

Читать
онлайн
Read
onlineЗемлянова М.А.^{1,2,3}, Пескова Е.В.¹, Степанков М.С.¹

Протеомное профилирование плазмы крови при хронической экспериментальной экспозиции оксидом алюминия как инструмент прогноза негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека

¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, Пермь, Россия;

²ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», 614990, Пермь, Россия;

³ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», 614990, Пермь, Россия

Введение. Высокоинформативные методы исследования, к числу которых относится протеомное профилирование, обеспечивают возможность прогнозирования на самых ранних этапах негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека. В сочетании с токсикологическими исследованиями данные методы позволяют экстраполировать на человека изменения белкового профиля плазмы крови, выявленные в эксперименте на биологических моделях. Определение экспрессии, функциональных характеристик и тканевой принадлежности изменённых белков и пептидов обеспечивает уточнение механизмов нарушений гомеостаза на клеточно-молекулярном уровне, связанных с воздействием химических веществ.

Цель работы — выявление и оценка изменений протеомного профиля плазмы крови при экспериментальной экспозиции оксидом алюминия для прогнозирования негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека.

Материалы и методы. При моделировании ингаляционной экспозиции оксидом алюминия в дозе 0,0025 мг/(кг · день), эквивалентной дозе в натуральных условиях экспозиции при годовом периоде осреднения, и с учётом межвидового переноса доз в эксперименте на крысах линии Wistar исследовано содержание данного металла в моче и проведён сравнительный анализ протеомного профиля плазмы крови экспонированных и неэкспонированных особей. Методами статистического и биоинформационного анализа данные, полученные в эксперименте, экстраполированы на человека для прогнозирования негативных эффектов со стороны критических органов и систем при хронической аэрогенной экспозиции оксидом алюминия.

Результаты. При хроническом ингаляционном поступлении оксида алюминия в дозе 0,0025 мг/(кг · день) у животных опытной группы содержание алюминия в моче установлено в 3,5 раза выше относительно аналогичного показателя в контрольной группе. В результате денситометрического измерения и сравнительного анализа протеомных карт плазмы крови экспонированных и неэкспонированных животных установлено 13 белковых пятен, интенсивность которых в группах достоверно отличается и доказанно связана с содержанием алюминия в моче. При сопоставлении масс-спектров данных белковых пятен идентифицировано 8 белков, совпадающих с белками библиотечного масс-спектра (актин-связывающий Rho-активирующий белок; альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1; аполинпротеин А-1; белок Sec22b, транспортирующий везикулы; фактор элонгации 1-γ; нейросекреторный белок Vgf; пумилио гомолог 3; тенеурин-2). В результате биоинформационного анализа установлены гены, кодирующие выявленные белки, их участие в биологических процессах (клеточные и метаболические процессы, процессы биологического регулирования), а также ткани органов, в которых они имеют повышенную экспрессию (печень, головной мозг, сердце, мышцы, тонкая кишка, селезёнка, матка, яички, надпочечники). У человека определены ортологи установленных генов, что позволяет использовать белки, выявленные в эксперименте, в качестве маркёров негативных ответов и предполагать развитие патологий сердечно-сосудистой системы, печени и головного мозга в условиях длительной аэрогенной экспозиции оксидом алюминия.

Ограничения исследования. Проведённое исследование на крысах линии Wistar моделировало только хроническое ингаляционное воздействие оксида алюминия.

Заключение. Установлена трансформация протеомного профиля плазмы крови в эксперименте на биологической модели при хроническом ингаляционном воздействии оксида алюминия в дозе 0,0025 мг/(кг · день). Экстраполяция полученных данных и обнаружение ортологических генов у человека позволяют предположить развитие негативных эффектов в виде болезней сердечно-сосудистой системы, печени и головного мозга при хроническом ингаляционном поступлении оксида алюминия в организм. Полученные данные расширяют теоретические представления о механизмах токсического действия химических веществ, в том числе оксидных соединений алюминия, на клеточно-молекулярном уровне для прогнозирования негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека.

Ключевые слова: протеомный профиль плазмы крови; экспериментальные животные; алюминий в моче; биоинформационный анализ; негативные эффекты; прогнозные оценки; экстраполяция результатов на человека

Соблюдение этических стандартов. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (протокол заседания № 2 от 11.02.2021 г.), проведено согласно общепринятым научным принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ред. 2013 г.).

Для цитирования: Землянова М.А., Пескова Е.В., Степанков М.С. Протеомное профилирование плазмы крови при хронической экспериментальной экспозиции оксидом алюминия как инструмент прогноза негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(10): 1125–1131. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-10-1125-1131> <https://elibrary.ru/oyysbv>

Для корреспонденции: Землянова Марина Александровна, доктор мед. наук, профессор, зав. отд. биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, 614045, Пермь. E-mail: zem@fcrisk.ru

Участие авторов: Землянова М.А. — концепция и дизайн исследования, редактирование; Пескова Е.В. — концепция и дизайн исследования, сбор данных литературы, статистическая обработка материала, написание текста; Степанков М.С. — сбор материала, обработка материала. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт средств федерального бюджета.

Поступила: 21.08.2023/ Принята к печати: 26.09.2023 / Опубликована: 20.11.2023

Marina A. Zemlyanova^{1,2,3}, Ekaterina V. Peskova¹, Mark S. Stepankov¹

Proteomic profiling of blood plasma in chronic experimental exposure to aluminum oxide as a tool for predicting adverse effects from critical human organs and systems

¹Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation;²Perm State National Research University, Perm, 614990, Russian Federation;³Perm National Research Polytechnic University, Perm, 614990, Russian Federation

Introduction. Highly informative research methods, which include proteomic profiling, make it possible to predict the development of negative effects on the part of critical human organs and systems at the earliest stages of their formation. In combination with toxicological studies, these methods allow changes in the protein profile of blood plasma, identified in the experiment on biological models, to be extrapolated to humans. Determination of the expression, functional characteristics and tissue identity of altered proteins and peptides provides clarification of the mechanisms of homeostasis disorders at the cellular and molecular level associated with exposure to chemicals.

