

УДК 612.2-092:614.715

DOI: 10.36604/1998-5029-2019-73-80-86

## МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ ВОЗДЕЙСТВИЯ МИКРОРАЗМЕРНЫХ ВЗВЕСЕЙ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

Т.И.Виткина<sup>1</sup>, К.С.Голохваст<sup>1,2</sup>, Л.С.Барскова<sup>1</sup>, Н.Е.Зюмченко<sup>2</sup>, Н.П.Токмакова<sup>2</sup>, Т.А.Гвозденко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт  
медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73-г

<sup>2</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
«Дальневосточный федеральный университет», 690950, г. Владивосток, ул. Суханова, 8

**РЕЗЮМЕ.** В статье представлена методология экспериментального исследования влияния микроразмерных твердых взвешенных частиц атмосферного воздуха на альвеолярные макрофаги крыс линии Вистар. Данный комплекс методов предназначен для изучения механизмов воздействия микровзвесей воздушной среды урбанизированных территорий различного фракционного состава на организм и может быть использован для научных исследований в области патологической физиологии, медицинской экологии и гигиены.

*Ключевые слова:* микровзвесей атмосферного воздуха, органы дыхания, методологические подходы, альвеолярные макрофаги.

## METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECTS OF MICRO-DIMENSIONAL AIR SUSPENSIONS

T.I.Vitkina<sup>1</sup>, K.S.Golokhvast<sup>1,2</sup>, L.S.Barskova<sup>1</sup>, N.E.Ziumchenko<sup>2</sup>, N.P.Tokmakova<sup>2</sup>, T.A.Gvozdenco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute  
of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, 73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation

<sup>2</sup>Far Eastern Federal University, 8 Sukhanova Str., Vladivostok, 690950, Russian Federation

**SUMMARY.** The article presents the methodology of an experimental study of the influence of micro-sized suspended particulate matter of the atmospheric air on alveolar macrophages in Wistar rats. This set of methods has been designed to study the mechanisms of the impact of air suspensions of urbanized territories belonging to various fractions on the body and can be used for scientific research in the field of pathological physiology, medical ecology and hygiene.

*Key words:* air suspensions, respiratory organs, methodological approaches, alveolar macrophages.

Все большее внимание в последнее десятилетие уделяется изучению воздействия загрязнения атмосферного воздуха на здоровье населения урбанизированных территорий [13, 15, 19, 20]. Значительную опасность для здоровья представляют твердые взвешенные частицы атмосферных взвесей в нано- и микро-размерном диапазоне [10, 18]. Твердые взвешенные частицы техногенного происхождения распространены повсеместно, а ингаляционный путь поступления

определяет зону непосредственного контакта экзогенных поллютантов с организмом [2]. Несмотря на относительно небольшое содержание в воздухе, они являются крайне опасными веществами [12, 16, 17]. Мелкодисперсные частицы длительное время находятся в воздухе, переносятся на большие расстояния и проникают глубоко в легкие. Способность микро-частиц адсорбировать токсичные вещества еще более усугубляет их патогенное воздействие. Ультрадисперс-

### Контактная информация

Людмила Сергеевна Барскова, аспирант, младший научный сотрудник, лаборатория медицинской экологии и рекреационных ресурсов, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, Россия, г. Владивосток, ул. Русская, 73г.  
E-mail: pretty\_people\_2016@mail.ru

### Correspondence should be addressed to

Lyudmila S. Barskova, Junior Staff Scientist, Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources, Vladivostok Branch of Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, 73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation.  
E-mail: pretty\_people\_2016@mail.ru

### Для цитирования:

Виткина Т.И., Голохваст К.С., Барскова Л.С., Зюмченко Н.Е., Токмакова Н.П., Гвозденко Т.А. Методологические подходы к экспериментальному исследованию воздействия микроразмерных взвесей атмосферного воздуха // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2019. Вып. 73. С.80–86. DOI: 10.36604/1998-5029-2019-73-80-86

### For citation:

Vitkina T.I., Golokhvast K.S., Barskova L.S., Ziumchenko N.E., Tokmakova N.P., Gvozdenco T.A. Methodological approaches to the experimental study of the effects of micro-dimensional air suspensions. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2019; 73:80–86 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2019-73-80-86

