и окислительный стресс, и может рассматриваться как ответ на воздействие внешних факторов [35]. Функции хиноноксидоредуктазы включают в себя метаболизм ксенобиотических хинонов в гидрохиноны, метаболизм эндогенных хинонов в гидрохиноны в результате антиоксидантного действия, поддержание окислительно-восстановительного баланса, прямое выведение кислородных радикалов, взаимодействие с p53 и его стабилизацию, стабилизацию микротрубочек. По-

скольку NQO1 участвует в метаболизме бензола и детоксикации его метаболитов, полиморфизм этого фермента (и его активность) может обуславливать наследственную предрасположенность к интоксикации бензолом и развитию различных форм лейкемии.

Будущие протеомные исследования могут выявить более эффективные и селективные биомаркеры бензола, что будет способствовать более детальному установлению механизмов, лежащих в основе токсичности бензола и связанных с ним заболеваний.

Толуол

Толуол (метилбензол) — ближайший гомолог бензола, один из самых распространенных растворителей, используемый во многих процессах и продуктах, в том числе промышленных красках, клеях, покрытиях и чистящих средствах. Поскольку толуол является ближайшим гомологом бензола, биологическое действие их во многом схоже. Однако толуол менее токсичен и не является канцерогеном для человека. Нейротоксичность и репродуктивная токсичность толуола хорошо известны, также обсуждается его генотоксичность.

Эпидемиологические исследования свидетельствуют о значительном увеличении случаев рака дыхательных путей, рака легких, рака почек, рака мочевого пузыря и лейкемии у индивидов, подверженных воздействию толуола в повышенных, но не превышающих гигиенических норм концентрациях [19]. Однако последующие исследования не выявили значительной связи между воздействием толуола и развитием онкологических заболеваний, в связи с чем толуол не классифицируется в качестве канцерогена для человека [20].

Показано, что толуол индуцирует кинетохоротрицательные и центромеротрицательные микроядра в лимфобластоидных клетках человека MCL-5, которые стабильно экспрессируют комплементарную ДНК, кодирующую человеческие белки CYP1A2, CYP2A6, CYP3A4, CYP2E1 и эпоксидгидролазу, а также в клетках h2E1, содержащих комплементарную ДНК для CYP2E1; кинетохорположительные микроядра индуцируются только при высоких дозах. Человеческие лимфобласты (АНН-1), конститутивно экспрессирующие белок CYP1A1, показали небольшое увеличение частоты встречаемости микроядер [20].

Воздействие толуола на клеточные линии промиелоцитарного лейкоза человека HL-60, миелолейкоза K562 и лейкемической моноцитарной лимфомы U937 вызывает экспрессию генов HMOX1 (гема оксигеназа-1) и NOXA (проапоптозный белок) [38]. Предполагается, что HMOX1 индуцируется в условиях окислительного стресса и способствует ослаблению окислительных повреждений клетки и снижению апоптоза [28]. NOXA принимает участие в апоптозе, индуцированном апоптозом. Белок считается посредником апоптоза, прямо или косвенно взаимодействующим с другими про- и/или анти-апоптотическими белками семейства Bcl-2 (например, Bax или Bak) для действия изменениям митохондриальной мембраны,

приводящим к её пермеабиллизации и истечению апоптогенных белков [58].

Установлено, что воздействие толуола на клеточные линии миелолейкоза K562 и гистiocитарной лимфомы U937 значительно изменяет экспрессию генов, которые регулируются через сигнальные пути толлподобных рецепторов (TLR), сигнальные пути Т-клеточных рецепторов, цитокин-цитокиновых рецепторных взаимодействий, а также естественными киллерами клеточной цитотоксичности. Установлены дозозависимые различия экспрессии генов IFIT1 (интерферониндуцированный белок с тетарикопедным повтором 1), IFIT2 (интерферониндуцированный белок с тетарикопедным повтором 2), IFIT3 (интерферониндуцированный белок с тетарикопедным повтором 3), USP18 (убиквитинспецифичная пептидаза 18), INFGR2 (интерфероновый гамма-рецептор 2), PMAIP1 (форбол-12-миристан-13-ацетатиндуцируемый белок 1), GADD45a (индуцируемый блокировкой роста и повреждениями ДНК, альфа), NFKB1a (ингибитор ядерного фактора κ B альфа), TNFAIP3 (белок 3, альфа-индуцированный фактором некроза опухоли) и BIRC3 (белок, содержащий 3 повтора бакуловирусного ингибитора апоптоза) от воздействия толуола, которые являются потенциальными кандидатами на роль биомаркеров воздействия летучих ароматических соединений, в том числе толуола [37].

Наиболее чувствительными к воздействию толуола являются гены, относящиеся к интерферону (IFIT1, IFIT2 и IFIT3). Функции генов IFIT1, IFIT2 и IFIT3 недостаточно изучены, но в некоторых работах показано, что IFIT1 и IFIT2 широко используются в качестве маркерных генов для обнаружения сигнального пути JAK / STAT [49]. Анализ также показал, что толуол индуцирует гены рецепторов цитокин-цитокиновых взаимодействий, которые были связаны с членами семейства JAK, конечными посредниками биологического ответа через STAT (трансдуктор сигнала и активатор транскрипции). На основании вышеизложенного показано, что воздействие толуола индуцирует интерферонсвязанные гены как часть иммунного ответа через путь JAK—STAT.

Исследование воздействия толуола на клетки LLC-PK1 (почечные проксимальные трубчатые эпителиальные клетки) показало увеличение активности каспазы-9 [7]. Это увеличение сопровождается повышением уровня проапоптотических белков (Bax) и снижением уровня антиапоптотических белков (Bcl-2). Кроме того, ингибирование фрагментации ДНК ингибиторами каспазы-9 имеет дозозависимый характер. Толуолиндуцированный апоптоз клеток LLC-PK1, как мера фрагментации ДНК, сопровождается перекисным окислением липидов и активацией цитохрома P4502E1 (CYP2E1) [5]. Следовательно, толуол индуцирует каспазу-9 и способствует увеличению уровня Bax, который, в свою очередь, запускает почечной апоптоз через митохондриальный путь. Однако было установлено, что увеличение концентрации

толуола до 5 мМ вызывает некроз через активацию CYP2E1 и окислительный стресс [5].

Толуол, как и бензол, реализует токсическое действие через окислительный стресс, вызванный активными формами кислорода, которые образуются при метаболизме и детоксикации электрофильных метаболитов.