The purpose of the work is to identify and evaluate changes in the proteomic profile of blood plasma during experimental exposure to aluminum oxide in order to predict negative effects on the part of critical human organs and systems.

Materials and methods. When modelling inhalation exposure to aluminum oxide at a dose of 0.0025 mg/(kg • day), equivalent to the dose in natural exposure conditions with an annual averaging period, and taking into account interspecies dose transfer, in an experiment on Wistar rats, the content of this metal in urine and a comparative analysis of the proteomic profile of the blood plasma of exposed and unexposed individuals was carried out. Using the methods of statistical and bioinformatic analysis, the data obtained in the experiment were extrapolated to humans in order to predict negative effects on the part of critical organs and systems during chronic aerogenic exposure to aluminum.

Results. With chronic inhalation intake of aluminum oxide at a dose of 0.0025 mg/(kg • day) in animals of the experimental group, the content of aluminum in the urine was 3.5 times higher than that in the control group. As a result of densitometric measurement and comparative analysis of proteomic maps of blood plasma of exposed and unexposed animals, 13 protein spots were found, the intensity of which significantly differs between groups, which was proved to be related to the aluminum content in the urine. When comparing the mass spectra of these protein spots, 8 proteins were identified that coincided with the proteins of the library mass spectrum (Actin-binding Rho-activating protein; Aldehyde dehydrogenase, cytosol 1; Apolipoprotein A-I; Sec22b protein transporting vesicles; Elongation factor 1-γ; Neurosecretory protein Vgf; Pumilio homologue 3; Teneurin-2). As a result of bioinformatics analysis, there were determined genes encoding the identified proteins, their participation in biological processes (cellular and metabolic processes, biological regulation processes) and tissues of organs in which they have an increased expression (liver, brain, heart, muscles, small intestine, spleen, uterus, testicles, adrenal glands). In humans, orthologues of established genes have been identified, which makes it possible to use the proteins identified in the experiment as markers of negative responses and to suggest the development of diseases of the cardiovascular system, liver, and brain under conditions of long-term aerogenic exposure to aluminum oxide.

Limitations. The conducted study on Wistar rats simulated only chronic inhalation exposure to aluminum oxide.

Conclusion. The transformation of the proteomic profile of blood plasma was established in an experiment on a biological model with chronic inhalation exposure to aluminum oxide at a dose of 0.0025 mg/(kg • day). Extrapolation of the data obtained and the detection of orthologous genes in humans suggests the development of negative effects in the form of diseases of the cardiovascular system, liver and brain with chronic inhalation intake of aluminum oxide into the body. The data obtained expand the theoretical understanding of the mechanisms of the toxic action of chemicals, including aluminum oxide compounds, at the cellular and molecular level to predict the negative effects of critical human organs and systems.

Keywords: proteomic profile of blood plasma; experimental animals; aluminum in urine; bioinformatic analysis; negative effects; forecast estimates; results extrapolation to human

Compliance with ethical standards. The study was approved by the local ethics committee of the Federal Research Center for Medical and Preventive Technologies of Public Health Risk Management of Rosпотребнадзор (minutes of the meeting No. 2 dated 11.02.2021), conducted in accordance with the generally accepted scientific principles of the Helsinki Declaration of the World Medical Association (ed. 2013).

For citation: Zemlyanova M.A., Peskova E.V., Stepankov M.S. Proteomic profiling of blood plasma in chronic experimental exposure to aluminum as a tool for predicting adverse effects from critical human organs and systems. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(10): 1125–1131. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-10-1125-1131> <https://elibrary.ru/oysbv> (In Russ.)

For correspondence: Marina A. Zemlyanova, MD, PhD, DSci., Professor, Head of Department. biochemical and cytogenetic diagnostic Methods of the Federal Research Center for Medical and Preventive Technologies of Public Health Risk Management of Rosпотребнадзор, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: zem@fcrisk.ru

Information about authors:

Zemlyanova M.A., <https://orcid.org/0000-0002-8013-9613>Peskova E.V., <https://orcid.org/0000-0002-8050-3059>Stepanov M.S., <https://orcid.org/0000-0002-7226-7682>

Contribution: Zemlyanova M.A. – concept and design of research, editing; Peskova E.V. – concept and design of research, collection of literature data, statistical processing of material, writing of text; Stepanov M.S. – collection of material, processing of material. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: August 21, 2023 / Accepted: September 26, 2023 / Published: November 20, 2023

Введение

Исследования с использованием методов молекулярной биологии позволяют расширить фундаментальные представления о механизмах поддержания гомеостаза, равновесие которого может нарушаться при воздействии различных химических факторов среды обитания [1]. Для выявления новых биомаркёров с прогностическими целями используются методы протеомного профилирования, позволяющие идентифицировать белки, определить уровень их экспрессии, а также определить пространственное местоположение внутри клетки, субклеточной органеллы, ткани или органа [2, 3]. Благодаря этому появились возможности построения реалистичных и прогностических моделей для оценки рисков для здоровья, обусловленных воздействием химических факторов среды обитания [4].