ные частицы проходят через клеточные барьеры, накапливаются в органах и тканях, при этом крайне тяжело выводятся из организма, вызывая выраженные патоморфологические изменения во внутренних органах. Взаимодействие человека с внешней средой вызывает в организме многочисленные защитные и приспособительные ответные реакции, обеспечивающие адаптацию к постоянно меняющимся условиям. При воздействии неблагоприятных факторов окружающей среды, в зависимости от интенсивности, времени их воздействия и состояния адаптационных и репаративных механизмов индивидуума, может происходить физиологический сдвиг и формирование различных патологических состояний, приводящих к развитию экологозависимых заболеваний. Это диктует необходимость изучения клеточно-молекулярных механизмов, лежащих в основе развития данных патологий.

Несмотря на огромный интерес исследователей, в настоящий момент отсутствуют методические разработки, содержащие современные комплексные методологические подходы к изучению воздействия компонентов атмосферных взвесей на здоровье человека, позволяющие проводить исследование с учетом новых теоретических и практических представлений. В данной статье даны рекомендации по проведению подобных экспериментов для оценки влияния реального поликомпонентного загрязнения конкретной урбанизированной территории на триггерные параметры организма. В связи с вышеописанным, мы предлагаем комплекс методов для оценки формирования окислительного стресса и механизмов его регуляции при воздействии ксенобиотиков атмосферного воздуха на макрофаги бронхоальвеолярного лаважа экспериментальных животных.

**Оценка содержания твердых взвешенных частиц микроразмерного ряда в атмосферном воздухе урбанизированных территорий, отличающихся по интенсивности техногенных нагрузок.** Качественный и количественный состав твердых взвешенных частиц воздушной среды урбанизированных территорий имеет региональные особенности и, соответственно, может оказывать различное патологическое действие на человека [3, 4]. Для моделирования экспериментальных взвесей ксенобиотиков воздушной среды необходимо сформировать зоны сравнения [14] и изучить состав атмосферного загрязнения. Компоненты модельной взвеси формируются исходя из оценки состава микрочастиц атмосферного воздуха конкретной территории [5]. Одним из основных методов оценки загрязнения атмосферного воздуха микроразмерными твердыми взвешенными частицами является гравиметрический. Он основан на применении стандартизованных входных устройств разделения на фракции, строгом соблюдении требований по скорости отбора пробы, ее стабильности. Отбор проб воздуха производится либо на фильтр с последующим взвешиванием и расчетом концентрации, либо измерение проводится

в режиме реального времени. Так же дисперсный состав пыли может быть определен методами ротационной сепарации, жидкостной седиментации, расчетным методом. Ряд научных проблем решается с применением метода отбора проб снежного покрова, основной характеристикой которого является возможность определения качественного и фракционного составов загрязняющих веществ всего слоя атмосферы. В НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения разработана авторская методика отбора проб воздуха в жидкую поглотительную среду для оценки загрязнения приземного слоя атмосферного воздуха. Метод позволяет определить весь дисперсный состав твердых взвешенных частиц в различные сезоны года [1].

**Методика получения модельных взвесей атмосферных твердых взвешенных микрочастиц, используемых в нагрузочных тестах.** Модельные взвеси получают путем дробления компонентов атмосферных взвесей [8] в планетарной мельнице (например, Fritch Pulverisette 2 или Retsch PM 200) в течение 10 мин при скорости главного диска 400 об/мин, скорости сателлитов 800 об/мин в стакане (объем 250 мл) и шариков из карбида вольфрама (капрона или оксида циркона). Фракционный анализ взвешенных частиц осуществляют на лазерном анализаторе (например, на Fritch Analysette 22 NanoTec или Malvern Morphology G3).