Ксилол

Ксилолы — общее название для группы диметилзамещённых бензолов (орто-, мета- и параксилол), в гомологическом ряду расположенные после толуола. Ксилол является одним из продуктов переработки угля и нефти, широко используется в качестве растворителя и входит в состав автомобильного топлива. В связи с этим создаются широкие возможности его для внешнесредового воздействия на организм.

Обладая сходством в строении с толуолом, ксилол имеет схожее биологическое действие. Ксилол относится к умеренно опасным веществам (3 класс опасности), обладает нейротоксическим, репротоксическим действием и не классифицируется в качестве канцерогена [21].

Длительное воздействие ксилола в дозах, не превышающих гигиенических нормативов, может вызывать необратимую потерю слуха [41]. Однако более подробные исследования показали, что ототоксическим действием обладает только параксилол, а воздействие орто- и метаксилола не приводит к потере волосковых клеток.

Исследование воздействия ортоксилола на клетки промиелоцитарного лейкоза человека HL-60 показало, что он вызывает значительные изменения в экспрессии генов, участвующих:

- в иммунном ответе: IFIT1, IFIT2, IFIT3 (интерферониндуцированный белок с тетарикопептидным повтором 1, 2, 3), IL8 (интерлейкин 8), IFNGR2 (рецептор гамма-интерферона 2), USP18 (убиквитинспецифичная пептидаза), CXCR4 (хемокиновый рецептор 4), NCF2 (цитозольный фактор нейтрофилов 2);

- апоптозе: BCL2A1 (BCL2-связывающий белок A1), BIRC3 (белок, содержащий 3 повтора бакуловирусного ингибитора апоптоза), PMAIP1 (форбол-12-миристан-13-ацетатиндуцируемый белок 1), FILIP1L (филамин A взаимодействующий белок 1-подобный), GADD45a (индуцируемый блокировкой роста и повреждениями ДНК, альфа), NFKB1a (ингибитор ядерного фактора κ B альфа), TNFAIP3 (белок 3, альфа-индуцированный фактором некроза опухоли);

- регуляции транскрипции: RELB (гомолог В онкогена V-rel вирусного ретикулоэндотелиоза), EGR3 (белок раннего ростового ответа 3), NFAT5 (ядерный фактор активированных Т-клеток, 5), NFIB (ядерный фактор I-B), XBP1 (X-box-связывающий протеин 1);

- регуляции клеточного цикла: BCL6 (В-клеточная лимфома 6), SESN2 (сестрин 2), BTG1 (белок В-клеточный белок транслокации гена 1), DNAJB9 (DnaJ гомолог члена 9 подсемейства В), MAD (белок

1 димеризации тус-связанного фактора X), MAP3K8 (митогенактивированная протеинкиназа 8), PRNP (прионный белок (p27-30)), NEDD9 (белок, экспрессируемый предшественником нейрона белок 9, снижающий умственное развитие), PTGER2 (рецептор 2 простогландина E), ZCCHC2 (цинковый палец, содержащий CCHC домен 2);

- транспорте: STX11 (синтаксин 11), SLC7A11 (член 11 семейства переносчиков 7), SLC38A2 (член 2 семейства переносчиков 38), CYP1B1 (полипептид 1 подсемейства В семейства 1 цитохрома P450);

- прочих функциях: ELOVL6 (ELOVL элонгаза жирных кислот 6), HERC5 (E3 убиквитин-лигаза 5, содержащая домены HECT и RLD), HMOX1 (гема оксигеназа-1), ZC3HAV1 (цинковый палец 1 CCCH-типа, антивирусный), PELI1 (гомолог Pellino 1), CTN (цистатинин гамма-лиазы), EVI2A (сайт 2A интеграции экотропного вируса), HIVP2 (белок 2, усиливающий связывание ВИЧ типа 1), HNRPLL (гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин L-типа), ZCCHC2 (цинковый палец 2, содержащий домен CCHC), RAB6IP1 (RAB6-взаимодействующий белок 1), RAB8B (RAB8B, член семейства онкогенов RAS), RNF149 (безымянный палец белка 149) [37].

Краткосрочное воздействие параксилола приводит к повреждению клеток почечных канальцев, повышению оксидативного стресса и увеличению активности CYP2E [6]. То обстоятельство, что клеточная смерть происходит в результате некроза, свидетельствует об образовании летального уровня оксидативного стресса, вызванного метаболизмом параксилола. Это подтверждается и отсутствием апоптоза, поскольку для осуществления апоптоза требуется хронический сублетальный уровень окислительного стресса.

Воздействие ароматических соединений стимулирует выделение провоспалительных белков эпителиальными клетками лёгких. Показано, что метаксолол при воздействии на клетки карциномы лёгких (A549) в концентрациях, соответствующих концентрациям в закрытых помещениях, вызывает увеличение производства белка MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный белок 1). При более высоких концентрациях возрастает секреция IL-8 (интерлейкин-8) [13]. Показано, что воздействие метаксолола не вызывает каких-либо цитотоксических или пролиферативных эффектов в клетках A549. Из этого следует, что воздействие метаксолола не влияет на жизнеспособность и пролиферацию клеток лёгких даже при высоком уровне воздействия. Однако при воздействии высоких концентраций метаксолола наблюдается изменение функциональной активности, в частности, увеличение секреции IL-8 и снижение секреции MCP-1 и IL-6 клетками A549. Снижение секреции IL-6 и MCP-1, вероятно, указывает на субтоксическое влияние очень высоких концентраций. Несмотря на то, что наблюдаемая индукция MCP-1 и IL-8 была не очень сильной (максимум в 1,4 раза), этот эффект был стабильным и воспроизводимым.

Поскольку гиперэкспрессия связанных со стрессом генов выступает как плейотропный ответ на целый ряд экологически обусловленных повреждений, растет интерес к рассмотрению стрессовых белков в качестве биомаркеров для обеспечения количественных признаков того, что организм подвержен воздействию загрязнений окружающей среды. Так, воздействие ксилола на клетки человеческой аденокарциномы лёгких (A549) тормозит рост клеток [11]. При этом наблюдается прямая связь между степенью ингибирования роста клеток и гиперэкспрессией белка GRP78, одного из белков теплового шока. Показано, что гиперэкспрессия GRP78 была значительна только при дозе ксилола, приводящей к замедлению роста более 40 %. Такие концентрации слишком высоки и не встречаются в окружающей атмосфере и/или профессиональной среде. Отсюда следует, что гиперэкспрессия GRP78 не может быть адекватным биомаркером воздействия ксилола. Аналогичные результаты получены на клеточной линии гепатоцитов HepG2 и нормальных фибробластов.