Среди загрязняющих веществ, широко распространённых в объектах среды обитания, пристальное внимание исследователей привлекают оксидные соединения алюминия (в пересчёте на алюминий). Токсические эффекты, вызываемые этими веществами, обнаружены в экспериментальных и натурных исследованиях. Биологическая функция алюминия в организме не доказана, однако длительное воздействие этого химического элемента на уровне выше референтной концентрации¹ связывают с нарушениями биохимических процессов в нервной, дыхательной, иммунной и костной системах [5]. Кроме этого, в экспериментах на крысах установлено, что значительное количество алюминия обнаруживается в тканях сердца и печени, что впоследствии может приводить к дисфункции этих органов [6, 7]. Известно, что алюминий накапливается в цитоплазме и органоидах клетки [8, 9]. Механизм токсического действия алюминия связан с прямыми и опосредованными повреждающими эффектами. При воздействии на мембрану базальной клетки отмечается её деполаризация [10]. Нарушение митохондриального метаболизма при воздействии алюминия происходит в результате его влияния на железосодержащие ферменты из цикла трикарбоновых кислот [11]. Кроме того, токсическое действие данного металла характеризуется усилением продукции активных форм кислорода, что способствует развитию окислительного стресса [8, 12]. В результате может изменяться экспрессия белков плотных контактов гематоэнцефалического барьера [8].

Белковые профили одних и тех же тканей у различных видов живых организмов более сходны, чем белки органов одного вида. Ортологичные белки разных организмов гомологичны по своему происхождению и выполняют одну и ту же функцию. Такие белки имеются как у мелких грызунов (крысы), так и у человека. Понимание того, как у сходных по видообразованию организмов сопоставимо изменяется экспрессия белков при воздействии токсических химических веществ, имеет существенное значение для прогнозирования негативных эффектов с целью профилактики и устранения последствий на ранних этапах их формирования [13, 14]. Результаты, полученные при проведении протеомного профилирования в токсикологических экспериментах, являются уникальным инструментом, позволяющим изменения, выявленные на животных, экстраполировать на человека [15].

Цель работы – выявление и оценка изменений протеомного профиля плазмы крови при экспериментальной экспозиции оксидом алюминия для прогнозирования негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека.

Материалы и методы

В качестве биологической модели в исследовании использовали самцов и самок белых крыс линии Wistar (12 особей). Экспериментальных животных разделили на две группы по шесть особей в каждой. В опытную группу вклю-

¹ Р 2.1.10.1920–04 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду». М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 143 с.

чены животные, получавшие ингаляционно аэрозоль водной суспензии оксида алюминия в дозе 0,0025 мг/(кг • день) в течение 180 дней. Вводимая экспериментальным животным доза оксида алюминия эквивалентна реальной хронической аэрогенной экспозиции для годового периода осреднения, установленной для населения, проживающего в зоне размещения объектов металлургического производства. В контрольную группу вошли крысы, не подверженные ингаляционному воздействию изучаемого химического вещества и содержащиеся в аналогичных условиях.

Экспериментальные исследования на биологической модели осуществляли в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123), и этического комитета ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровья населения» (протокол заседания № 2 от 11.02.2021 г.).

Полученные образцы мочи крыс обеих групп исследовали на содержание алюминия методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на масс-спектрометре Agilent 7500cx (Agilent Technologies, США) в соответствии с МУК 4.1.3589–19². Отбор мочи у животных осуществляли в метаболической клетке DXL-D (3W Fengshi, Китай) в течение одних суток после экспозиции.

Полученные пептидные образцы (плазма крови) крыс опытной и контрольной групп подвергали протеомному исследованию. С применением системы PROTEAN I12 IEF System (BioRad, США) и камеры Protean II xi 2D cell (BioRad, США) выполнен анализ полученных пептидных образцов. Визуализация полученных электрофореграмм проводилась с использованием щелочного метода окраски серебром. С помощью системы для документирования гелей GeLDoc XR (BioRad, США) проведён анализ полученных изображений и определена интенсивность белковых пятен. Программный комплекс PDQuest (BioRad, США) использовали для сравнительного анализа полученных белковых профилей пептидных образцов изучаемых групп. Для дальнейшего анализа выделяли значимые белковые пятна, имеющие достоверные различия между группами животных.

Из полученных гелей вырезали значимые белковые пятна и проводили их масс-спектрометрический анализ для определения аминокислотных последовательностей фрагментов индивидуальных белков на хроматографе UltiMate 3000 (Германия) и тандемном масс-спектрометре ABSciex 4000 QTRAP с источником ионизации Nanospray 3 (Канада). Полученные последовательности обрабатывали с помощью программы ProteinPilot (AB SCIEX) с выборкой по таксону *Rattus norvegicus* (Rat). Поиск белков по набору масс пептидов проводили в программе Mascot (MatrixScience, Великобритания).

С помощью пакета программ Statistica 10 осуществляли статистическую обработку полученных данных. Сравнительную оценку полученных результатов у животных опытной группы выполняли относительно аналогичных показателей контрольной группы и представляли в виде среднего значения (M) и ошибки среднего (SD). Критерий Манна – Уитни (U ; $p \leq 0,05$) применялся для выявления статистической значимости различий переменных между группами. С помощью построения математических моделей линейной регрессии проводили оценку причинно-следственных связей между изменением интенсивности белковых пятен и концентрацией алюминия в моче. Достоверность и адекватность полученных моделей оценивали на основе дисперсионного анализа с использованием F -критерия Фишера, коэффициента детерминации (R^2) и достоверности причинно-следственной связи ($p \leq 0,05$)³.

² МУК 4.1.3589–19 Измерение массовой концентрации алюминия в биологических средах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: метод. указания. Введ. 2020-08-11. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020.

³ Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика; 1998. 459 с.

