

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТВЕРДЫХ ЧАСТИЦ С РАЗНЫМ АЭРОДИНАМИЧЕСКИМ ДИАМЕТРОМ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

© 2021 г. А. Г. Титова, И. А. Заняткин, А. Г. Волкова, Д. Н. Нечаев, Г. А. Трусов

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»  
Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России), г. Москва

Основной задачей представленной аналитической работы является описание и характеристика выявленных в ходе клинических исследований эпигенетических маркеров, ассоциированных с воздействием некоторых поллютантов на организм человека, а именно твердых частиц с разным аэродинамическим диаметром ( $PM_{0,1}$ ,  $PM_{2,5}$ ,  $PM_{10}$ ,  $PM_{2,5-10}$ ), к которым сорбируются различные химические соединения. Целью проведенной работы было сформировать обобщенный перечень наиболее информативных биомаркеров, обнаруживаемых у человека. Практическая значимость созданного перечня из более чем полутора сотен эпигенетических сигнатур воздействия поллютантов на организм человека заключается в возможности разработки на его основе методологического подхода, который можно будет использовать для ранней диагностики заболеваний у людей, подвергшихся токсическому воздействию различных загрязнителей окружающей среды, в частности твердых частиц. Кроме того, данная работа может стать предпосылкой для разработки принципиально новых систем очистки воздуха.

*Ключевые слова:* эпигенетика, экология, биомаркеры, заболевания, загрязняющие вещества, биофизика

## EPIGENETIC MARKERS OF THE INFLUENCE OF PARTICULATE MATTER WITH DIFFERENT AERODYNAMIC DIAMETERS ON HUMAN HEALTH: A REVIEW

A. G. Titova, I. A. Zanyatkin, A. G. Volkova, D. N. Nechaev, G. A. Trusov

Federal State Budgetary Institution Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks  
of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

In this review article we provide an overview of epigenetic markers associated with the effects of particulate matter with different aerodynamic diameters, namely,  $PM_{0,1}$ ,  $PM_{2,5}$ ,  $PM_{10}$  and  $PM_{2,5-10}$ . The developed list of more than 150 epigenetic signatures of environmental pollutants on different human health conditions may contribute to the development of novel methodological approaches to early detection of diseases in individuals exposed to particulate matter. In addition, this work can become a prerequisite for the development of fundamentally new air purification systems.

*Key words:* epigenetics, ecology, biomarkers, diseases, pollutants, biophysics

### Библиографическая ссылка:

Титова А. Г., Заняткин И. А., Волкова А. Г., Нечаев Д. Н., Трусов Г. А. Эпигенетические маркеры воздействия твердых частиц с разным аэродинамическим диаметром на здоровье человека: обзор литературы // Экология человека. 2021. № 5. С. 4–12.

### For citing:

Titova A. G., Zanyatkin I. A., Volkova A. G., Nechaev D. N., Trusov G. A. Epigenetic Markers of the Influence of Particulate Matter with Different Aerodynamic Diameters on Human Health: a Review. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2021, 5, pp. 4-12.

Эпигенетика изучает обратимые изменения областей генома, которые участвуют в регуляции дифференциальной экспрессии генов и происходят в результате негенетических изменений в основной ДНК.

Выделяют несколько основных механизмов регуляции экспрессии генов. Самый распространенный механизм — метилирование ДНК — представляет собой ковалентное присоединение метильной ( $-CH_3$ ) группы к остатку цитозина, находящемуся в последовательности рядом с гуанином (так называемые CpG-островки, в которых р представляет собой фосфодиэфирную связь между основаниями С и G), и влияет на экспрессию генов в клетках. Другой широко известный механизм — модификация гистонов, при которой влияние на экспрессию генов происходит путем привлечения комплексов ремоделирования

хроматина при связывании белков-активаторов с соответствующими энхансерами или при ацетилировании остатков лизина на «хвостах» гистонов, которые катализируются гистонацетилтрансферазами. Ремоделирование хроматина осуществляется за счет внесения посттрансляционных модификаций, таких как ацетилирование, убиквитинилирование, сумоилирование, метилирование, фосфорилирование, и других [26].

Разные типы клеток и тканей человека содержат эпигенотипы, которые могут неоднократно изменяться в течение жизни. Существует множество исследований, направленных на поиск эпигенетических изменений в организме человека, возникающих в результате воздействия загрязняющих веществ и других факторов окружающей среды, включая влияние твердых частиц.

Предложенный обзор описывает некоторые из выявленных у человека эпигенетических сигнатур, связанных с воздействием поллютантов.

Загрязняющие вещества воздействуют на организм человека с различной степенью эффективности в зависимости от экспозиции, вследствие чего эпигенетические сигнатуры могут являться характеристическими маркерами, определяющими данные воздействия.

Данный литературный обзор посвящен одной из актуальных тем в эпигенетике — анализу существующих доказательств того, что последствия длительного или разового, но чрезмерно превышающего предельно допустимые концентрации воздействия поллютантов на организм человека могут приводить к развитию различных заболеваний как в краткосрочной (воспаления, ОРВИ), так и в долгосрочной (онкологические новообразования, аллергии, аутоиммунные заболевания) перспективах, так как основной точкой влияния на здоровье людей являются эпигенетические модификации генома.

Согласно данным исследований загрязнение воздуха может быть связано примерно с 19 % общей смертности от сердечно-сосудистых заболеваний, из которых 23 % случаев смерти приходится на ишемическую болезнь сердца и 21 % случаев — на инсульт [21].

Твердые частицы образуются в результате преобразования под воздействием факторов окружающей среды: продуктов горения в промышленной отрасли, автомобильных выхлопов и других следов жизнедеятельности человека, и представляют собой гетерогенную смесь, которая является одним из основных источников загрязнения воздуха наряду с пылью, грязью, сажей, дымом.

Общепринятой считается градация твердых частиц (particulate matter, PM) по величине аэродинамического диаметра: ультрадисперсные ( $PM_{0,1}$ ) с диаметром меньше или равным 0,1 мкм, мелкодисперсные ( $PM_{2,5}$ ) с диаметром меньше или равным 2,5 мкм, крупные ( $PM_{10}$ ) — до 10 мкм включительно. Кроме того, в ряде работ рассматриваются твердые частицы в диапазоне от 2,5 до 10 мкм ( $PM_{2,5-10}$ ). В данном случае под аэродинамическим диаметром понимается диаметр частицы с плотностью 1 г/см<sup>3</sup>, движущейся при аналогичных условиях с той же скоростью, что и рассматриваемая частица.