Воздействие ортоксилола на клетки промиелоцитарной лейкемии (HL-60), эритробластной лейкемии (K562) и лейкоцитарной моноцитарной лимфомы (U937), подобно воздействию толуола, приводит к увеличению экспрессии генов HMOX1 и NOXA [38]. Также установлено, что экспрессия HMOX1 и NOXA полностью зависит от образования активных форм кислорода. Таким образом, экспрессия генов в результате воздействия ортоксилола является ответом на окислительный стресс, вызванный АФК, образующимися в процессе метаболизма ксенобиотика.

Изучение воздействия параксилола на клетки LLC-PK1 (почечные проксимальные трубчатые эпителиальные клетки) показало увеличение активности каспазы-9, подобное наблюдаемому при воздействии толуола [7]. Предполагается, что параксолол путём активации каспазы-9 и повышения уровня Вах индуцирует почечный апоптоз через митохондриальный путь. Также установлено, что увеличение концентрации параксилола до 5 мМ вызывает некроз через активацию CYP2E1 и окислительный стресс [5]. Эти результаты показывают, что каспаза-9 может служить посредником апоптоза почечных клеток, индуцированного длительным воздействием параксилола, и может иметь отношение к апоптозу почечных клеток как общей черте хронического тубуло-интерстициального повреждения. Активность каспазы-9 является хорошим предиктором апоптоза, связанного с повреждением проксимальных канальцев после воздействия органических растворителей. Поэтому каспаза-9 может быть терапевтической мишенью для профилактики повреждений почечных клеток в результате апоптоза и последующего почечного фиброза. В данном случае воздействие параксилола аналогично воздействию толуола.

Стирол

Стирол (винилбензол, этилбензол) от ближайших гомологов бензола (толуола и ксилола) отличается

ся наличием неопредельной боковой цепи, которая обуславливает высокую реакционную способность. По воздействию на организм относится к высокоопасным веществам (II класс опасности). Международным агентством по исследованию рака стирол квалифицируется в качестве возможного канцерогена для человека (группа 2B) [18]. По предварительным результатам исследований репродуктивной токсичности, стирол не является репротоксикантом [23], однако подтверждение этих данных требует дальнейших исследований.

Стирол является важным химическим продуктом, широко используемым в производстве синтетических каучуков, смол и пластмасс. В связи с этим возможно поступление стирола с выбросами стационарных промышленных источников в атмосферный воздух.

Результаты лабораторных исследований *in vitro* показали, что провоспалительные эффекты стирола реализуются посредством измененных форм иммуномодулирующих цитокинов [13].

Хотя наиболее важным путем воздействия стирола является ингаляционный, метаболические преобразования происходят преимущественно в печени. Метаболизм стирола инициируется CYP-опосредованным окислением до стирол-7,8-оксида при участии монооксигеназ системы цитохрома P450. Образующиеся в процессе электрофильные интермедиаты способны ковалентно связываться с белками (альбумином, глобулином) [51]. Считается, что эти интермедиаты несут прямую ответственность за генотоксические эффекты стирола [27]. Дальнейший метаболизм протекает двумя путями [48]:

- при участии микросомальной эпоксидгидролазы, алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы (основной путь);
- при участии глутатион-S-трансферазы, γ -глутамилтранспептидазы, глицинилцистеиназы и N-ацетилтрансферазы (вспомогательный путь).

Биомониторинговые исследования генотоксического риска воздействия стирола показали, что полиморфизм генов, кодирующих ферменты, которые участвуют в метаболизме ксенобиотиков или в репарации ДНК, могут влиять на восприимчивость к стиролу. Это касается цитохромов P-450 (CYP1A1, CYP2E1, CYP2C, CYP2D6) микросомальной эпоксидгидролазы (EPHX1), глутатион S-трансферазы (GSTM1, GSTM3, GSTP1, GSTT1), N-ацетилтрансферазы (NAT1, NAT2), NAD(P)H хинон оксидоредуктазы (NQO1), фермента эксцезионной репарации ДНК 1 (ERCC1), фермента эксцезионной репарации ДНК 2 (ERCC2/XPD), ферментов репарации ДНК (XRCC1 и XRCC3) [36].

В серии экспериментов установлено, что рекомбинантные клеточные линии с гиперэкспрессией генов GSTM1 (глутатион-S-трансфераза M1) или mEH (микросомальная эпоксидгидролаза) могут противостоять генотоксическому действию стирол-7,8-оксида. Значительная разница в индукции мутаций между метаболически дефицитными и избыточными

клеточными линиями показывает, что и mEH, и GSTM1 может нейтрализовать стирол-7,8-оксид *in vitro* [40]. Также наблюдается небольшое различие в цитотоксичности стирол-7,8-оксида при воздействии на GSTM1-дефицитные и GSTM1-избыточные клеточные линии [39]. Это было подтверждено в рекомбинантной клеточной линии FB7 (человеческие лимфобласты), которая показала существенную защиту против цитотоксичности стирол-7,8-оксида по сравнению с материнской линией WIL2NS.

Мониторинг клеточной экспрессии p53, p21, Bcl-2 и Вах после воздействия стирол-7,8-оксида показал, что высокий его уровень создаёт задержку клеточного цикла, вероятно, чтобы индуцировать систему восстановления, а не запрограммированную смерть клетки [22].

Исследование воздействия стирола на человеческие клетки лёгочного эпителия (A549) *in vitro* [26] показало изменение в экспрессии белков, вовлечённых:

- в окислительный стресс: альдегидредуктаза, альдегиддегидрогеназа, белок DJ-1, биливердинредуктаза A, пероксиредоксин-1, фосфоглицератмутаза 1, тиоредоксинредуктаза 1, Cu/Zn-супероксиддисмутаза, пероксиредоксин-4, субъединица 75 кДа НАДН-хинооксидоредуктазы, изоцитратдегидрогеназа (НАДФ), внутриклеточный белок хлоридный канал 1, трансальдолаза, ингибитор 2 диссоциации гуанозиндифосфата, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа;
- воспаление: аннексин A7, моэзин, белок теплового шока бета 1, аннексин A2;
- клеточную смерть: эзрин, аннексин A4, субъединица β -1 ламинина, рибосомальный белок L5, ламин-B2, аннексин A5, трансляционно контролируемый опухолевый белок 1, зависящий от напряжения белок 2 анион-селективного канала, нуклеозиддифосфаткиназа;
- контроль качества белков: аннексин A1, эндоплазмин, эукариотический фактор инициации трансляции 4B, субъединица 11 не-АТФазной протеасомы 26S, субъединица β T-комплексного белка 1;
- метаболизм: АТФ-синтаза, α -енолаза, глицил-тРНК-синтетаза, гликогенфосфорилаза, гелъзолин, тяжёлая цепь кинезина 1, фактор элонгации 2b, L-лактатдегидрогеназа, ретинальдегидрогеназа 1, гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин H1 (H), основной белок убихинол-цитохром с редуктазы.