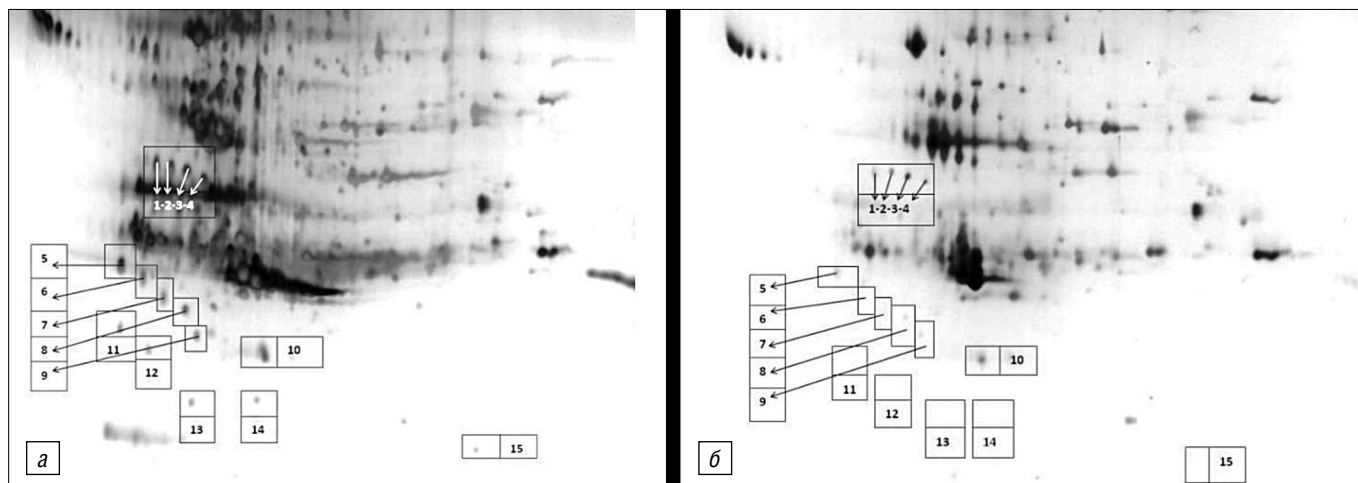
Таблица 1 / Table 1

Интенсивность белковых пятен плазмы крови экспериментальных животных и параметры моделей зависимостей их изменения от повышения концентрации алюминия в моче

The intensity of protein spots in the blood plasma of experimental animals and the parameters of models of their dependence on the increase in the concentration of aluminum in urine

№	Значения интенсивности белковых пятен int. Protein spots intensity values, int.			Характеристика моделей Characteristics of models				
	Средние значения* / Average values* <i>M ± SD</i>		Достоверность различий между группами The reliability of the differences between groups <i>p ≤ 0.05</i>	Параметры модели Model parameters		Критерий Фишера Fisher criterion <i>F ≥ 3.96</i>	Коэффициент детерминации Determination coefficient <i>R²</i>	Достоверность причинно-следственной связи Criterion credibility <i>p ≤ 0.05</i>
	Животные опытной группы Animals of an experimental group	Животные группы сравнения Animals of comparison groups		<i>b₀</i>	<i>b₁</i>			
1	4256 ± 1054	1115 ± 362	0.000	622	56 542.1	25.92	0.764	0.001
2	4112 ± 223	1796 ± 135	0.000	1622.3	36 488.6	15.05	0.653	0.005
3	3952 ± 143	2353 ± 460	0.000	2371.2	21 405.5	6.19	0.436	0.038
4	3004 ± 547	1957 ± 171	0.001	2065.8	11 363.4	2.51	0.239	0.151
5	3925 ± 283	1436 ± 184	0.000	1346.2	36 556.9	10.37	0.564	0.012
6	2451 ± 46	114 ± 24	0.000	12.8	34 789.9	11.32	0.586	0.010
7	2116 ± 111	399 ± 109	0.001	416.1	23 051.2	4.82	0.376	0.059
8	2351 ± 251	122 ± 31	0.000	-24.9	34 557.6	13.53	0.628	0.006
9	1774 ± 61	94 ± 23	0.000	47.1	24 301.9	9.81	0.551	0.014
10	2871 ± 638	1785 ± 239	0.002	1883.5	12 185.2	2.51	0.238	0.152
11	1911 ± 186	212 ± 59	0.000	194.1	23 757.3	40.96	0.475	0.027
12	1962 ± 39	466 ± 135	0.001	380.2	22 845.1	6.79	0.459	0.031
13	1870 ± 90	123 ± 34	0.000	63.9	25 549.9	10.20	0.560	0.013
14	1464 ± 76	114 ± 24	0.000	66.9	19 782.9	10.06	0.557	0.013
15	1763 ± 82	156 ± 42	0.000	116.5	23 102.5	8.8	0.524	0.018

Примечание. * *M ± SD* – среднее арифметическое интенсивности исследуемого белкового пятна (*M*) и стандартное отклонение (*SD*).
Note: * *M ± SD* – the average arithmetic of the intensity of the test protein spot (*M*) and standard deviation (*SD*).



Фрагмент 2DE-геля плазмы крови крыс (а – особь группы наблюдения; б – особь группы сравнения).
Fragment of 2DE-gel rat blood plasma (a – individual of the observation group; б – individual of the comparison group).