Известно, что  $PM_{2,5-10}$  вызывают локальное воспаление в легких, однако отсутствуют убедительные доказательства того, что целые частицы могут откладываться в кровеносных сосудах. Тем не менее можно предположить, что более мелкие компоненты частиц могут попадать в кровоток. Результаты недавнего исследования на здоровых добровольцах показали, что вдыхаемые наночастицы золота размером 10 нм перемещаются в кровоток и избирательно накапливаются в той части сосудистой стенки, в которой происходит воспалительный процесс [11]. Кроме того, недавно было показано, что частицы черного углерода могут быть обнаружены в моче [28].

Несмотря на то, что воздействие твердых частиц неизменно связано с рядом негативных последствий для здоровья человека, затрагивающих в первую очередь дыхательную и сердечно-сосудистую системы, биологические механизмы, лежащие в основе этой связи, выяснены лишь частично. В этом контексте можно предположить, что эпигенетические механизмы играют центральную роль не только как соответствующие элементы развития патогенного механизма, но и как факторы адаптации организма к раздражителям окружающей среды, таким как загрязнители воздуха.

#### *Изучение последствий долгосрочных и краткосрочных воздействий PM*

В одном из исследований была изучена связь между долгосрочным влиянием  $PM_{2,5}$  и метилированием ДНК. Было измерено метилирование в LINE-1 и в кандидатных CpG-островках, связанных с воспалительными путями TNF- $\lambda$  и TLR-2, в ICAM-1, CD40L, IL-6. Данная работа проводилась на двух подгруппах, выбранных из общенационального проспективного исследования женщин в США. Для оценки долгосрочных последствий были использованы метод наименьших квадратов и модель квантильной регрессии, показавшие взаимосвязь воздействия  $PM_{2,5}$  с уменьшением метилирования ДНК [36].

Ранее уже была подтверждена взаимосвязь воздействия твердых частиц с краткосрочными последствиями, такими как развитие воспалительных процессов [35]. В этом исследовании было также обнаружено, что при увеличении экспозиции  $PM_{2,5}$  снижается метилирование LINE-1 и TNF- $\lambda$  (сайт cg21370522), ICAM-1 и TLR-2 (сайты cg16547110 и cg06405222) при долгосрочных последствиях, таких как развитие атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний [36].

#### *Исследование влияния PM на старение кожи*

В другой работе изучали влияние  $PM_{2,5}$  на старение кожи. Являясь внешним покровом человеческого тела, кожа постоянно подвергается воздействию раздражителей, таких как твердые частицы. Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), присоединяясь к твердым частицам, вызывают респираторные заболевания, сердечно-сосудистые заболевания, аллергию, воспалительный дерматит, экзему и старение кожи [27].

Опухоль-супрессорный белок p16<sub>INK4A</sub> является ключевым регулятором, блокирующим клеточный цикл и функционирующим как специфический ингибитор циклинзависимых киназ (CDK) 4 и 6. Удаление p16<sub>INK4A</sub>-позитивных стареющих клеток может приводить к замедлению развития возрастных дегенеративных расстройств. Исследования проводили на клеточных линиях кератиноцитов человека HaCaT, HEK001 и NHEK, которые были обработаны  $PM_{2,5}$ . Затем в обработанных клетках определялась активность  $\beta$ -галактозидазы, кроме того, было обнаружено увеличение уровня экспрессии p16<sub>INK4A</sub>, что опосредует изме-

нение ДНК-деметиلاзы TET и высвобождение DNMT (ДНК-метилтрансфераза). Следствием этих изменений является усиление процесса клеточного старения, которое проявляется в виде изменения формы клеток и уменьшения колониобразующей способности клеток [27]. В кератиноцитах HaCaT при взаимодействии с  $PM_{2.5}$  индуцируется окислительный стресс и выработка провоспалительных цитокинов посредством активации NF- $\kappa$ B. В результате исследования было доказано, что воздействие  $PM_{2.5}$  вызывает старение кератиноцитов и повреждение клеток, обусловленное окислительными и воспалительными реакциями [25, 27].

#### *Влияние воздействия $PM_{2.5}$ на канцерогенез в легких у некурящих людей*

В ряде работ проводилось изучение влияния воздействия твердых частиц на канцерогенез в легких у некурящих людей. Работы проводились на клеточных линиях рака легкого NCI-H23 и на эпителиальных клеточных линиях легких A549. Обнаружено, что воздействие  $PM_{2.5}$  провоцирует онкогенез в легких посредством восстановления 15-LOX-1 и 15-LOX-2 (15-липоксигеназы), аналогично воздействию канцерогенов NNK (4-метилнитрозамино-1- $\beta$ -пиридилбутанон) во время курения. Клеточные линии обрабатывали NNK или  $PM_{2.5}$ , а затем проводили эпигенетические и посттранскрипционные исследования клеточных и молекулярных профилей клеток [22].

Показано, что твердые частицы вызывают эпигенетические изменения, в том числе нарушение регуляции микроРНК, метилирование ДНК и повышение уровня цитокинов. Кроме того, воздействие  $PM_{2.5}$  значительно усиливает пролиферацию клеток [13, 18]. Полученные с применением ПЦР в реальном времени данные позволяют сделать вывод о том, что некоторые микроРНК могут быть связаны с 15-LOX-1 и 15-LOX-2, в частности miR-17, miR-18a, miR-20a, miR-20b, miR-93, miR-106a, miR-106b, miR-203, miR-590-3p. Возможно, указанные микроРНК являются отрицательными регуляторами 15-LOXs [22].

Ряд работ посвящен оценке влияния  $PM_{2.5}$  на прогрессирование рака легкого. Известно, что микроРНК-155 (miR-155) играет важную роль в развитии патологических процессов при различных злокачественных новообразованиях, в частности нарушение регуляции miR-155 способствует дифференцировке T-клеток, развитию эпителиально-мезенхимального перехода, повышению выживаемости опухолевых клеток, нарушению энергетического обмена. Была исследована роль miR-155 в токсическом воздействии  $PM_{2.5}$  на клетку. В результате исследования было показано, что воздействие  $PM_{2.5}$  повышает уровень экспрессии микроРНК-155, ускоряет клеточный цикл и пролиферацию эпителиальных клеток легких [38]. Неконтролируемая пролиферация эпителиальных клеток способствует развитию хронических воспалительных заболеваний легких и стимуляции канцерогенеза [1].