В этом исследовании показано, что наибольшие изменения в экспрессии после воздействия субтоксических концентраций стирола происходят у белков, участвующих в ответе на окислительный стресс. Дальнейшие изменения приводят к увеличению содержания белков, отвечающих за воспалительную реакцию и апоптоз. Естественно, что результаты данного исследования не позволяют определить точной цепи событий после воздействия стирола, но с учетом специфических молекулярных изменений тиоредоксин редуктазы 1 ответ на окислительный стресс является наиболее вероятным кандидатом на начальный молекулярный механизм реагирования на

субтоксические, но иммунологически эффективные концентрации стирола.

Выводы и перспективы дальнейших исследований

Токсичность большинства органических соединений, в том числе ароматических, обусловлена образованием активных форм кислорода и последующей индукцией антиоксидантных ферментов [10]. Однако действие различных ароматических углеводов характеризуется низкой селективностью. Поэтому определение связи их воздействия с нарушениями состояния здоровья, особенно на ранних стадиях, является достаточно проблематичным. Установление биомолекулярных и клеточных механизмов, подверженных влиянию ароматических углеводов и включающих процессы синтеза различных белков, позволяет обосновать показатели, изменение которых в биологических средах организма даёт возможность более точно и в более ранние сроки обнаружить предпатологические состояния, возникшие в результате неблагоприятного воздействия факторов среды обитания, в том числе ароматических углеводов. Эти показатели могут использоваться в качестве принципиально новых молекулярных биологических маркеров, использование которых приведёт к значительному повышению эффективности диагностических и профилактических мероприятий.

Список литературы

1. Бандман А. Л., Войтенко Г. А., Волкова Н. В. и др. Вредные химические вещества. Галоген- и кислородсодержащие органические соединения : справочное издание / под ред. В. А. Филова и др. СПб. : Химия, 1994. С. 688.
2. ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. М.: ИПК Издательство стандартов, 2002.
3. Куценко С. А. Основы токсикологии. СПб., 2004. С. 720.
4. Онищенко Г. Г., Зайцева Н. В., Землянова М. А. Гигиеническая индикация последствий для здоровья при внешнесредовой экспозиции химических факторов. Пермь : Книжный формат, 2001. С. 124.
5. Al-Ghamdi S. S., Raftery M. J., Yaqoob M. M. Organic solvent-induced proximal tubular cell toxicity via caspase-3 activation // J. Toxicol. Clin. Toxicol. 2003. N 41. P. 967–971.
6. Al-Ghamdi S. S., Raftery M. J., Yaqoob M. M. Acute solvent exposure induced activation of cytochrome P4502E1 causes proximal tubular cell necrosis by oxidative stress // Toxicology in Vitro. 2003. N 17(3). P. 335–341.
7. Al-Ghamdi S. S., Raftery M. J., Yaqoob M. M. Organic solvent-induced proximal tubular cell apoptosis via caspase-9 activation // Environmental Toxicology and Pharmacology. 2004. N 16(3). P. 147–152.
8. Atkinson T. J. A review of the role of benzene metabolites and mechanisms in malignant transformation: summative evidence for a lack of research in nonmyelogenous cancer types // Int. J. Hyg. Environ. Health. 2009. N 212(1). P. 1–10.
9. Barreto G., Madureira D., Capani F., Aon-Bertolino L., Saraceno E., Lisandro D. A.-G. The Role of Catechols and Free Radicals in Benzene Toxicity: An Oxidative DNA Damage Pathway // Environmental and Molecular Mutagenesis. 2009. N 50. P. 771–780.
10. Chen K., Gunter K., Maines M. D. Neurons overexpressing heme oxygenase-1 resist oxidative stress-mediated cell death // J. Neurochem. 2000. N 75. P. 304–313.
11. Croute F., Gaubin Y., Beau B., Simon V., Murat J. C., Soleilhavoup J. P. Volatile organic compounds cytotoxicity and expression of HSP72, HSP90 and GRP78 stress proteins in cultured human cells // Biochimica et Biophysica Acta. 2002. N 1591. P. 147–155.
12. Eastmond D. A., Mondrala S. T., Hasegawa L. Topoisomerase II inhibition by myeloperoxidase-activated hydroquinone: A potential mechanism underlying the genotoxic and carcinogenic effects of benzene // Chemico-Biological Interactions. 2005. N 153–154. P. 207–216.
13. Fischäder G., Röder-Stolinski C., Wichmann G., Nieber K., Lehmann I. Release of MCP-1 and IL-8 from lung epithelial cells exposed to volatile organic compounds // Toxicology in Vitro. 2008. N 22 (2). P. 359–366.
14. Forrest M. S., Lan Q., Hubbard A. E., Zhang L., Vermeulen R., Zhao X., Li G., Wu Yen-Ying, Shen M., Yin S., Chanock S. J., Rothman N., Smith M. T. Discovery of Novel Biomarkers by Microarray Analysis of Peripheral Blood Mononuclear Cell Gene Expression in Benzene-Exposed Workers // Environmental Health Perspectives. 2005. N 113(6). P. 801–807.
15. Gillis B., Gavin I. M., Arbieva Z., King S. T., Jayaraman S., Prabhakar B. S. Identification of human cell responses to benzene and benzene metabolites // Genomics. 2007. N 90. P. 324–333.
16. Giuliano M., Stellavato A., Cammarota M., Lamberti M., Miraglia N., Sannolo N., De Rosa M. Effects of low concentrations of benzene on human lung cells in vitro // Toxicology Letters. 2009. N 188. P. 130–136.
17. Hartwig A. The role of DNA repair in benzene-induced carcinogenesis // Chemico-Biological Interactions. 2010. N 184(1–2). P. 269–272.
18. IARC Monographs on Evaluation Carcinogenic Risks in Humans, in: IARC (Ed.), Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphtalene and Styrene // IARC, Lyon. 2002. N 82. P. 437–522.
19. IARC, Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Printing processes (Occupational exposure Group 2B) and printing inks (Group 3) // International Agency for Research on Cancer. 1996. N 65. P. 33–149.
20. IARC, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Toluene, Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide // Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999. N 71. P. 829–864.
21. IARC, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Xylenes, Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide // Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999. N 71. P. 1189–1208.
22. Laffon B., Pasaro E., Mendez J. Effects of styrene-7,8-oxide over p53, p21, bcl-2 and bax expression in human lymphocyte cultures // Mutagenesis. 2001. N 16(2). P. 127–132.
23. Lindbohm M. L., Taskinen H., Sallmen M., Hemminki K. Spontaneous abortions among women exposed to organic solvents // Am. J. Ind. Med. 1990. N 17. P. 449–463.
24. McHale C. M., Zhang L., Lan Q., Li G., Hubbard A. E., Forrest M. S., Vermeulen R., Chen J., Shen M., Rappaport S. M., Yin S., Smith M. T., Rothman N. Changes