**Получение бронхоальвеолярного лаважа, выделение альвеолярных макрофагов и проведение нагрузочных тестов.** Структурно-функциональные особенности легких обуславливают их высокую чувствительность к воздействию разнообразных неблагоприятных факторов внешней среды. Понимая значимость макрофагальной системы в осуществлении метаболической и дренажной функции легких, защите их от ингалируемых частиц, целесообразно изучить роль альвеолярных макрофагов в процессах гомеостаза и развитии патологий дыхательной системы. Альвеолярные макрофаги участвуют в инициации иммунного ответа, обладают мощным фагоцитарным и литическим потенциалом и детерминированы к защите легочной ткани от различных инфекционных агентов, пылевых частиц. С помощью макрофагов происходит первичная обработка ингалированных компонентов атмосферной взвеси, контакт с которыми резко усиливает утилизацию кислорода и глюкозы, липидный обмен и фагоцитарную активность макрофага. Макрофаги участвуют также в изоляции ингалированных частиц фагоцитозом, удалении их из легкого транспортной системой и обезвреживании фагоцитированных веществ.

Одним из методов получения клеточной популяции альвеолярных макрофагов является способ получения смыва с поверхности бронхов, бронхиол и альвеолярных структур легких – бронхоальвеолярный смыв или бронхоальвеолярный лаваж [9]. Данный метод можно использовать для изучения механизма действия факто-

ров внешней среды в условиях *in vitro* [6]. Животных (белых крыс) рекомендуется усыплять путем внутримышечного введения соответствующего препарата, так как применение препаратов, поступающих через дыхательные пути (эфира, хлороформа и др.), недопустимо в связи с повреждением слизистой оболочки органов дыхания. Перед вскрытием операционное поле животных обрабатывают антисептиком, скальпелем рассекают кожные покровы и вскрывают грудную клетку вдоль грудины. Затем ножницами отделяют трахею от подлежащих тканей, отсекают ее от гортани, вставляют канюлю, придерживая зажимом трахею. Для получения бронхоальвеолярного лаважа используют подогретую до 37°C среду DMEM с антибиотиками и антимиотиком, ориентируясь на размеры и массу животного (в среднем 15 мл на каждое животное). Промывание легких через трахею осуществляют дробно (сначала 10 мл среды, затем 5 мл), каждую порцию прокачивают шприцем 5-7-кратно через трахею и параллельно проводят массаж за грудиной области, полученные пробы хранят на льду до проведения последующих манипуляций. Выделение альвеолярных макрофагов осуществляют из полученной бронхоальвеолярной лаважной жидкости. При этом необходимо очистить суспензию макрофагов от эритроцитов, лимфоцитов и нейтрофилов. Всю полученную от одного животного жидкость бронхоальвеолярного лаважа объединяют вместе и центрифугируют при охлаждении (4°C) 10 мин при 1577 об/мин (500g). Супернатант сливают, концентрацию клеток доводят до 100000 клеток/мл средой культивирования.

Полученные культуры клеток макрофагов помещают в лунки планшета и культивируют в инкубаторе при температуре 37°C и 5%-ном содержании углекислого газа. Необходимо каждый день проводить замену питательной среды. Культуры клеток анализируют с помощью инвертированного светового микроскопа (например, Axio Observer A1, Carl Zeiss) на протяжении всего эксперимента. На третьи сутки после начала культивирования макрофагов выполняют нагрузочные тесты. Для этого культуру клеток макрофагов от каждого животного разделяют на группы: первая группа – контрольная; в лунки второй группы добавляют модельную взвесь № 1 (зона сравнения №1); в лунки третьей группы – модельную взвесь № 2 (зона сравнения №2). На пятые сутки после посева (на третьи после добавления взвесей) проводят взятие проб.

**Комплекс лабораторных методов для определения параметров окислительного стресса в культуре макрофагов бронхоальвеолярного лаважа и среде их культивирования.** При контакте с биологической средой твердые взвешенные частицы способны индуцировать избыточное образование активных форм кислорода и азота.

С учетом триггерных механизмов влияния микротоксикантов воздушной среды предложен комплекс лабораторных методов, дающий возможность

всесторонне охарактеризовать пероксидативные и антиоксидантные процессы с использованием наиболее чувствительных критериев. Окислительный стресс приводит к прямому или косвенному повреждению липидных, белковых и генетических структур клетки, а также ингибирует репарацию ДНК. Для характеристики развития окислительного стресса необходимо изучать ключевые параметры: для липидов – содержание гидропероксидов липидов (ГПЛ) и малонового диальдегида (МДА), для белков – протеинкарбонила (ПК), для выявления генотоксичности определяют содержание 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-ОНдГ).