Активация miR-155 вызывает ускорение перехода между фазами G1/S, что способствует пролиферации

клеток HBE и аберрантной пролиферации клеток через сигнальный путь SOCS1/STAT3 — этот процесс носит NF- $\kappa$ B-зависимый характер [38]. Мишенью для miR-155 является SOCS1, также происходит активация сигнального белка STAT3, которая положительно регулирует свои функции путем усиления miR-155. STAT3 является фактором транскрипции, вовлеченным в пролиферацию клеток, апоптоз, иммунный ответ и метастазирование [16].

#### *Исследование влияния PM на организм человека при курении*

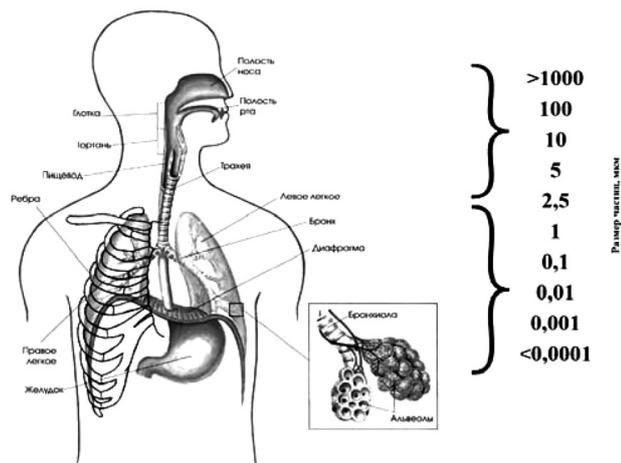
Для изучения уровня метилирования ДНК у людей, проживающих в районах с разными концентрациями  $PM_{2.5}$ , были сформированы когорты по статусу курения. Известно, что гипометилирование гена репрессора арилуглеводородного рецептора (AHRR) провоцирует нарушения метаболизма ксенобиотических частиц, таких как компоненты сигаретного дыма, и ассоциировано с курением и риском развития рака легкого.  $PM_{2.5}$  представляет собой сложную химическую смесь, одним из компонентов которой являются ПАУ [32]. Воздействие ПАУ активирует арильный углеводородный рецептор (AHR), что приводит к метилированию AHRR (сайт cg05575921) [23]. Метилирование сайта cg05575921 может служить маркером для определения статуса курения, обладающим высокой специфичностью и чувствительностью [10].

В результате исследования была выявлена обратная корреляция между длительным воздействием  $PM_{2.5}$  и уровнем метилирования AHRR (сайт cg05575921) в крови. Таким образом, гипометилирование AHRR у некурящих людей может служить показателем длительного воздействия  $PM_{2.5}$  и предиктором риска развития злокачественных новообразований легких [32].

#### *Воздействие твердых частиц с разным аэродинамическим диаметром на организм человека*

Твердые частицы попадают в организм через дыхательные пути, и размеры частиц влияют на уровень проникновения в легкие: PM с аэродинамическим диаметром менее 10 мкм проникают в бронхи; PM с аэродинамическим диаметром меньше 2,5 мкм достигают альвеол. Примерная схема приведена на рисунке.

В одном из исследований одновременно было изучено влияние воздействия  $PM_{2.5}$ ,  $PM_{10}$ ,  $PM_{2.5-10}$  на метилирование ДНК. По результатам исследования были выявлены корреляции между воздействием PM и уровнем метилирования для трех сайтов CpG: прямая корреляция с уровнем метилирования гена MATN4 (сайт cg19004594) и гена ARPP21 (сайт cg24102420) и обратная корреляция с уровнем метилирования гена CFTR (сайт cg12124767). MATN4 высоко экспрессируется в клетках поджелудочной железы и кожи, однако статистически значимой связи между вариантами этого гена и риском развития заболеваний выявлено не было. ARPP21 экспрессируется в первую очередь в мозге. Этот ген в значительной степени ассоциирован с риском развития невролиза и с тя-



Глубина проникновения твердых частиц в дыхательные пути в зависимости от их аэродинамического диаметра (в микрометрах — мкм)

желым течением гриппа H1N1 и предположительно связан с риском развития астмы в детском возрасте. CFTR экспрессируется в клетках поджелудочной железы, толстого кишечника, малой слюнной железы, желудочно-кишечного тракта и в легких. Наличие полиморфизмов CFTR предполагает риск развития муковисцидоза, пищевода Барретта, рака пищевода и ишемической болезни сердца [20].

В рамках данного исследования по изучению метиломной ассоциации были обнаружены три сайта CpG, для которых более высокие уровни среднемесячных концентраций  $PM_{2.5-10}$  были связаны с метилированием ДНК. Было подтверждено, что факторы окружающей среды влияют на экспрессию CXCL12 — закодированного хемокина SDF1 и на активацию рецептора CXCR4, что приводит к увеличению пула гемопоэтических стволовых клеток. SDF1 активированный рецептор CXCR4 ингибирует приток кальция в клетку через кальциевые ионные каналы L-типа в миокарде [20].

В результате исследования было показано, что воздействие загрязнителей приводит к метилированию ДНК в областях генома, потенциально связанных с заболеваниями легких, с нарушениями в работе эндокринной и сердечно-сосудистой систем [20]. Обнаруженные ассоциации являются биологически значимыми, однако все еще требуется дополнительное изучение предполагаемых эпигенетических механизмов развития  $PM$ -ассоциированных заболеваний [15, 29].

#### Влияние загрязнителей на биологический возраст

В ряде работ изучалось влияние воздействия  $PM_{2.5}$  и  $PM_{10}$  на биологический возраст, при этом был проведен перекрестный анализ для оценки связи между загрязнением воздуха и ускорением биологического старения. Дополнительно проводились расчеты на моделях инвазивного рака молочной железы и протоковой карциномы *in situ*, по результатам которых в гене C7orf55 (сайт cg22920873) была выявлена обратная корреляция с увеличением  $PM_{10}$  [37].