Таблица 2 / Table 2

Белки и кодирующие их гены плазмы крови, их участие в ключевых биологических процессах и ткани, в которых они имеют повышенную экспрессию**Proteins and genes encoding them in rat blood plasma; their participation in key biological processes and tissues in which they have increased expression**

Название белка The name of the protein	Ген крысы Rat gene	Индекс UniProt ID UniProt	Участие в ключевых биологических процессах Participation in key biological processes	Экспрессия в тканях Expression in the tissues
Актин-связывающий Rho-активирующий белок Actin-binding Rho-activating protein	<i>Abra</i>	Q8K4K7	Транспорт белков / Protein transport Транскрипция и её регулирование Transcription and its regulation Транслокация / Translocation	Сердце / Heart Мышцы / Muscles
Альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1 Aldehyde dehydrogenase, cytosolic 1	<i>Aldh1a7</i>	P13601	Процесс деградации этанола Ethanol degradation process	Печень / Liver Сердце / Heart
Аполипопротеин А-I Apolipoprotein A-I	<i>Apoa1</i>	P04639	Метаболизм холестерина, липидов, стероидов и стеролов Metabolism of cholesterol, lipids, steroids and sterols Транспорт липидов / Transport of lipids	Печень / Liver Тонкая кишка Small intestine
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы Vesicle-trafficking protein SEC22b	<i>Sec22b</i>	Q4KM74	Транспорт между эндоплазматическим ретикулумом и аппаратом Гольджи Transport ER-Golgi Транспорт белков / Protein transport	Селезёнка / Spleen Матка / Uterus Печень / Liver
Фактор элонгации 1-γ Elongation factor 1-γ	<i>Eef1g</i>	Q68FR6	Биосинтез белков Protein biosynthesis	Селезёнка / Spleen Яички / Testicles
Нейросекреторный белок VGF Neurosecretory protein VGF	<i>Vgf</i>	P20156	Регуляция нейрональной синаптической пластичности Regulation of neuronal synaptic plasticity	Головной мозг / Brain Надпочечники Adrenal glands
Пумилио гомолог 3 Pumilio homolog 3	<i>Pum3</i>	Q562C7	Трансляционная регуляция Translational regulation	Печень / Liver Тимус / Thymus
Тенеурин-2 Teneurin-2	<i>Tenm2</i>	Q9R1K2	Клеточная адгезия / Cell adhesion Транскрипция и её регулирование Transcription and its regulation	Головной мозг / Brain Нейроны / Neurons

Таблица 3 / Table 3

Белки и кодирующие их гены плазмы крови крыс; гены-ортологи и прогнозируемые патологии человека**Proteins and genes encoding them in rat blood plasma; orthologous genes and predicted human diseases**

Название белка The name of the protein	Ген крысы Rat gene	Ген человека (ортолог) Human gene (orthologist)	Маркёр прогнозируемой патологии (ссылка)* Marker of the predicted disease (link)
Актин-связывающий Rho-активирующий белок Actin-binding Rho-activating protein	<i>Abra</i>	<i>ABRA</i>	Дилатационная кардиомиопатия / Dilated cardiomyopathy (PMID: 16243910)
Альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1 Aldehyde dehydrogenase, cytosolic 1	<i>Aldh1a7</i>	<i>ALDH1A1</i>	Заболевания печени / Liver diseases (PMID: 31651977) Сердечная недостаточность / Heart failure (PMID: 26670611)
Аполипопротеин А-I Apolipoprotein A-I	<i>Apoa1</i>	<i>APOA1</i>	Атеросклероз / Atherosclerosis (PMID: 33861588) Гипертония / Hypertension (PMID: 18224302) Нарушения метаболизма липопротеидов / Disorders of lipoprotein metabolism (PMID: 37086940) Ожирение / Fatness (PMID: 25137265)
Белок SEC22b, транспортирующий везикулы Vesicle-trafficking protein SEC22b	<i>Sec22b</i>	<i>SEC22B</i>	—**
Фактор элонгации 1-γ Elongation factor 1-γ	<i>Eef1g</i>	<i>EEFIG</i>	—
Нейросекреторный белок VGF Neurosecretory protein VGF	<i>Vgf</i>	<i>VGF</i>	Гиперфагия / Hyperphagia (PMID: 1217) Ожирение / Fatness (PMID: 24913018) Нарушения памяти / Memory disorders (PMID: 22289429)
Пумилио гомолог 3 Pumilio homolog 3	<i>Pum3</i>	<i>PUM3</i>	—
Тенеурин-2 / Teneurin-2	<i>Tenm2</i>	<i>TENM2</i>	—

Примечание. * – ген, являющийся маркёром прогнозируемой патологии или играющий роль в её этиологии; ** – нет данных.

Note: * – A gene that is a marker of a predicted disease or playing a role in its etiology; ** – no data.

Основную информацию о полученных белках и их функциональных характеристиках экстрагировали из баз данных UniProt⁴ и The Gene Ontology⁵. Информацию о генах, кодирующих выявленные белки, и их ортологах получали с помощью ресурса Rat Genome Database⁶. Данные об экспрессии белков в тканях и органах извлекали с помощью биоинформационной платформы Tissue expression database⁷. Описание отношений в системе «фактор экспозиции (маркёр экспозиции) – белок – ген, кодирующий его экспрессию, – болезнь» проводили с использованием информационных ресурсов Comparative Toxicogenomics⁸ и DisGeNET⁹.

Результаты

При проведении химико-аналитического исследования установлено, что средняя концентрация алюминия в моче крыс опытной группы составила $0,057 \pm 0,029$ мг/дм³, что в 3,5 раза превысило аналогичный показатель контрольной группы ($0,016 \pm 0,013$ мг/дм³; $p = 0,008$).

В результате денситометрического измерения и сравнительного анализа протеомных карт плазмы крови исследуемых животных установлено, что интенсивность 15 белковых пятен достоверно отличалась у крыс опытной и контрольной групп. Для 13 пятен доказаны достоверные причинно-следственные связи увеличения их интенсивности с повышением концентрации алюминия в моче (табл. 1; рисунок).