Определение первичных (ГПЛ) [7] и конечных (МДА) метаболитов перекисного окисления липидов позволяет охарактеризовать прооксидантное воздействие взвесей атмосферных микрочастиц. Образование большого количества конечных метаболитов дестабилизирует и разрушает структуру клетки. Также МДА, как продукт синтеза простагландинов, реагирует с ДНК, образуя ДНК-аддукты – деоксигуанозин и деоксиаденозин. Уровень ПК характеризует ранние повреждения от воздействия микротоксикантов. Карбонильные группы (СО-группы) белков образуются в результате различных окислительных повреждений сравнительно рано и стабильнее относительно других продуктов окисления. Содержание ПК, характеризующего ранние необратимые изменения белковых структур клетки, может быть использовано в качестве чувствительного биоиндикатора токсического повреждения клетки в результате воздействия твердых взвешенных частиц атмосферного воздуха. 8-ОНдГ образуется в результате окислительного повреждения ДНК активными формами кислорода и является еще одним из наиболее чувствительных биомаркеров окислительного стресса.

**Комплекс лабораторных методов для определения параметров антиоксидантной защиты в культуре макрофагов бронхоальвеолярного лаважа и среде их культивирования.** Антиоксидантная система включает обширную группу веществ белковой и небелковой природы, реагирующих с продуктами окисления. Общая антиоксидантная активность – интегральный показатель активности антиоксидантной системы, включающий все биологические компоненты антиоксидантного действия.

К одному из универсальных внутриклеточных звеньев антиоксидантной защиты относятся редокс системы, представленные главным образом системой глутатиона и тиоредоксина. Являясь наиболее чувствительными к окислительному стрессу, обе эти системы, за счет активации специфических ферментных систем, эффективно восстанавливают гидроперекиси липидов, дисульфидные компоненты белков, репарационные ферменты для реконструкции ДНК и поддерживают редокс-баланс. Изучение содержания показателей тиолдисульфидного звена позволяет определить: как антиоксидантная система справляется с постоянно об-

разующимися высоко реакционноспособными соединениями.

Глутатион является основным эндогенным антиоксидантом, защищает клеточные структуры от повреждающего действия супероксид- и гидроксильных радикалов, создает условия для нормализации энергетической функции клеток и снижения окислительного повреждения белков. Глутатион-редуктаза – фермент, восстанавливающий дисульфидную связь окисленного глутатиона до его сульфгидрильной формы. Отношение восстановленный/окисленный глутатион – ключевой фактор в поддержании окислительного клеточного баланса. Глутатионпероксидазы (ГП) – группа антиоксидантных ферментов, экспрессирующихся повсеместно. ГП катализируют восстановление пероксида водорода до воды и перекисей липидов в соответствующие спирты с использованием глутатиона и способны восстанавливать перекиси белкового, нуклеинокислотного происхождения. Таким образом, ГП обеспечивают двойную защиту клеток от окислительного стресса: утилизируют перекись водорода и обезвреживают продукты перекисного окисления липидов, обеспечивая защиту клеточных мембран, особенно от экзогенного повреждения. ГП регулируют содержание органических перекисей, тем самым участвуя в регуляции синтеза эйкозаноидов. Кроме того, ГП обладают антиапоптозным эффектом, так как предотвращают выход цитохрома С из митохондрий.

Тиоредоксин восстанавливает дисульфидные связи в белках, что способствует формированию у них правильной третичной структуры, критически важен для редокс-регуляции функций внутриклеточных протеинов и клеточной сигнализации через контроль окисления тиолов. Тиоредоксин способен взаимодействовать с активными формами кислорода, восстанавливать окисленный глутатион, тиоредоксинпероксидазы (пероксиредоксины), служит донором электронов для рибонуклеотид- и метионинсульфоксид редуктаз, участвуя в репарации ДНК. Тиоредоксинредуктаза является единственным известным ферментом, способным восстанавливать окисленную форму тиоредоксина. Это гомодимерный белок, содержащий динуклеотид флавин-аденин и селеноцистеин на С-конце. Селеноцистеин консервативного каталитического сайта подвергается обратимому окислению-восстановлению по почти такому же меха-

низму, как и тиоредоксин [11, 14].