Воздействие  $PM_{2.5}$  при концентрации 0,97 мкг/м<sup>3</sup> ассоциировано с увеличением биологического возраста женщин на ~ 0,3 года. Не было доказано влияние воздействия  $PM_{2.5}$  на увеличение биологического возраста мужчин. В то же время воздействие  $PM_{10}$  при концентрации 1 мкг/м<sup>3</sup> оказалось ассоциировано с увеличением биологического возраста мужчин, но влияние воздействия  $PM_{10}$  на увеличение биологического возраста женщин доказано не было [37]. Данные эффекты были установлены с использованием методов «Эпигенетические часы Хорвата» и «Эпигенетические часы Ханнума», при которых для определения биологического возраста учитывается 353 эпигенетических маркера человеческого генома. Эти эпигенетические биомаркеры старения входят в теорию «эпигенетических часов», согласно которой возрастное ускоренное метилирование ДНК свидетельствует об изменении внутренних биологических функций, что предрасполагает человека к развитию ряда возрастных заболеваний [17].

Дополнительно было проведено исследование влияния нескольких компонентов  $PM_{2.5}$ , а именно сульфатов, нитратов и аммония, на биологический возраст. Была определена прямая корреляция между воздействием сульфатов и аммония и увеличением биологического возраста [37].

В результате исследования было доказано, что ускорение биологического старения под воздействием загрязнителей связано с риском развития рака молочной железы. Также был предложен способ определения степени воздействия окружающей среды с применением комплексных подходов определения биологического возраста вместо изучения отдельных сайтов CpG [24, 37].

#### Изучение влияния ультрадисперсных твердых частиц на внутренние органы человека

В ряде работ было изучено воздействие  $PM_{0.1}$  на организм человека и способность этих частиц системно влиять на внутренние органы [8]. Воздействие  $PM_{0.1}$  ассоциировано с острыми и хроническими расстройствами различной этиологии, ослаблением митохондриальных функций и снижением их способности регулировать гомеостаз. Было показано, что воздействие ультрадисперсных твердых частиц вызывает значительное накопление фосфорилированного гистона H2AX в культивируемых клетках [9, 12].

Кроме того, окислительный стресс может индуцировать ДНК-связывающую и транскрипционную активность NF-kb антагониста Nrf-2. В свою очередь, истощение Nrf-2 способствует увеличению активности NF-kb, которая может стимулировать экспрессию генов, ангиогенез, метастазирование, пролиферацию клеток. Воздействие  $PM_{0.1}$  вызывает длительную активацию NF-kb и подавляет экспрессию miRNA-331, а также изменяет экспрессию let-7a, miRNA-16, miRNA-34a, miRNA-139, miRNA-146, miRNA-146a, miRNA-340. А переменная экспрессия miRNA-148a и miRNA-221 связана с модуляциями

DNMT1 и DNMT3b, которые оказывают влияние на метилирование ДНК [8].

В результате исследования было подтверждено влияние  $PM_{0,1}$  на метилирование гена LINE-1, а также генов IL-6 и TNF- $\lambda$  в культурах клеток. А также в ходе работы были исследованы следующие маркеры: let-7a, let-7b, let-7d, let-7e, miRNA-16, miRNA-24, miRNA-27, miRNA-29, miRNA-34, miRNA-34a, miRNA-126, miRNA-133, miRNA-139, miRNA-146, miRNA-146a, miRNA-148a, miRNA-152, miRNA-155, miRNA-221, miRNA-331, miRNA-340, H3K4me3, H3K9me3, H3K9me27, H3K9me36, H3K79me3, связанные с воздействием  $PM_{0,1}$  на внутренние органы человека [8, 9, 12, 34].

#### *Влияние PM на разных этапах жизни человека*

Ряд исследований посвящен изучению маркеров воздействия поллютантов PM на разные возрастные категории людей. Было показано негативное влияние твердых частиц на дыхательную систему и на увеличение риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Предполагается, что на разных жизненных стадиях воздействие PM имеет разную выраженность влияния на организм человека [19].

В результате исследования было подтверждено увеличение уровня метилирования ДНК под влиянием PM в следующих маркерах: при беременности – HSD11B2, SOD2, NPAS2, CRY1, PER2, PER3, MT-RNR1, PTPRN2, TMEM125, VPS4A, APEX1, OGG1, ERCC4, TP53, DAPK1; в детстве – FOXP3, FAM13A (сайт cg00905156), NOTCH4 (сайт cg06849931); во взрослом возрасте – IFN- $\gamma$ , p16<sub>INK4A</sub>, MT-TF, MT-RNR1, MATN4 (сайт cg19004594), ARPP21 (сайт cg24102420), CFTR (сайт cg12124767), а также сайты cg20455854, cg07855639, cg075998385, cg17360854 и cg23599683, CCDN2, BRCA1, DARK, H1N1, SYK, CCND2; в пожилом возрасте – IL-6, LINE-1. Было подтверждено уменьшение уровня метилирования ДНК под влиянием PM в следующих маркерах: в детстве – IL-4, IL-13, RUNX3, IFN- $\gamma$ , TET1; во взрослом возрасте – CD14, TLR4, NOS3, EDN1 [19].

В другом исследовании было изучено влияние на организм человека твердых частиц, в составе которых присутствуют неорганические ионы, такие как сульфаты, нитраты и аммоний, и тяжелые металлы, такие как цинк, ванадий и никель, а также ПАУ [31].

В результате экспериментов, проведенных на линиях клеток BEAS-2B, APC, RASSF1A, было доказано, что  $PM_{2,5}$  может вызывать метилирование генов-супрессоров, таких как p16 и p53, что способствует злокачественному перерождению клеток. Была выявлена статистически значимая корреляция между кратковременным воздействием  $PM_{2,5}$  и увеличением уровня метилирования в двух прокоагулянтных генах F3 и SERPINE1, а также в генах ACE и EDN1. Наличие цинка в PM статистически достоверно связано с метилированием гена RASSF1A. Метилирование генов репарации, таких как OGG1, APEX и PARP1, положительно коррелировало со специфически ассо-

циированными  $PM_{10}$ , в которых присутствует значимое количество ПАУ и ванадия [33].