Масс-спектрометрическая идентификация указанных 13 белковых пятен выявила, что они сопоставимы с 8 белками библиотечного масс-спектра программы Mascot. В табл. 2 представлена информация о данных белках и кодирующих их генах; показано их участие в ключевых биологических процессах и тканях, в которых они имеют повышенную экспрессию.

Согласно биоинформационному ресурсу Gene Ontology, выявленные белки связаны с девятью биологическими процессами в организме. В первую по частоте тройку вошли клеточные (23,6%) и метаболические процессы (15,8%), процессы биологического регулирования (10,5%). Анализ тканей, в которых возможна повышенная экспрессия данных белков, позволил предположить, что увеличение уровня алюминия в моче может обуславливать изменение гомеостаза биохимических процессов, прежде всего в клетках печени, головного мозга и сердца.

У человека определены ортологи генов, кодирующих экспрессию белков, установленных в эксперименте. Наличие генов-ортологов у человека позволяет предположить, что повышенная экспрессия выявленных белков в условиях длительной аэрогенной экспозиции алюминием может приводить к развитию нарушений метаболизма липопротеидов, ожирения, гиперфагии, нарушений памяти, расстройств психики, дилатационной кардиомиопатии, сердечной недостаточности, атеросклероза и гипертонии (табл. 3).

Полученные результаты протеомного профилирования плазмы крови экспериментальных животных позволили заполнить прогноз развития негативных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы, печени и головного мозга у человека при повышенном поступлении в организм алюминия.

Обсуждение

Токсические свойства алюминия проявляются в виде нарушения биохимических процессов внутри клетки, которые связаны с его активным взаимодействием с белками [16].

⁴ UniProt [Электронный ресурс]. URL: <https://www.uniprot.org> (дата обращения: 25.05.2023 г.).

⁵ Gene Ontology Resource [Электронный ресурс]. URL: <https://geneontology.org/> (дата обращения: 25.05.2023 г.).

⁶ Rat Genome Database [Электронный ресурс]. URL: <https://rgd.mcw.edu/rgdweb/homepage/> (дата обращения: 25.05.2023 г.).

⁷ Tissue expression database [Электронный ресурс]. URL: <https://tissues.jensenlab.org/Search> (дата обращения: 26.05.2023 г.).

⁸ Comparative Toxicogenomics [Электронный ресурс]. URL: <https://ctdbase.org/> (дата обращения: 26.05.2023 г.).

⁹ DisGeNET [Электронный ресурс]. URL: <https://www.disgenet.org/dbinfo> (дата обращения: 26.05.2023 г.).

Алюминий способен легко проникать в кровоток, что может приводить к развитию кардиоваскулярных патологий, таких как атеросклероз и гипертония. Данные болезни повышают риск образования тромбов и нарушения функций и структуры сосудистого эндотелия [17]. Эксперименты на животных подтвердили токсическое действие алюминия на ткани сердца, что впоследствии приводит к дисфункции миокарда [6]. В рамках проведенного протеомного исследования плазмы крови выявлен специфический белок, характерный для тканей сердца и мышц, – актин-связывающий Rho-активирующий белок [18]. Гиперэкспрессия данного белка в тканях сердца повышает чувствительность к перегрузке давлением и передаче сигналов. Это может приводить к ухудшению сердечной функции в ответ на гипертрофические стимулы, увеличивая тем самым риск развития кардиомиопатии [19–21]. Актин-связывающий Rho-активирующий белок является маркером дилатационной кардиомиопатии (PMID: 16243910), которая может приводить к развитию сердечной недостаточности. Вполне вероятно, что изменение экспрессии актин-связывающего Rho-активирующего белка при воздействии алюминия способствует повышению вероятности развития сердечно-сосудистых патологий.

Также установлен белок альдегиддегидрогеназа, цитозоль 1, значительно экспрессирующийся в тканях печени, где также обнаружено накопление алюминия [7]. Исследования показали, что значительное накопление алюминия в тканях печени может приводить к возникновению жировой дистрофии и умеренной гиперплазии желчных протоков [7]. Повышенная экспрессия альдегиддегидрогеназы, цитозоль 1, является маркером болезней печени и развития сердечной недостаточности (PMID: 31651977; 26670611). Сверхэкспрессия данного белка способствует развитию ожирения [22], диабета [23] и воспаления [24].

При проведении протеомного профилирования плазмы крови выявлен белок аполипопротеин А-I, который также является маркером развития ожирения, атеросклероза, гипертонии и нарушения метаболизма липопротеидов (PMID: 33861588; 18224302; 37086940; 25137265). Данный белок входит в состав липопротеинов высокой плотности и в основном синтезируется в печени и тонком кишечнике [25]. Сверхэкспрессия аполипопротеина А-I способствует специфичному для макрофагов обратному транспорту холестерина [26]. Повышенное поступление алюминия в организм усиливает экспрессию аполипопротеина А-I, что приводит к увеличению риска развития болезней гепатобилиарной системы. По последним сведениям, данный белок также ассоциирован с риском развития остеопороза [27].

Нейротоксичность алюминия подтверждается тем, что в различных областях головного мозга, особенно в гипоталамусе и гиппокампе, а также в периферических тканях, включая гипофиз, надпочечники и поджелудочную железу, широко экспрессируется нейросекреторный белок VGF [28], обнаруженный в представленном исследовании. Данный белок играет роль в регуляции энергетического гомеостаза и может выступать потенциальным маркером нейродегенеративных нарушений [29, 30]. Изменение уровня экспрессии нейросекреторного белка VGF связано с повышенным риском развития гиперфагии, ожирения и нарушения памяти (PMID: 12177191; 24913018; 22289429).