Комплекс методов оценки перекисного окисления липидов–антиоксидантной защиты целесообразно выполнять с применением стандартизованных наборов в соответствии с протоколом исследования.

**Метод определения энергетического состояния митохондрий в культуре макрофагов бронхоальвеолярного лаважа и среде их культивирования.** Очень ранним и чувствительным индикаторным критерием влияния различных неблагоприятных экзогенных факторов окружающей среды являются митохондрии. Эффективное функционирование митохондрий связано с интегральной целостностью их структурных компонентов, важнейшими из которых являются жирные кислоты. Основной пул жирных кислот преимущественно вовлечен в окислительные энергетические процессы и поддержание мембранного гомеостаза органеллы, что способствует нормальному функционированию всей клетки в целом. Нарастание окислительного стресса в митохондриях приводит к окислению тиоловых групп мембранных белков и формированию белковых агрегатов с высокой молекулярной массой. Нарушение структурно-функционального состояния митохондриальной мембраны влияет на функциональную активность митохондрий и на способность адекватно выполнять присущие ей функции, в том числе энергетические, что проявляется в изменении мембранного потенциала митохондрий (МПМ). Снижение МПМ свидетельствует о нарастании нарушения трансмембранного переноса ионов, угнетении клеточной дыхательной активности. Все эти изменения детерминируют развитие гипоксии и гибель клетки по механизму апоптоза. Для определения МПМ рекомендуется использовать наборы для проточной цитометрии (например, MitoProbe™ JC-1 Assay Kit; Life Technologies, США).

Таким образом, приведенная нами методология позволяет комплексно изучить ответную реакцию клеточных структур на воздействие микрочастиц атмосферного воздуха и установить закономерности формирования окислительного стресса, индуцированного твердыми взвешенными частицами воздушной среды. Это даст возможность разработать систему прогнозирования и профилактики возникновения и прогрессирования экологозависимых заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Барскова Л.С., Виткина Т.И., Янькова В.И. Метод отбора и анализа проб атмосферного воздуха для определения фракционного состава твердых взвешенных частиц микроразмерного ряда // Материалы Международного Форума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды «Экологические проблемы современности: выявление и предупреждение неблагоприятного воздействия антропогенно детерминированных факторов и климатических изменений на окружающую среду и здоровье населения». М., 2017. С.43–44.
2. Барскова Л.С., Виткина Т.И., Янькова В.И. Особенности ответной реакции альвеолярных макрофагов на воздействие микроразмерных твердых взвешенных частиц атмосферного воздуха // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2017. Т.71, №4. С.15–23. <http://doi.org/10.5281/zenodo.835303>