#### *Исследование риска развития онкологических заболеваний с помощью метода эпигеномного скрининга*

В одном из исследований были изучены биомаркеры, характерные для рака легкого, развивающегося при воздействии PM с разным аэродинамическим диаметром. В ходе работы для оценки гетерогенности опухоли на начальных этапах был использован метод эпигеномного скрининга на основе жидкостной биопсии. В результате клинических и эпидемиологических исследований была установлена связь между воздействием PM и различными расстройствами желудочно-кишечного тракта, развитием астмы и рака легкого [7].

В результате исследований *in vitro* и *in vivo* было доказано, что метилирование генов, таких как RASSF1A, PRDM14, ZOST2, CDO1, HOX7, HOXA9, TAC1, ZFP42, PRSS3, p15, p16, p53, DARK, EGFR, KRAS, DCLK1, HOPX, Galactocerebroside-DASE, ELMO3, RAR- $\beta$ , RAR- $\beta$ 2, MGMT, SOX17, TMEFF2, CDH13, CHFR, модификация гистонов, таких как (MOF) MYST (Moc-Ybf2/Sas3-SAS2-Tip60), HDCA (сайт cg200745), PDE2A, H3K36, CDK6, NANOS1, KDM2A, H3K27me3, EZH2, и регуляция miRNAs, таких как miR-1, miR-1-5p, miR-9-3, miR-15, miR-17-92, miR-21, miR-21-5p, miR-26a, miR-26b, miR-29, miR-29b, miR-126, miR-129-2, miR-135b, miR-139, miR-142-3p, miR-149-5p, miR-155, miR-182, miR-192-5p/215, miR-193a, miR-200b, miR-203, miR-205, miR-212, miR-218, miR-221/222, miR-373, miR-375, miR-486, miR-487b, miR-503, miR-512, miR-542-3p, miR-1290, let-7, let-7b-5p, chr8\_28846, chrX\_31594, chr9\_29897, ассоциированы с канцерогенезом [6, 7, 14, 30].

#### *Возможная взаимосвязь влияния диеты и окружающей среды на эпигенетические биомаркеры и течение заболеваний*

Ряд исследований посвящен вопросу о том, может ли соблюдение средиземноморской диеты положительно влиять на взаимосвязь воздействия  $PM_{10}$  и метилирования LINE-1 [3].

Изучение рациона питания играет важную роль в оценке последствий воздействия  $PM_{10}$  на организм человека. Важную роль играет понимание того, как рацион питания может влиять на геноспецифическое метилирование ДНК [2–5].

Одним из доказательств того, что долгосрочное воздействие  $PM_{10}$  отрицательно связано с метилированием Alu и LINE-1, приводя к увеличению риска развития злокачественных новообразований и сердечно-сосудистых заболеваний, может быть исследование о модуляции алиментарными факторами воздействия окружающей среды, однако в данной работе авторы указывают на необходимость проведения дополнительных исследований, в том числе

необходимость разработки индивидуального подхода по моделированию наиболее благоприятных условий окружающей среды [3].

В рассмотренных исследованиях авторы демонстрируют факты, подтверждающие гипотезы о воздействии неблагоприятных экологических факторов, таких как влияние твердых частиц, которое может приводить к долгосрочным негативным последствиям для здоровья человека. В качестве наиболее изученных эпигенетических сигнатур можно выделить, например, изменения в LINE-1, miRNAs, p16 и в интерлейкинах.

Несмотря на то, что многие исследования посвящены изучению влияния РМ, сопоставить результаты этих работ не всегда представляется возможным. Например, в ряде исследований учитывают аэродинамический диаметр твердых частиц, но зачастую не отмечают точный состав поллютанта, который может варьировать в зависимости от разных факторов окружающей среды и включать различные количественные соотношения таких веществ, как сульфаты, нитраты, аммоний, оксиды азота, калий, сера, железо, кремний, алюминий, цинк, кальций, титан, ванадий, никель, хром, марганец, олово, сурьма, свинец, ПАУ, amino-ПАУ, нитро-ПАУ и другие. А в случае ретроспективного исследования биообразцы отбираются у людей, на которых одномоментно влияет большое количество различных поллютантов, и идентифицировать воздействие конкретного РМ может быть затруднительно. Также стоит учитывать индивидуальные привычки и миграцию людей, так как качественный и количественный состав загрязняющих веществ может отличаться даже в разных районах одного города. Таким образом, существует еще множество малоизученных факторов, которые необходимо учитывать при определении взаимосвязи между воздействием РМ и развитием различных заболеваний.

В предложенном обзоре были представлены работы, в которых изучались: эффект от долгосрочных и краткосрочных воздействий РМ, влияние РМ на канцерогенез в легких у некурящих и курящих людей, паттерны метилирования ДНК у людей, проживающих в районах с разными концентрациями РМ, воздействие ультрадисперсных твердых частиц и их способность транслоцировать и системно влиять на внутренние органы; определялись: влияние воздействия РМ на старение кожи человека, влияние воздействия РМ на биологический возраст человека, маркеры воздействия поллютантов РМ на протяжении разных этапов жизни человека, а также использование метода эпигеномного скрининга на основе жидкостной биопсии для определения эпигенетических сигнатур.

При дальнейшем изучении литературы и проведении ряда экспериментальных работ высока вероятность выявления определенного рода эффектов воздействия неблагоприятных факторов внешней среды на здоровье человека. Полученные результаты могут лечь в основу разработки принципиально новых критериев оценки загрязненности окружающей среды для создания инновационных систем очистительных сооружений.

Доказано, что загрязнение воздуха может приводить к развитию ряда значимых заболеваний, таких как атеросклероз и сердечно-сосудистые заболевания, хронические воспалительные заболевания легких, в том числе астма, аллергия, воспалительный дерматит, экзема, расстройства желудочно-кишечного тракта, метаболические, неврологические и аутоиммунные нарушения, неврологические и эндокринные заболевания, нейродегенеративные заболевания, муковисцидоз, а также может увеличивать риск развития различных злокачественных новообразований. Также доказано, что длительное воздействие РМ на людей во время их нахождения на рабочих местах приводит к развитию многих профессиональных заболеваний.

На основании анализа вышеописанных исследований стало возможным обобщить перечень биомаркеров с подтвержденной связью между воздействием твердых частиц на организм и риском развития различных заболеваний, который представлен в таблице.