in the peripheral blood transcriptome associated with occupational benzene exposure identified by cross-comparison on two microarray platforms // *Genomics*. 2009. N 93(4). P. 343–349.

25. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Overall Evaluations of Carcinogenicity // International Agency for Research on Cancer (IARC). 1987. An Updating of IARC Monographs.

26. Mörbt N., Mögel I., Kalkhof S., Feltens R., Röder-Stolinski C., Zheng J., Vogt C., Lehmann I., von Bergen M. Proteome changes in human bronchoalveolar cells following styrene exposure indicate involvement of oxidative stress in the molecular-response mechanism // *PROTEOMICS*. 2009. N 9(21). P. 4920–4933.

27. Nakajima T., Wang R. S., Elovaara E. et al. CYP2C11 and CYP2B1 are major cytochrome P450 forms involved in styrene oxidation in liver and lung microsomes from untreated rats, respectively // *Biochem. Pharmacol.* 1994. N 48. P. 637–642.

28. Otterbein L. E., Soares M. P., Yamashita K., Bach F. H. Heme oxygenase-1: unleashing the protective properties of heme // *Trends Immunol.* 2003. N 24. P. 449–455.

29. Ouyang Y., Virasch N., Hao P. et al. Suppression of human IL-1 beta, IL-2, IFN-gamma, and TNF-alpha production by cigarette smoke extracts // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000. N 106. P. 280–287.

30. Park K., Cho S. Y., Kim H., Paik Y. Proteomic alterations of the variants of human aldehyde dehydrogenase isozymes correlate with hepatocellular carcinoma // *Int. J. Cancer*. 2002. N 97. P. 261–265.

31. Paustenbach D. J., Bass R. D., Price P. Benzene toxicity and risk assessment, 1972–1992: implications for future regulation // *Environ. Health Perspect. Suppl.* 1993. N 101. P. 177–200.

32. Pedersen-Bjergaard J., Andersen M. K., Andersen M. T., Christiansen D. H. Genetics of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia // *Leukemia*. 2008. N 22. P. 240–248.

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

34. Ross D., Siegel D., Schattenberg D. G., Sun X. M., Moran J. L. Cell-specific activation and detoxification of benzene metabolites in mouse and human bone marrow: identification of target cells and a potential role for modulation of apoptosis in benzene toxicity // *Environ. Health Perspect.* 1996. N 104(6). P. 1177–1182.

35. Ross D. Functions and distribution of NQO1 in human bone marrow: Potential clues to benzene toxicity // *Chemico-Biological Interactions*. 2005. N 153–154. P. 137–146.

36. Rueff J., Teixeira J. P., Silva Santos Luís, Gaspar J. F. Genetic effects and biotoxicity monitoring of occupational styrene exposure // *Clinica Chimica Acta*. 2009. N 399 (1–2). P. 8–23.

37. Sailendra N. S., Youn-Jung K., Jae-Chun R. Gene expression profiles of human promyelocytic leukemia cell lines exposed to volatile organic compounds // *Toxicology*. 2010. N 271(3). P. 122–130.

38. Sailendra N. S., Youn-Jung K., Mee S., Jae-Chun R. Induction of apoptosis in human leukemia cells through the production of reactive oxygen species and activation of HMOX1 and Noxa by benzene, toluene, and o-xylene // *Toxicology*. 2011. N 280(3). P. 109–117.

39. Shield A. J., Sanderson B. J. S. Role of glutathione-S-transferase mu (GSTM1) in styrene-7,8-oxide toxicity and mutagenicity // *Environ. Mol. Mutagen.* 2001. N 37. P. 285–289.

40. Shield A. J., Sanderson B. J. S. A recombinant model for assessing the role of GSTM1 in styrene-7,8-oxide toxicity and mutagenicity // *Toxicology*. 2004. N 195(1). P. 61–68.

41. Sliwinska-Kowalska M., Prasher D., Rodrigues C. A., Zamysłowska-Szmytko E., Campo P., Henderson D., Lund S. P., Johnson A. C., Schaper M., Odkvist L., Starck J., Toppila E., Schneider E., Moller C., Fuente A., Gopal K. V. Ototoxicity of organic solvents - from scientific evidence to health policy // *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2007. N 20. P. 215–222.

42. Smith M. T. The mechanism of benzene-induced leukemia: a hypothesis and speculations on the causes of leukemia // *Environ. Health Perspect.* 1996. N 104(6). P. 1219–1225.

43. Smith M. T., Zhang L., Wang Y. et al. Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene // *Cancer Res.* 1998. N 58. P. 2176–2181.

44. Smith M. T., Zhang L., Wang Y., Hayes R. B., Li G., Wiemels J., Dosemeci M., Titenko-Holland N., Xi L., Kolachana P., Yin S., Rothman N. Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene // *Cancer Res.* 1998. N 58. P. 2176–2181.

45. Snyder R., Hedli C. C. An overview of benzene metabolism // *Environ. Health Perspect.* 1996. N 104(6). P. 1165–1171.

46. Spatari G., Saitta S., Cimino F., Sapienza D., Quattrocchi P., Carrieri M., Barbaro M., Saija A., Gangemi S. Increased serum levels of advanced oxidation protein products and glycation end products in subjects exposed to low-dose benzene // *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2012. N 215(3). P. 389–392.