3. Голохваст К.С. Профиль атмосферных взвесей в городах и его экологическое значение // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013. №49. С.87–91.
4. Голохваст К.С., Чайка В.В., Борисов С.Ю., Киселев Н.Н. Изменение профиля атмосферных взвесей как фактор роста иммуноаллергических заболеваний // Аллергология и иммунология. 2013. Т.14, №1. С.22–23.
5. Голохваст К.С., Чекрыжов И.Ю., Ревуцкая И.Л., Соболева Е.В., Щека О.Л., Чернышев В.В., Никифоров П.А., Автомонов Е.Г., Христофорова Н.К., Гульков А.Н. Некоторые аспекты моделирования атмосферных взвесей исходя из вещественного состава // Известия Самарского НЦ РАН. 2012. Т.14, №1(9). С.2401–2404.
6. Красавина Н.П., Целуйко С.С., Зиновьев С.В., Савенко И.А., Прокопенко А.В. Бронхоальвеолярный лаваж, как критерий в оценке результативности методов коррекции состояния при общем охлаждении организма // Материалы 6 Национального конгресса по болезням органов дыхания. Новосибирск, 1996. С.821–823.
7. Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Янькова В.И. Руководство по методам исследования параметров системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» в биологических жидкостях. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2003. 80 с.
8. Способ приготовления стандартных образцов аэрозолей: пат. 2525427 RU / авторы и заявители К.С.Голохваст, А.М.Паничев, А.Н.Гульков, В.В.Чайка; патентообладатели К.С.Голохваст, А.М.Паничев, А.Н.Гульков; заявл. 27.08.2012; опубл. 10.08.2014.
9. Целуйко С.С., Зиновьев С.В., Огородникова Т.Л. Микрометод культивирования альвеолярных макрофагов – новый способ диагностики бронхиальной астмы // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2001. №9. С.15–16.
10. Costa L.G., Cole T.B., Coburn J., Chang Y.C., Dao K., Roque P.J. Neurotoxicity of traffic-related air pollution // *Neurotoxicology*. 2017. Vol.59. P.133–139. doi: 10.1016/j.neuro.2015.11.008
11. Espinosa-Diez C., Miguel V., Mennerich D., Kietzmann T., Sánchez-Pérez P., Cadenas S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress // *Redox Biol*. 2015. Vol.6. P.183–197. doi:10.1016/j.redox.2015.07.008
12. Falcon-Rodriguez C.I., Osornio-Vargas A.R., Sada-Ovalle I., Segura-Medina P. Aeroparticles, Composition, and Lung Diseases // *Front. Immunol*. 2016. Vol.7. P.3. doi: 10.3389/fimmu.2016.00003
13. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 // *Lancet*. 2016. Vol.388, Iss.10053. P.1659–1724. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31679-8
14. Golokhvast K., Vitkina T., Gvozdenko T., Kolosov V., Yankova V., Kondratieva E., Gorkavaya A., Nazarenko A., Chaika V., Romanova T., Karabtsov A., Perelman J., Kiku P., Tsatsakis A. Impact of atmospheric microparticles on the development of oxidative stress in healthy city/industrial seaport residents // *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2015. Vol.2015. Article ID 412173. doi:10.1155/2015/412173
15. Héroux M.E., Anderson H.R., Atkinson R., Brunekreef B., Cohen A., Forastiere F., Hurley F., Katsouyanni K., Krewski D., Krzyzanowski M., Künzli N., Mills I., Querol X., Ostro B., Walton H. Quantifying the health impacts of ambient air pollutants: recommendations of a WHO/Europe project // *Int. J. Public Health*. 2015. Vol.60, №5. P.619–627. doi:10.1007/s00038-015-0690-y
16. Hoek G., Krishnan R.M., Beelen R., Peters A., Ostro B., Brunekreef B., Kaufman J.D. Longterm air pollution exposure and cardio-respiratory mortality: a review // *Environ. Health*. 2013. Vol.12, №1. P.43. doi: 10.1186/1476-069X-12-43
17. Kim K.H., Kabir E., Kabir S. A review on the human health impact of airborne particulate matter // *Environ. Int*. 2015. Vol.74. P.136–43. doi: 10.1016/j.envint.2014.10.005
18. Noël A., Xiao R., Perveen Z., Zaman H.M., Rouse R.L., Paulsen D.B., Penn A.L. Incomplete lung recovery following sub-acute inhalation of combustion-derived ultrafine particles in mice // *Part. Fibre Toxicol*. 2016. Vol.13. P.10. doi: 10.1186/s12989-016-0122-z
19. Veremchuk L.V., Mineeva E.E., Vitkina T.I., Gvozdenko T.A., Golokhvast K.S. Impact of atmospheric microparticles and heavy metals on external respiration function of urbanized territory population // *Russian Open Medical Journal*. 2017. Vol.6, №4. doi:10.15275/rusomj.2017.0402
20. Veremchuk L.V., Tsarouhas K., Vitkina T.I., Mineeva E.E., Gvozdenko T.A., Antonyuk M.V., Rakitskii V.N., Sidletskaya K.A., Tsatsakis A.M., Golokhvast K.S. Impact evaluation of environmental factors on respiratory function of asthma patients living in urban territory // *Environ. Pollut*. 2018. Vol.235. P.489–496. doi:10.1016/j.envpol.2017.12.122

## REFERENCES

1. Barskova L.S., Vitkina T.I., Yan'kova V.I. Method of collection and analysis of air samples to determine the fractional composition of micro-sized particulate matter. In: Proceedings of the International Forum of the Scientific Council of the Russian Federation on human ecology and environmental hygiene. Moscow; 2017:43–44 (in Russian).
2. Barskova L.S., Vitkina T.I., Yan'kova V.I. The response features of alveolar macrophages to the impact of ambient air particulate matter. *Health. Medical ecology. Science* 2017; 71(4):15–23 (in Russian). <http://doi.org/10.5281/zenodo>.