На данный момент эпигенетика является активно развивающейся и перспективной наукой. В представленном обзоре сделан упор на анализ влияния дисперсных твердых частиц, взвешенных в атмосфере, которые могут попасть в организм через дыхательные пути.

Представлена информация о связи между известными эпигенетическими сигнатурами и заболеваниями, развивающимися у людей на фоне воздействия поллютантов. Кроме того, для некоторых сигнатур указаны точечные локусы, что редко удается найти в статьях в виде информации, изложенной открытым текстом.

Зачастую трудно прийти к однозначному выводу о том, какое влияние оказывают твердые частицы — положительное или отрицательное, так как в некоторых исследованиях приведены противоречивые данные. Это можно объяснить сложностью композиций РМ, разницей в продолжительности экспозиции, использованием различных маркеров в качестве объекта исследования или влиянием дополнительных факторов. Однако можно утверждать, что изучение эпигенетических механизмов и специфических маркеров у человека является перспективной областью исследований, так как будет способствовать более глубокому пониманию взаимосвязей между воздействием поллютантов на организм и риском развития заболеваний различной этиологии.

Важно отметить, что своевременное обнаружение эпигенетических сигнатур, ассоциированных с воздействием поллютантов, и формирование перечня маркеров могут способствовать развитию новых прогностических моделей заболеваний и использоваться для разработки и создания инновационных диагностических тест-систем.

В этом контексте основная цель будущих исследований, посвященных изучению влияния воздействия РМ на здоровье человека посредством модификаций метилирования ДНК, состоит в том, чтобы понять, являются ли изменения, постоянно наблюдаемые в

## Перечень биомаркеров, связанных с риском развития различных заболеваний

Аэродинамический диаметр твердых частиц	Маркер	Нозология
PM <sub>0,1</sub>	miRNA-331	Острые и хронические расстройства различной этиологии
	H3K4me3; H3K79me3; H3K9me27; H3K9me3; H3K9me36; IL-6; let-7a; let-7b; let-7d; let-7e; LINE-1; miRNA-126; miRNA-133; miRNA-139; miRNA-146; miRNA-146a; miRNA-148a; miRNA-152; miRNA-155; miRNA-16; miRNA-221; miRNA-24; miRNA-27; miRNA-29; miRNA-34; miRNA-340; miRNA-34a; TNF-	Другие патологические состояния
PM <sub>2,5</sub>	APEX1; ARPP21 – cg24102420; BRCA1; CCDN2; CCND2; CD14; CFTR cg12124767; cg075998385; cg07855639; cg17360854; cg20455854; cg23599683; CRY1; DAPK1; EDN1; ERCC4; FAM13A – cg00905156; FOXP3; H1N1; HSD11B2; IFN- ; IL-13; IL-4; MATN4 – cg19004594; MT-RNR1; MT-TF; NOS3; NOTCH4 – cg06849931; NPAS2; OGG1; PER2; PER3; PTPRN2; RUNX3; SOD2; SYK; TET1; TLR4; TMEM125; VPS4A	Сердечно-сосудистые заболевания, респираторные заболевания
	IL-6; LINE-1	Сердечно-сосудистые заболевания, респираторные заболевания, воспалительные процессы
	p16 <sub>INK4A</sub>	Сердечно-сосудистые заболевания, респираторные заболевания, дегенеративные расстройства
	DARK; TP53	Сердечно-сосудистые заболевания, респираторные заболевания, злокачественные новообразования
	(MOF) MYST (Moc-Ybf2/Sas3-SAS2-Tip60); 3OST2; CDH13; CDK6; CDO1; CHFR; chr8_28846; chr9_29897; chrX_31594; DCLK1; EGFR; ELMO3; EZH2; Galactocerebrosi-DASE; H3K27me3; H3K36; HDCA – cg200745; HOPX; HOX7; HOXA9; KDM2A; KRAS; let-7; let-7b-5p; MGMT; miR-487b; miR-1; miR-126; miR-1290; miR-129-2; miR-135b; miR-139; miR-142-3p; miR-149-5p; miR-15; miR-1-5p; miR-17-92; miR-182; miR-192-5p/215; miR-193a; miR-200b; miR-203; miR-205; miR-21; miR-212; miR-21-5p; miR-218; miR-221/222; miR-26a; miR-26b; miR-29; miR-29b; miR-373; miR-375; miR-486; miR-503; miR-512; miR-542-3p; miR-9-3; NANOS1; p15; p16; p53; PDE2A; PRDM14; PRSS3; RAR- ; RAR- 2; RASSF1A; SOX17; TAC1; TMEFF2; ZFP42	Злокачественные новообразования
	AHRR – cg05575921	Рак легкого
	miR-155	Хроническое воспалительное заболевание легких, злокачественные новообразования
	CD40L; ICAM-1; TLR-2; TLR-2 – cg16547110, cg06405222; TNF- ; TNF- – cg21370522	Воспалительные процессы.
ACE; APEX; EDN1; F3; miR-106a; miR-106b; miR-17; miR-18a; miR-20a; miR-20b; miR-590-3p; miR-93; PARP1; SERPINE1	Другие патологические состояния	
PM <sub>10</sub>	C7orf55 – cg22920873	Инвазивный рак молочной железы, протоковая карцинома, ускорение биологического старения
	LINE-1, Alu	Сердечно-сосудистые заболевания, злокачественные новообразования
PM (общие)	MATN4 – cg19004594	Заболевания поджелудочной железы и кожи
	ARPP21 – cg24102420	Заболевания центральной нервной системы, невротизм, тяжелое течение гриппа, астма в детском возрасте
	CFTR – cg12124767	Заболевания желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, толстой кишки, малой слюнной железы, заболевания легких, муковисцидоз, пищевод Барретта, рак пищевода, ишемическая болезнь сердца
	CXCL12	Увеличение пула гемопоэтических стволовых клеток

метиляции ДНК, предсказанием будущего риска или, скорее, отражением пластичности ДНК в ответ на воздействие окружающей среды, то есть формой адаптации. Комплексный и последовательный подход

к изменениям метилирования ДНК, связанный с воздействием РМ, может способствовать обоснованию кампаний вмешательств, направленных на снижение рисков для здоровья.