47. Subrahmanyam V. V., Ross D., Eastmond D. A., Smith M. T. Potential role of free radicals in benzene-induced myelotoxicity and leukemia // *Free Radic. Biol. Med.* 1991. N 11. P. 495–515.

48. Sumner J. S., Fennell T. R. Review of the metabolic fate of styrene // *Crit. Rev. Toxicol.* 1994. N 24. P. 11–33.

49. Terenzi F., Hui D. J., Merrick W. C., Sen G. C. Distinct induction patterns and functions of two closely related interferon-inducible human genes, ISG54 and ISG56 // *J. Biol. Chem.* 2006. N 281. P. 34064–34071.

50. Won-A J., Donggeun S., Do-Youn L., Eunil Lee, Chan-Wha Kim. Proteomic analysis of plasma proteins of workers exposed to benzene. // *Mutation Research*. 2004. № 558. P. 35–44.

51. Yeowell-O'Connell K., Jin Z., Rappaport S. M. Determination of albumin and hemoglobin adducts in workers exposed to styrene and styrene oxide // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1996. N 5. P. 205–215.

52. Yongyi Bi, Yuhong Li, Mengmeng Kong, Xiao Xiao, Zhiwei Zhao, Xiaoqing He, Qiang Ma. Gene expression in benzene-exposed workers by microarray analysis of peripheral mononuclear blood cells: Induction and silencing of CYP4F3A and regulation of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in DNA double strand break repair // *Chemico-Biological Interactions*. 2010. N 184(1–2). P. 207–211.

53. Yoon B. I., Hirabayashi Y., Kawasaki Y. et al. Aryl hydrocarbon receptor mediates benzene-induced hematotoxicity // *Toxicol. Sci.* 2002. N 7. P. 150–156.

54. Zhang L., Eastmond D. A., Smith M. T. The nature of chromosomal aberrations detected in humans exposed to benzene // *Crit. Rev. Toxicol.* 2002. N 32. P. 1–42.

55. Zhang L., Rothman N., Wang Y. et al. Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene // *Carcinogenesis*. 1998. N 19. P. 1955–1961.

56. Zhang L., Smith M., Bandy B., Tamaki S. J., Davidson A. J. Role of Quinones, active oxygen species and metals in the genotoxicity of 1,2,4-benzenetriol, a metabolite of benzene. H. Nhol, H. Esterbauer, C. Rice-Evans (Eds.) // *Free Radicals in the Environment, Medicine and Toxicology*. Richelieu, London. 1994. P. 521–562.

57. Zhenlie H., Hailan W., Hanlin H., Lihua X., Cishan Ch., Xinxiang Q., Jiabin Ch., Susheng Ch., Weihui L., Ming H., Li L., Qianling Zh., Banghua Wu, Guanchao L. iTRAQ-based proteomic profiling of human serum reveals down-regulation of basic protein and apolipoprotein B100 in patients with hematotoxicity platelet by chronic occupational benzene exposure induced. // *Toxicology*. 2012. N 291. P. 56–64.

58. Zong W. X., Lindsten T., Ross A. J., MacGregor G. R., Thompson C. B. BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak // *Genes Dev.* 2001. N 15. P. 1481–1486.

References

1. Bandman A. L., Vojtenko G. A., Volkova N. V. i dr. *Vrednye himicheskie veshhestva. Galogen- i kislorodsoderzhashhie organicheskie soedineniya: spravocnoe izdanie / pod red. V. A. Filova i dr.* [Harmful chemical substances. Halogen- and oxygenated organic compounds: a reference edition. Ed. V. A. Filov et al.] Saint Petersburg, 1994, p. 688. [in Russian]

2. GOST 12.1.007-76. *Sistema standartov bezopasnosti truda. Vrednye veshhestva. Klassifikacija i obshhie trebovaniya bezopasnosti* [GOST 12.1.007-76. System of labor safety standards. Harmful substances. Classification and General safety requirements]. Moscow, 2002. [in Russian]

3. Kucenko S. A. *Osnovy toksikologii* [The basics of toxicology]. Saint Petersburg, 2004, p. 720. [in Russian]

4. Onishhenko G. G., Zajceva N. V., Zemljanova M. A. *Gigienicheskaja indikacija posledstvij dlja zdorov'ja pri vneshnesredovoj jekspozicii himicheskikh faktorov* [Hygienic indication of the consequences for human health in the case of external environment exposure of chemical factors]. Perm, 2001, p. 124. [in Russian]

5. Al-Ghamdi S. S., Raftery M. J., Yaqoob M. M. Organic solvent-induced proximal tubular cell toxicity via caspase-3 activation. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 2003, no. 41, pp. 967–971.

6. Al-Ghamdi Saeed S., Raftery Martin J., Yaqoob Muhammad M. Acute solvent exposure induced activation of cytochrome P4502E1 causes proximal tubular cell necrosis by oxidative stress. *Toxicology in Vitro*. 2003, no. 17(3), pp. 335–341.

7. Al-Ghamdi Saeed S., Raftery Martin J., Yaqoob Muhammad M. Organic solvent-induced proximal tubular cell apoptosis via caspase-9 activation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2004, no. 16(3), pp. 147–152.

8. Atkinson T. J. A review of the role of benzene metabolites and mechanisms in malignant transformation: summative evidence for a lack of research in nonmyelogenous cancer types. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2009, no. 212(1), pp. 1–10.

9. Barreto George, Madureira Diego, Capani Francisco, Aon-Bertolino Laura, Saraceno Ezequiel, Lisandro Diego

Alvarez-Giraldez. The Role of Catechols and Free Radicals in Benzene Toxicity: An Oxidative DNA Damage Pathway. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2009, no. 50, pp. 771–780.

10. Chen K., Gunter K., Maines M. D. Neurons overexpressing heme oxygenase-1 resist oxidative stress-mediated cell death. *J. Neurochem.* 2000, no. 75, pp. 304–313.

11. Croute F., Gaubin Y., Beau B., Simon V., Murat J. C., Soleilhavoup J. P. Volatile organic compounds cytotoxicity and expression of HSP72, HSP90 and GRP78 stress proteins in cultured human cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2002, no. 1591, pp. 147–155.

12. Eastmond David A., Mondrala Scott T., Hasegawa Leslie. Topoisomerase II inhibition by myeloperoxidase-activated hydroquinone: A potential mechanism underlying the genotoxic and carcinogenic effects of benzene. *Chemico-Biological Interactions*. 2005, no. 153–154, pp. 207–216.