Критическими органами и системами, со стороны которых формируется риск развития негативных эффектов при ингаляционном воздействии оксида алюминия, являются центральная нервная система, в частности головной мозг, и органы дыхания¹⁰. Изменения экспрессии белков, обнаруженные в представленном исследовании, позволили расширить перечень органов и систем (печень, сердечно-сосудистая система), функциональные процессы которых изменяются при воздействии алюминия на клеточно-молекулярном уровне.

¹⁰ Р 2.1.10.1920–04 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду». М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 143 с.

Заклучение

Результаты исследования показали, что хроническое ингаляционное поступление оксида алюминия в дозе 0,0025 мг/(кг • день) обуславливает увеличение содержания данного вещества в моче в 3,5 раза у животных опытной группы относительно аналогичного показателя в контрольной группе. Выявлена трансформация протеомного профиля плазмы крови, проявляющаяся в виде увеличения интенсивности белковых пятен, доказанно связанная с ингаляционной экспозицией алюминием. Спектр белков с установленной повышенной экспрессией включает актин-связывающий Rho-активирующий белок (ген *Abra*), альдегиддегидрогеназу, цитозоль 1 (ген *Aldh1a7*), аполипопротеин А-I (ген *Apoa1*), белок Sec22b, транспортирующий везикулы (ген *Sec22b*), фактор элонгации 1-γ (ген *Eef1g*), нейросекреторный белок Vgf (ген *Vgf*), пумилио гомолог 3 (ген *Pum3*) и тенеурин-2 (ген *Tenn2*). Биоинформационный анализ показал, что повышенное поступление оксидных

соединений алюминия в организм в условиях ингаляционной экспозиции может обуславливать увеличение экспрессии белков тканей сердца, головного мозга и печени. У человека установлены ортологи генов, кодирующих экспрессию белков, выявленных в эксперименте. Предполагаемые виды негативных эффектов, биохимические механизмы развития которых связаны с изменением экспрессии данных белков, связаны с нарушением метаболизма липопротеидов, ожирением, гиперфагией, нарушением памяти, расстройством психики, развитием дилатационной кардиомиопатии, сердечной недостаточности, атеросклероза, гипертонии.

Экстраполяция полученных в эксперименте данных на человека расширяет представления о механизмах токсического действия химических веществ, в том числе оксида алюминия, на клеточно-молекулярном уровне для повышения эффективности прогнозирования и раннего выявления негативных последствий при воздействии химических факторов среды обитания.

Литература

(п.п. 1–15, 17–29 см. References)

16. Шугалей И.В., Гарабаджиу А.В., Илюшин М.А., Судариков А.М. Некоторые аспекты влияния алюминия и его соединений на живые организмы. *Экологическая химия*. 2012; 21(3): 172–86. <https://elibrary.ru/stgsyt>

30. Узбеков М.Г., Гурович И.Я., Иванова С.А. Потенциальные биомаркеры психических заболеваний в аспекте системного подхода. *Социальная и клиническая психиатрия*. 2016; (1): 77–94. <https://elibrary.ru/witqmh>