**Авторство**

Титова А. Г. подготовила первый вариант статьи, окончательно утвердила присланную в редакцию рукопись; Заняткин И. А., Волкова А. Г., Нечаев Д. Н. и Трусов Г. А. внесли существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретацию данных.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Титова Анастасия Германовна – ORCID 0000-0003-1822-9842; SPIN 1648-2007

Заняткин Иван Андреевич – ORCID 0000-0002-5010-4612; SPIN 5979-8614

Волкова Анастасия Геннадьевна – ORCID 0000-0003-2853-9529; SPIN 4678-5306

Нечаев Денис Николаевич – ORCID 0000-0003-0071-4866; SPIN 5361-3300

Трусов Георгий Александрович – ORCID 0000-0002-8922-6342; SPIN 5372-7607

**References**

1. Abbas I., Verdin A., Escande F., Saint-Georges F., Cazier F., Mulliez P., Garçon G. In vitro short-term exposure to air pollution PM2.5-0.3 induced cell cycle alterations and genetic instability in a human lung cell coculture model. *Environmental Research*. 2016, 147, pp. 146-158. DOI: 10.1016/j.envres.2016.01.041
2. Agodi A., Barchitta M., Quattrocchi A., Maugeri A., Canto C., Marchese A. E., & Vinciguerra M. Low fruit consumption and folate deficiency are associated with LINE-1 hypomethylation in women of a cancer-free population. *Genes & Nutrition*. 2015, 10 (5). DOI: 10.1007/s12263-015-0480-4
3. Barchitta M., Maugeri A., Quattrocchi A., Barone G., Mazzoleni P., Catalfo A., Agodi A. Mediterranean Diet and Particulate Matter Exposure Are Associated With LINE-1 Methylation: Results From a Cross-Sectional Study in Women. *Frontiers in Genetics*. 2018, 9. DOI: 10.3389/fgene.2018.00514
4. Barchitta M., Quattrocchi A., Maugeri A., Barone G., Mazzoleni P., Catalfo A., Agodi A. Integrated approach of nutritional and molecular epidemiology, mineralogical and chemical pollutant characterisation: the protocol of a cross-sectional study in women. *BMJ Open*. 2017, 7 (4), e014756. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-014756
5. Barchitta M., Quattrocchi A., Maugeri A., Vinciguerra M., & Agodi A. LINE-1 Hypomethylation in Blood and Tissue Samples as an Epigenetic Marker for Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS One*. 2014, 9 (10), e109478. DOI: 10.1371/journal.pone.0109478
6. Baylin S. B., & Jones P. A. A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications. *Nature Reviews Cancer*. 2011, 11 (10), pp. 726-734. DOI: 10.1038/nrc3130
7. Bhargava A., Bunkar N., Aglawe A., Pandey K. C., Tiwari R., Chaudhury K., Goryacheva I. Y., Mishra P. K. Epigenetic Biomarkers for Risk Assessment of Particulate Matter Associated Lung Cancer. *Current Cancer Drug Targets*. 2018, 19 (10), pp. 1127-1147. DOI: 10.2174/1389450118666170911114342
8. Bhargava A., Shukla A., Bunkar N., Shandilya R., Lodhi L., Kumari R., Mishra P. K. Exposure to ultrafine particulate matter induces NF- $\kappa$ B mediated epigenetic modifications. *Environmental Pollution*. 2019. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.05.065
9. Bhargava A., Tamrakar S., Aglawe A., Lad H., Srivastava R. K., Mishra D. K., Mishra P. K. Ultrafine

particulate matter impairs mitochondrial redox homeostasis and activates phosphatidylinositol 3-kinase mediated DNA damage responses in lymphocytes. *Environmental Pollution*. 2018, 234, pp. 406-419. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.11.093

10. Bojesen S. E., Timpson N., Relton C., Davey Smith G., & Nordestgaard B. G. AHRH (cg05575921) hypomethylation marks smoking behaviour, morbidity and mortality. *Thorax*. 2017, 72 (7), pp. 646-653. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2016-208789

11. Brook R. D., et al. Hemodynamic, autonomic, and vascular effects of exposure to coarse particulate matter air pollution from a rural location. *Environ Health Perspect*. 2014, 122 (6), pp. 624-630. DOI: 10.1289/ehp.13065954

12. Cantone L., Nordio F., Hou L., Apostoli P., Bonzini M., Tarantini L., Baccarelli A. Inhalable Metal-Rich Air Particles and Histone H3K4 Dimethylation and H3K9 Acetylation in a Cross-sectional Study of Steel Workers. *Environmental Health Perspectives*. 2011, 119 (7), pp. 964-969. DOI: 10.1289/ehp.1002955

13. Cao Q., Rui G. & Liang Y. Study on PM2.5 pollution and the mortality due to lung cancer in China based on geographic weighted regression model. *BMC Public Health*. 2018, 18, 925. DOI: 10.1186/s12889-018-5844-4

14. Ceccaroli C., Pulliero A., Geretto M., & Izzotti A. Molecular Fingerprints of Environmental Carcinogens in Human Cancer. *Journal of Environmental Science and Health*. 2015, pt. C, 33 (2), pp. 188-228. DOI: 10.1080/10590501.2015.1030491

15. Chen R., Meng X., Zhao A., Wang C., Yang C., Li H. Kan H. DNA hypomethylation and its mediation in the effects of fine particulate air pollution on cardiovascular biomarkers: A randomized crossover trial. *Environment International*. 2016, 94, pp. 614-619. DOI: 10.1016/j.envint.2016.06.026

16. Croker B. A., Kiu H., & Nicholson S. E. SOCS regulation of the JAK/STAT signalling pathway. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2018, 19 (4), pp. 414-422. DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.07.010

17. Dhingra R., Nwanaji-Enwerem J. C., Samet M., & Ward-Caviness C. K. DNA Methylation Age - Environmental Influences, Health Impacts, and Its Role in Environmental Epidemiology. *Current Environmental Health Reports*. 2018. DOI: 10.1007/s40572-018-0203-2

18. Fajersztajn L., Veras M., Barrozo L. V., & Saldiva. Air pollution: a potentially modifiable risk factor for lung cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2013, 13 (9), pp. 674-678. DOI: 10.1038/nrc3572

19. Ferrari L., Carugno M., & Bollati V. Particulate matter exposure shapes DNA methylation through the lifespan. *Clinical Epigenetics*. 2019, 11 (1). DOI: 10.1186/s13148-019-0726-x