13. Fischäder G., Röder-Stolinski C., Wichmann G., Nieber K., Lehmann I. Release of MCP-1 and IL-8 from lung epithelial cells exposed to volatile organic compounds. *Toxicology in Vitro*. 2008, no. 22(2), pp. 359–366.

14. Forrest Matthew S., Lan Qing, Hubbard Alan E., Zhang Luoping, Vermeulen Roel, Zhao Xin, Li Guilan, Wu Yen-Ying, Shen Min, Yin Songnian, Chanock Stephen J., Rothman Nathaniel, Smith Martyn T. Discovery of Novel Biomarkers by Microarray Analysis of Peripheral Blood Mononuclear Cell Gene Expression in Benzene-Exposed Workers. *Environmental Health Perspectives*. 2005, no. 113(6), pp. 801–807.

15. Gillis Bruce, Gavin Igor M., Arbieva Zarema, King Stephen T., Jayaraman Sundararajan, Prabhakar Bellur S. Identification of human cell responses to benzene and benzene metabolites. *Genomics*. 2007, no. 90, pp. 324–333.

16. Giuliano Mariateresa, Stellavato Antonietta, Cammarota Marcella, Lamberti Monica, Miraglia Nadia, San-nolo Nicola, De Rosa Mario. Effects of low concentrations of benzene on human lung cells in vitro. *Toxicology Letters*. 2009, no. 188, pp. 130–136.

17. Hartwig Andrea. The role of DNA repair in benzene-induced carcinogenesis. *Chemico-Biological Interactions*. 2010, no. 184(1–2), pp. 269–272.

18. IARC Monographs on Evaluation Carcinogenic Risks in Humans, in: IARC (Ed.), *Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphtalene and Styrene*. IARC, Lyon, 2002, no. 82, pp. 437–522.

19. IARC, Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Printing processes (Occupational exposure Group 2B) and printing inks (Group 3). *International Agency for Research on Cancer*. 1996, no. 65, pp. 33–149.

20. IARC, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Toluene, Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide. *Agency for Research on Cancer*, World Health Organization, Lyon, 1999, no. 71, pp. 829–864.

21. IARC, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Xylenes, Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide. *Agency for Research on Cancer*, World Health Organization, Lyon, 1999, no. 71, pp. 1189–1208.

22. Lafion B., Pasaro E., Mendez J. Effects of styrene-7,8-oxide over p53, p21, bcl-2 and bax expression in human lymphocyte cultures. *Mutagenesis*. 2001, no. 16(2), pp. 127–132.

23. Lindbohm M. L., Taskinen H., Sallmen M., Hemminki K. Spontaneous abortions among women exposed to organic solvents. *Am. J. Ind. Med.* 1990, no. 17, pp. 449–463.