835303

3. Golokhvast K.S. Profile of atmospheric suspensions in cities and its ecological significance. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2013; 49:87–91 (in Russian).
4. Golokhvast K.S., Chaika V.V., Borisov S.Yu., Kiselev N.N. Changes in atmospheric suspension profile as a risk factor for immunoallergic diseases. *Allergology and Immunology* 2013; 14(1):22–23 (in Russian).
5. Golokhvast K.S., Chekryzhov I.Yu., Revutskaya I.L., Soboleva E.V., Shcheka O.L., Chernyshev V.V., Nikiforov P.A., Avtomonov E.G., Khristoforova N.K., Gul'kov A.N. Some aspects of atmospheric suspension modeling based on the material composition. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences* 2012; 14(1):2401–2404 (in Russian).
6. Krasavina N.P., Tseluyko S.S., Zinoviev S.V., Savenko I.A., Prokopenko A.V. Bronchoalveolar lavage as a criterion for assessing the effectiveness of correctional methods in the whole body cooling. In: Proceedings of the VI National Congress on Respiratory Diseases. Novosibirsk; 1996:821–823 (in Russian).
7. Novgorodtseva T.P., Endakova E.A., Yan'kova V.I. Guidance on the methods for studying the parameters of the system "lipid peroxidation – antioxidant protection" in biological fluids. Vladivostok; 2003 (in Russian).
8. Golokhvast K.S., Panichev A.M., Gul'kov A.N., Chaika V.V. Patent 2525427 RU. Method of preparation of aerosol standard samples; published 10.08.2014 (in Russian).
9. Tseluyko S.S., Zinoviev S.V., Ogorodnikova T.L. Alveolar macrophages culture micromethod of – a new technique for bronchial asthma diagnostics. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2001; 9:15–16 (in Russian).
10. Costa L.G., Cole T.B., Coburn J., Chang Y.C., Dao K., Roque P.J. Neurotoxicity of traffic-related air pollution. *Neurotoxicology* 2017; 59:133–139. doi: 10.1016/j.neuro.2015.11.008
11. Espinosa-Diez C., Miguel V., Mennerich D., Kietzmann T., Sánchez-Pérez P., Cadenas S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol.* 2015; 6:183–197. doi:10.1016/j.redox.2015.07.008
12. Falcon-Rodriguez C.I., Osornio-Vargas A.R., Sada-Ovalle I., Segura-Medina P. Aeroparticles, Composition, and Lung Diseases. *Front. Immunol.* 2016; 7:3. doi: 10.3389/fimmu.2016.00003
13. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388(10053):1659–1724. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31679-8
14. Golokhvast K., Vitkina T., Gvozdenko T., Kolosov V., Yankova V., Kondratieva E., Gorkavaya A., Nazarenko A., Chaika V., Romanova T., Karabtsov A., Perelman J., Kiku P., Tsatsakis A. Impact of atmospheric microparticles on the development of oxidative stress in healthy city/industrial seaport residents. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015; 2015:412173. doi:10.1155/2015/412173
15. Héroux M.E., Anderson H.R., Atkinson R., Brunekreef B., Cohen A., Forastiere F., Hurley F., Katsouyanni K., Krewski D., Krzyzanowski M., Künzli N., Mills I., Querol X., Ostro B., Walton, H. Quantifying the health impacts of ambient air pollutants: recommendations of a WHO/Europe project. *Int. J. Public Health* 2015; 60(5):619–627. doi:10.1007/s00038-015-0690-y
16. Hoek G., Krishnan R.M., Beelen R., Peters A., Ostro B., Brunekreef B., Kaufman J.D. Longterm air pollution exposure and cardio-respiratory mortality: a review. *Environ. Health* 2013; 12(1):43. doi: 10.1186/1476-069X-12-43
17. Kim K.H., Kabir E., Kabir S. A review on the human health impact of airborne particulate matter. *Environ. Int.* 2015; 74:136–43. doi: 10.1016/j.envint.2014.10.005
18. Noël A., Xiao R., Perveen Z., Zaman H.M., Rouse R.L., Paulsen D.B., Penn A.L. Incomplete lung recovery following sub-acute inhalation of combustion-derived ultrafine particles in mice. *Part. Fibre Toxicol.* 2016; 13:10. doi: 10.1186/s12989-016-0122-z
19. Veremchuk L.V., Mineeva E.E., Vitkina T.I., Gvozdenko T.A., Golokhvast K.S. Impact of atmospheric microparticles and heavy metals on external respiration function of urbanized territory population. *Russian Open Medical Journal* 2017; 6(4). doi:10.15275/rusomj.2017.0402
20. Veremchuk L.V., Tsarouhas K., Vitkina T.I., Mineeva E.E., Gvozdenko T.A., Antonyuk M.V., Rakitskii V.N., Sidletskaya K.A., Tsatsakis A.M., Golokhvast K.S. Impact evaluation of environmental factors on respiratory function of asthma patients living in urban territory. *Environ. Pollut.* 2018; 235: 489–496. doi:10.1016/j.envpol.2017.12.122