20. Gondalia R., Baldassari A., Holliday K. M., Justice A. E., Méndez-Giráldez R., Stewart J. D., Whitsel E. A. Methylome-wide association study provides evidence of particulate matter air pollution-associated DNA methylation. *Environment International*. 2019, 104723. DOI: 10.1016/j.envint.2019.03.071

21. Landrigan P. J., et al. The Lancet Commission on pollution and health. *Lancet*. 2018, 391 (10119), pp. 462-512. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32345-0

22. Ming-Yue Li, Li-Zhong Liu, Wende Li, et al., Malcolm J. Underwood, Nirmal Kumar Gali, Zhi Ning and George G. Chen, Ambient fine particulate matter inhibits 15-lipoxygenases to promote lung carcinogenesis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2019, 38, p. 359. DOI: 10.1186/s13046-019-1380-z

23. Niiranen T. J., & Vasani R. S. Epidemiology of cardiovascular disease: recent novel outlooks on risk factors and clinical approaches. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2016, 14 (7), pp. 855-869. DOI: 10.1080/14779072.2016.1176528
24. Panni T., Mehta A. J., Schwartz J. D., Baccarelli A. A., Just A. C., Wolf K., Peters A. Genome-Wide Analysis of DNA Methylation and Fine Particulate Matter Air Pollution in Three Study Populations: KORA F3, KORA F4, and the Normative Aging Study. *Environmental Health Perspectives*. 2016, 124 (7). DOI: 10.1289/ehp.1509966
25. Piao M. J., Ahn M. J., Kang K. A., Ryu Y. S., Hyun Y. J., Shilnikova K., Hyun J. W. Particulate matter 2.5 damages skin cells by inducing oxidative stress, subcellular organelle dysfunction, and apoptosis. *Archives of Toxicology*. 2018, 92 (6), pp. 2077-2091. DOI: 10.1007/s00204-018-2197-9
26. Ramesar R. S. Epigenetics - an introductory overview. *South African Medical Journal*. 2019, 109 (6), p. 371. DOI: 10.7196/samj.2019.v109i6.14068
27. Ryu Y. S., Kang K. A., Piao M. J., Ahn M. J., Yi J. M., Bossis G., Hyun J. W. Particulate matter-induced senescence of skin keratinocytes involves oxidative stress-dependent epigenetic modifications. *Experimental & Molecular Medicine*. 2019, 51 (9). DOI: 10.1038/s12276-019-0305-4
28. Saenen N. D., et al. Children's urinary environmental carbon load. A novel marker reflecting residential ambient air pollution exposure? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2017, 196 (7), pp. 873-881. DOI: 10.1164/rccm.201704-0797OC5
29. Saffari A., Silver M. J., Zavattari P., Moi L., Columbano A., Meaburn E. L., & Dudbridge F. Estimation of a significance threshold for epigenome-wide association studies. *Genetic Epidemiology*. 2017, 42 (1), pp. 20-33. DOI: 10.1002/gepi.22086
30. Soberanes S., Gonzalez A., Urich D., Chiarella S. E., Radigan K. A., Osornio-Vargas A., Budinger G. R. S. Particulate matter Air Pollution induces hypermethylation of the p16 promoter Via a mitochondrial ROS-JNK-DNMT1 pathway. *Scientific Reports*. 2012, 2 (1). DOI: 10.1038/srep00275
31. Sun B., Shi Y., Yang X., Zhao T., Duan J., & Sun Z. DNA methylation: A critical epigenetic mechanism underlying the detrimental effects of airborne particulate matter. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018, 161, pp. 173-183. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.05.083
32. Tantoh D. M., Lee K.-J., Nfor O. N., Liaw Y.-C., Lin C., Chu H.-W., Liaw Y.-P. Methylation at cg05575921 of a smoking-related gene (AHRR) in non-smoking Taiwanese adults residing in areas with different PM<sub>2.5</sub> concentrations. *Clinical Epigenetics*. 2019, 11 (1). DOI: 10.1186/s13148-019-0662-9
33. Tarantini L., Bonzini M., Tripodi A., et al. Blood hypomethylation of inflammatory genes mediates the effects of metal-rich airborne pollutants on blood coagulation. *Occupational and Environmental Medicine*. 2013. DOI: 10.1136/oemed-2012-101079
34. Thomas A Werfel, David L Elion, Bushra Rahman, Donna J Hicks, Violeta Sanchez, Paula I Gonzalez-Ericsson, Melissa J Nixon, Jamaal L James, Justin M Balko, Peggy Scherle, Holly K. Koblisch and Rebecca S. Cook Treatment-induced tumor cell apoptosis and secondary necrosis drive tumor progression in the residual tumor microenvironment through MerTK and IDO-1. *Cancer Research*. 2018. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1106
35. Wang C., Chen R., Shi M., Cai J., Shi J., Yang C., Weinberg C. R. Possible Mediation by Methylation in Acute Inflammation Following Personal Exposure to Fine Particulate Air Pollution. *American Journal of Epidemiology*. 2017, 187 (3), pp. 484-493. DOI: 10.1093/aje/kwx277
36. Wang C., O'Brien K. M., Xu Z., Sandler D. P., Taylor J. A., & Weinberg C. R. Long-term ambient fine particulate matter and DNA methylation in inflammation pathways: results from the Sister Study. *Epigenetics*. 2019, 1-12. DOI: 10.1080/15592294.2019.1699894
37. White A. J., Kresovich J. K., Keller J. P., Xu Z., Kaufman J. D., Weinberg C. R., Sandler D. P. Air pollution, particulate matter composition and methylation-based biologic age. *Environment International*. 2019, 132, p. 105071. DOI: 10.1016/j.envint.2019.105071
38. Xiao T., Ling M., Xu H., Luo F., Xue J., Chen C., Liu Q. NF- $\kappa$ B-regulation of miR-155, via SOCS1/STAT3, is involved in the PM<sub>2.5</sub>-accelerated cell cycle and proliferation of human bronchial epithelial cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2019, 377, p. 114616. DOI: 10.1016/j.taap.2019.114616

**Контактная информация:**

Титова Анастасия Германовна – аналитик отдела анализа и прогнозирования медико-биологических рисков здоровью ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства  
Адрес: 119121, г. Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 1  
E-mail: Titova@cspmrz.ru