References

- Hilton I.B., Gersbach C.A. Enabling functional genomics with genome engineering. *Genome Res.* 2015; 25(10): 1442–55. <https://doi.org/10.1101/gr.190124.115>
- Merrick A. The plasma proteome, adductome and idiosyncratic toxicity in toxicoproteomics research. *Brief Funct. Genomic Proteomic.* 2009; 7(1): 35–49. <https://doi.org/10.1093/bfgp/eln004>
- Hye A., Lynham S., Thambisetty M., Causevic M., Campbell J., Byers H.L., et al. Proteome-based plasma biomarkers for Alzheimer's disease. *Brain.* 2006; 129(Pt. 11): 3042–50. <https://doi.org/10.1093/brain/awl1279>
- Madeira C., Costa P.M. Proteomics in systems toxicology. *Adv. Protein. Chem. Struct. Biol.* 2021; 127: 55–91. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2021.03.001>
- Bittencourt L.O., Damasceno-Silva R.D., Aragão W.A.B., Eiró-Quirino L., Oliveira A.C.A., Fernandes R.M., et al. Global proteomic profile of aluminum-induced hippocampal impairments in rats: are low doses of aluminum really safe? *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(20): 12523. <https://doi.org/10.3390/ijms232012523>
- El-Hussainy M.A., Hussein A.M., Abdel-Aziz A., El-Mehasseb I. Effects of aluminum oxide (Al₂O₃) nanoparticles on ECG, myocardial inflammatory cytokines, redox state, and connexin 43 and lipid profile in rats: possible cardioprotective effect of gallic acid. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2016; 94(8): 868–78. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0446.17>
- Bogdanović M., Janeva A.B., Bulat P. Histopathological changes in rat liver after a single high dose of aluminium. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2008; 59(2): 97–101. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-59-2008-1859.22>
- Chen L., Yokel R.A., Hennig B., Toborek M. Manufactured aluminum oxide nanoparticles decrease expression of tight junction proteins in brain vasculature. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2008; 3(4): 286–95. <https://doi.org/10.1007/s11481-008-9131-5>
- Vinardell M.P., Sordé A., Díaz J., Baccarin T., Mitjans M. Comparative effects of macro-sized aluminum oxide and aluminum oxide nanoparticles on erythrocyte hemolysis: influence of cell source, temperature and size. *J. Nanopart. Res.* 2015; 17: 80. <https://doi.org/10.1007/s11051-015-2893-9>
- Lin W., Stayton I., Huang Y., Zhou X., Ma Y. Cytotoxicity and cell membrane depolarization induced by aluminum oxide nanoparticles in human lung epithelial cells A549. *Toxicol. Environ. Chem.* 2008; 90(5): 983–96. <https://doi.org/10.1080/02772240701802559>
- Willhite C.C., Karyakina N.A., Yokel R.A., Yenugadhati N., Wisniewski T.M., Arnold I., et al. Systematic review of potential health risks posed by pharmaceutical, occupational and consumer exposures to metallic and nanoscale aluminum, aluminum oxides, aluminum hydroxide and its soluble salts. *Crit. Rev. Toxicol.* 2014; 44(Suppl. 4): 1–80. <https://doi.org/10.3109/10408444.2014.934439>
- Bahadar H., Maqbool F., Niaz K., Abdollahi M. Toxicity of nanoparticles and an overview of current experimental models. *Iran Biomed. J.* 2016; 20(1): 1–11. <https://doi.org/10.7508/ibj.2016.01.001>
- López-Pedrouso M., Varela Z., Franco D., Fernández J.A., Aboal J.R. Can proteomics contribute to biomonitoring of aquatic pollution? A critical review. *Environ. Pollut.* 2020; 267: 115473. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115473>
- Martins C., Dreij K., Costa P.M. The state-of-the-art of environmental toxicogenomics: Challenges and perspectives of “omics” approaches directed to toxicant mixtures. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2019; 16(23): 4718. <https://doi.org/10.3390/ijerph16234718>
- Koonin E.V., Galperin M.Y. *Sequence – Evolution – Function: Computational Approaches in Comparative Genomics*. Boston: Kluwer Academic; 2003.
- Shugaley I.V., Garabadzhiu A.V., Ilyushin M.A., Sudarikov A.M. Some aspects of the influence of aluminum and its compounds on living organisms. *Ekologicheskaya khimiya*. 2012; 21(3): 172–86. <https://elibrary.ru/stgsyt> (in Russian)
- Yildirim A., Ozgur E., Bayindir M. Impact of mesoporous silica nanoparticle surface functionality on hemolytic activity, thrombogenicity and non-specific protein adsorption. *J. Mater. Chem. B.* 2013; 1(14): 1909–20. <https://doi.org/10.1039/C3TB20139B>
- Arai A., Spencer J.A., Olson E.N. STARS, a striated muscle activator of Rho signaling and serum response factor-dependent transcription. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(27): 24453–9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M202216200>
- Kuwahara K., Teg Pipes G.C., McAnally J., Richardson J.A., Hill J.A., Bassel-Duby R., et al. Modulation of adverse cardiac remodeling by STARS, a mediator of MEF2 signaling and SRF activity. *J. Clin. Invest.* 2007; 117(5): 1324–34. <https://doi.org/10.1172/JCI1240>
- Yi X., Bekeredjian R., DeFilippis N.J., Siddiquee Z., Fernandez E., Shohet R.V. Transcriptional analysis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006; 290(3): H1098–102. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00832.2005>
- Wallace M.A., Russell A.P. Striated muscle activator of Rho signaling is required for myotube survival but does not influence basal protein synthesis or degradation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013; 305(4): 414–26. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00421.2012>
- Kiefer F.W., Vernochet C., O'Brien P., Spoerl S., Brown J.D., Nallamshetty S., et al. Retinaldehyde dehydrogenase 1 regulates a thermogenic program in white adipose tissue. *Nat. Med.* 2012; 18(6): 918–25. <https://doi.org/10.1038/nm.2757>
- Kiefer F.W., Orasanu G., Nallamshetty S., Brown J.D., Wang H., Luger P., et al. Retinaldehyde dehydrogenase 1 coordinates hepatic gluconeogenesis and lipid metabolism. *Endocrinology.* 2012; 153(7): 3089–99. <https://doi.org/10.1210/en.2011-2104>
- Sanders T.J., McCarthy N.E., Giles E.M., Davidson K.L., Haltali M.L., Hazell S., et al. Increased production of retinoic acid by intestinal macrophages contributes to their inflammatory phenotype in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2014; 146(5): 1278–88.e1-2. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.057>
- Halley P., Kadakkuzha B.M., Faghilhi M.A., Magistri M., Zeier Z., Khorkova O., et al. Regulation of the apolipoprotein gene cluster by a long noncoding RNA. *Cell Rep.* 2014; 6(1): 222–30. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.12.015>
- Zhang Y., Zanotti I., Reilly M.P., Glick J.M., Rothblat G.H., Rader D.J. Overexpression of apolipoprotein A-I promotes reverse transport of cholesterol from macrophages to feces *in vivo*. *Circulation.* 2003; 108(6): 661–63. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000086981.09834.E0>
- Sun X., Wu X. Association of apolipoprotein A1 with osteoporosis: a cross-sectional study. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2023; 24(1): 157. <https://doi.org/10.1186/s12891-023-06264-6>
- Lewis J.E., Brameld J.M., Jethwa P.H. Neuroendocrine role for VGF. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2015; 6: 3. <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00003>
- Hahn S., Mizuno T.M., Wu T.J., Wisor J.P., Priest C.A., Kozak C.A., et al. Targeted deletion of the Vgf gene indicates that the encoded secretory peptide precursor plays a novel role in the regulation of energy balance. *Neuron.* 1999; 23(3): 537–48. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80806-5](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80806-5)
- Uzbekov M.G., Gurovich I.Ya., Ivanova S.A. Potential biomarkers of mental diseases in the aspect of a systematic approach. *Sotsial'naya i klinicheskaya psixhiatriya*. 2016; (1): 77–94. <https://elibrary.ru/witqmh> (in Russian)