**Информация об авторах:**

**Татьяна Исааковна Виткина**, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией медицинской экологии и рекреационных ресурсов, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; e-mail: tash30@mail.ru

**Author information:**

**Tatyana I. Vitkina**, PhD, D.Sc. (Biol.), Professor RAS, Head of Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources, Vladivostok Branch of the Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment; e-mail: tash30@mail.ru

**Кирилл Сергеевич Голохваст**, д-р биол. наук, член-корр. РАО, профессор РАН, профессор кафедры безопасности жизнедеятельности в техносфере, научный руководитель НОЦ нанотехнологии Инженерной школы, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный Федеральный университет»; старший научный сотрудник лаборатории медицинской экологии и рекреационных ресурсов, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; e-mail: golokhvast.ks@dvfu.ru.

**Людмила Сергеевна Барскова**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории медицинской экологии и рекреационных ресурсов, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; e-mail: pretty\_people\_2016@mail.ru

**Наталья Евгеньевна Зюмченко**, канд. биол. наук, доцент кафедры клеточной биологии и генетики Школы естественных наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный Федеральный университет»; e-mail: nattyzum@mail.ru

**Наталья Павловна Токмакова**, канд. биол. наук, доцент кафедры клеточной биологии и генетики Школы естественных наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный Федеральный университет»; e-mail: nptokmak@mail.ru

**Татьяна Александровна Гвозденко**, д-р мед. наук, профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, директор Владивостокского филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательского института медицинской климатологии и восстановительного лечения; e-mail: vfdnz\_nch@mail.ru

**Kirill S. Golokhvast**, PhD, D.Sc. (Biol.), Professor, Corresponding member of RAE, Professor of Department of Safety in Technosphere, Scientific Advisor of SEC in Nanotechnology of Engineering School, Far Eastern Federal University; Senior Staff Scientist of Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources, Vladivostok Branch of the Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment; e-mail: golokhvast.ks@dvfu.ru.

**Lyudmila S. Barskova**, Junior Staff Scientist of Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources, Vladivostok Branch of Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment; e-mail: pretty\_people\_2016@mail.ru

**Natalia E. Ziumchenko**, PhD (Biol.), Associate Professor of Department of Cell Biology and Genetics, Far Eastern Federal University; e-mail: nattyzum@mail.ru

**Natalia P. Tokmakova**, PhD (Biol.), Associate Professor of Department of Cell Biology and Genetics, Far Eastern Federal University; e-mail: nptokmak@mail.ru

**Tatyana A. Gvozdenko**, MD, PhD, D.Sc. (Med.), Professor RAS, Main Staff Scientist of Laboratory of Rehabilitation Treatment, Director of the Vladivostok Branch of Far Eastern Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; e-mail: vfdnz\_nch@mail.ru.

Поступила 29.07.2019  
Принята к печати 21.08.2019

Received July 29, 2019  
Accepted August 21, 2019