24. McHale Cliona M., Zhang Luoping, Lan Qing, Li Guilan, Hubbard Alan E., Forrest Matthew S., Vermeulen Roel, Chen Jinsong, Shen Min, Rappaport Stephen M., Yin Songnian, Smith Martyn T., Rothman Nathaniel. Changes in the peripheral blood transcriptome associated with occupational benzene exposure identified by cross-comparison on two microarray platforms. *Genomics*. 2009, no. 93(4), pp. 343-349.
25. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Overall Evaluations of Carcinogenicity. *International Agency for Research on Cancer (IARC)*. 1987. An Updating of IARC Monographs.
26. Mörbt Nora, Mögel Iljana, Kalkhof Stefan, Feltens Ralph, Röder-Stolinski Carmen, Zheng Jiang, Vogt Carsten, Lehmann Irina, von Bergen Martin. Proteome changes in human bronchoalveolar cells following styrene exposure indicate involvement of oxidative stress in the molecular-response mechanism. *PROTEOMICS*. 2009, no. 9(21), pp. 4920-4933.
27. Nakajima T., Wang R. S., Elovaara E. et al. CYP2C11 and CYP2B1 are major cytochrome P450 forms involved in styrene oxidation in liver and lung microsomes from untreated rats, respectively. *Biochem. Pharmacol.* 1994, no. 48, pp. 637-642.
28. Otterbein L. E., Soares M. P., Yamashita K., Bach F. H. Heme oxygenase-1: unleashing the protective properties of heme. *Trends Immunol.* 2003, no. 24, pp. 449-455.
29. Ouyang Y., Virasch N., Hao P. et al. Suppression of human IL-1 beta, IL-2, IFN-gamma, and TNF-alpha production by cigarette smoke extracts. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000, no. 106, pp. 280-287.
30. Park K., Cho S. Y., Kim H., Paik Y. Proteomic alterations of the variants of human aldehyddehydrogenase isozymes correlate with hepatocellular carcinoma. *Int. J. Cancer*. 2002, no. 97, pp. 261-265.
31. Paustenbach D. J., Bass R. D., Price P. Benzene toxicity and risk assessment, 1972-1992: implications for future regulation. *Environ. Health Perspect. Suppl.*, 1993, no. 101, pp. 177-200.
32. Pedersen-Bjergaard J., Andersen M. K., Andersen M. T., Christiansen D. H. Genetics of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2008, no. 22, pp. 240-248.
33. Rappaport S. M., Yeowell-O'Connell K. Protein adducts as dosimeters of human exposure to styrene, styrene-7,8-oxide, and benzene. *Toxicology Letters*. 1999, no. 108, pp. 117-126.
34. Ross D., Siegel D., Schattenberg D. G., Sun X. M., Moran J. L. Cell-specific activation and detoxification of benzene metabolites in mouse and human bone marrow: identification of target cells and a potential role for modulation of apoptosis in benzene toxicity. *Environ. Health Perspect.* 1996, no. 104(6), pp. 1177-1182.
35. Ross David. Functions and distribution of NQO1 in human bone, pp. 137-146.
36. Rueff José, Teixeira João P., Silva Santos Luís, Gaspar Jorge Francisco. Genetic effects and biotoxicity monitoring of occupational styrene exposure. *Clinica Chimica Acta*. 2009, no. 399(1-2), pp. 8-23.
37. Sailendra Nath Sarma, Youn-Jung Kim, Jae-Chun Ryu. Gene expression profiles of human promyelocytic leukemia cell lines exposed to volatile organic compounds. *Toxicology*. 2010, no. 271(3), pp. 122-130.
38. Sailendra Nath Sarma, Youn-Jung Kim, Mee Song, Jae-Chun Ryu. Induction of apoptosis in human leukemia cells through the production of reactive oxygen species and activation of HMOX1 and Noxa by benzene, toluene, and o-xylene. *Toxicology*. 2011, no. 280(3), pp. 109-117.
39. Shield A. J., Sanderson B. J. S. Role of glutathione-S-transferase mu (GSTM1) in styrene-7,8-oxide toxicity and mutagenicity. *Environ. Mol. Mutagen.* 2001, no. 37, pp. 285-289.
40. Shield Alison J., Sanderson Barbara J. S. A recombinant model for assessing the role of GSTM1 in styrene-7,8-oxide toxicity and mutagenicity. *Toxicology*. 2004, no. 195(1), pp. 61-68.
41. Sliwinska-Kowalska M., Prasher D., Rodrigues C. A., Zamyslowska-Szmytko E., Campo P., Henderson D., Lund S. P., Johnson A. C., Schaper M., Odkvist L., Starck J., Toppila E., Schneider E., Moller C., Fuente A., Gopal K. V. Ototoxicity of organic solvents - from scientific evidence to health policy. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2007, no. 20, pp. 215-222.
42. Smith M. T. The mechanism of benzene-induced leukemia: a hypothesis and speculations on the causes of leukemia. *Environ. Health Perspect.* 1996, no. 104(6), pp. 1219-1225.
43. Smith M. T., Zhang L., Wang Y. et al. Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene. *Cancer Res.* 1998, no. 58, pp. 2176-2181.
44. Smith M. T., Zhang L., Wang Y., Hayes R. B., Li G., Wiemels J., Dosemeci M., Titenko-Holland N., Xi L., Kolachana P., Yin S., Rothman N. Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene. *Cancer Res.* 1998, no. 58, pp. 2176-2181.
45. Snyder R., Hedli C. C. An overview of benzene metabolism. *Environ. Health Perspect.* 1996, no. 104(6), pp. 1165-1171.
46. Spataro Giovanna, Saitta Salvatore, Cimino Francesco, Sapienza Daniela, Quattrocchi Paolina, Carrieri Mariella, Barbaro Mario, Saija Antonella, Gangemi Sebastiano. Increased serum levels of advanced oxidation protein products and glycation end products in subjects exposed to low-dose benzene. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2012, no. 215(3), pp. 389-392.
47. Subrahmanyam V. V., Ross D., Eastmond D. A., Smith M. T. Potential role of free radicals in benzene-induced myelotoxicity and leukemia. *Free Radic. Biol. Med.* 1991, no. 11, pp. 495-515.
48. Sumner J. S., Fennell T. R. Review of the metabolic fate of styrene. *Crit. Rev. Toxicol.* 1994, no. 24, pp. 11-33.
49. Terenzi F., Hui D. J., Merrick W.C., Sen G. C. Distinct induction patterns and functions of two closely related interferon-inducible human genes, ISG54 and ISG56. *J. Biol. Chem.* 2006, no. 281, pp. 34064-34071.
50. Won-A Joo, Donggeun Sul, Do-Youn Lee, Eunil Lee, Chan-Wha Kim. Proteomic analysis of plasma proteins of workers exposed to benzene. *Mutation Research*. 2004, no. 558, pp. 35-44.
51. Yeowell-O'Connell K., Jin Z., Rappaport S. M. Determination of albumin and hemoglobin adducts in workers exposed to styrene and styrene oxide. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1996, no. 5, pp. 205-215.
52. Yongyi Bi, Yuhong Li, Mengmeng Kong, Xiao Xiao, Zhiwei Zhao, Xiaoqing He, Qiang Ma. Gene expression in benzene-exposed workers by microarray analysis of peripheral mononuclear blood cells: Induction and silencing of CYP4F3A and regulation of DNA-dependent protein kinase catalytic sub-

unit in DNA double strand break repair. *Chemico-Biological Interactions*. 2010, no. 184(1-2), pp. 207-211.

53. Yoon B.I., Hirabayashi Y., Kawasaki Y. et al. Aryl hydrocarbon receptor mediates benzene-induced hematotoxicity. *Toxicol. Sci.* 2002, no. 7, pp. 150-156.

54. Zhang L., Eastmond D.A., Smith M.T. The nature of chromosomal aberrations detected in humans exposed to benzene. *Crit. Rev. Toxicol.* 2002, no. 32, pp. 1-42.

55. Zhang L., Rothman N., Wang Y. et al. Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene. *Carcinogenesis*. 1998, no. 19, pp. 1955-1961.

56. Zhang L., Smith M., Bandy B., Tamaki S. J., Davison A. J. Role of Quinones, active oxygen species and metals in the genotoxicity of 1,2,4-benzenetriol, a metabolite of benzene. H. Nhol, H. Esterbauer, C. Rice-Evans (Eds.). *Free Radicals in the Environment, Medicine and Toxicology*. Richelieu, London, 1994, pp. 521-562.

57. Zhenlie Huang, Hailan Wang, Hanlin Huang, Lihua Xia, Cishan Chen, Xinxiang Qiu, Jiabin Chen, Susheng Chen, Weihui Liang, Ming Huang, Li Lang, Qianling Zheng, Banghua Wu, Guanchao Lai. iTRAQ-based proteomic profiling of human serum reveals down-regulation of basic protein and apolipoprotein B100 in patients with hematotoxicity platelet by chronic occupational benzene exposure induced. *Toxicology*. 2012, no. 291, pp. 56-64.

58. Zong W. X., Lindsten T., Ross A. J., MacGregor G. R., Thompson C. B. BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2

family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak. *Genes Dev.* 2001, no. 15, pp. 1481-1486.

HUMAN PROTEIN BLOOD COUNT DISORDERS UNDER IMPACT OF AROMATIC HYDROCARBONS

N. V. Zaytseva, M. A. Zemlyanova, A. V. Tarantin

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia

The review considers the influence of the most common aromatic hydrocarbons (benzene, toluene, styrene, xylene) polluting the environment and being a risk factor for various health disorders, including metabolic changes in the protein profile of the human body.

Keywords: proteome, protein markers, benzene, toluene, xylene, styrene, environmental exposure

Контактная информация:

Землянова Марина Александровна — доктор медицинских наук, зав. отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

Адрес: 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, д. 82.

Тел. (342) 236-39-30

E-mail: zem@fcrisk.ru