

Читайте  
онлайн  
Read  
online

Кикоть А.М.<sup>1</sup>, Унесихина М.С.<sup>1</sup>, Шаихова Д.Р.<sup>1</sup>, Берёза И.А.<sup>1</sup>, Минигалиева И.А.<sup>1</sup>,  
Никогосян К.М.<sup>1</sup>, Сутункова М.П.<sup>1,2</sup>

## Нейротоксичность ингаляционного воздействия наночастиц оксида свинца на лабораторных животных на уровне экспрессии генов и метаболома

<sup>1</sup>ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 620014, Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 620028, Екатеринбург, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Изучение токсичности наночастиц оксида свинца (НЧ PbO) является актуальной задачей в связи с их повсеместной распространённостью в окружающей среде и влиянием на здоровье населения. Особое внимание вызывают нейротоксичные эффекты НЧ PbO. Один из возможных механизмов нейротоксичности — апоптотический процесс, вызванный необратимым повреждением ДНК. Для подтверждения данной гипотезы были проведены исследования экспрессии генов *ATM*, *MDM2* и метаболомный анализ.

**Цель исследования** — изучение нейротоксичности ингаляционного воздействия НЧ PbO на лабораторных животных с помощью анализа экспрессии генов и метаболомики.

**Материалы и методы.** Субхронический эксперимент, заключающийся в ингаляционном воздействии НЧ PbO в концентрации  $1,55 \pm 0,06$  мг/м<sup>3</sup> в течение четырёх недель (за исключением выходных дней), был проведён на 20 белых самках крыс, разделённых на опытную и контрольную группы. Уровень мРНК генов *ATM* и *MDM2* в обонятельной луковице крыс определяли количественной ПЦР в реальном времени. Полуколичественный метаболомный анализ тканей мозга животных проводили с помощью жидкостной хромато-масс-спектрометрии.

**Результаты.** Экспрессия гена *ATM* в обонятельной луковице была статистически значимо ( $p < 0,05$ ) выше у животных опытной группы по сравнению с контрольной. Метаболомный анализ выявил у животных из опытной группы изменения в метаболизме лизофосфатидилэтаноламинов, лизофосфатидилхолинов, ацилкарнитинов, омега-3 полиненасыщенных жирных кислот, амида жирной кислоты, фосфорилхолина, инозина и гипоксантина. Для комбинации обнаруженных метаболитов была построена ROC-кривая со значением  $AUC = 0,903$ .

**Ограничения исследования.** Данная работа выполнена на самках крыс породы Wistar и не учитывает возможных межполовых различий.

**Заключение.** В совокупности полученные данные анализа экспрессии генов и метаболомики свидетельствуют о том, что ингаляционное воздействие НЧ PbO в концентрации  $1,55 \pm 0,06$  мг/м<sup>3</sup> вызывает опосредованный *ATM* p53-индуцированный апоптоз в мозге животных.

**Ключевые слова:** наночастицы свинца; экспрессия генов; метаболиты; апоптоз; нейротоксичность наночастиц

**Соблюдение этических стандартов.** Заключение локального этического комитета ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора: содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с общепринятыми требованиями с учётом ARRIVE guidelines. Исследования были одобрены локальным этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол № 5 от 16.10.2023 г.).

**Для цитирования:** Кикоть А.М., Унесихина М.С., Шаихова Д.Р., Берёза И.А., Минигалиева И.А., Никогосян К.М., Сутункова М.П. Нейротоксичность ингаляционного воздействия наночастиц оксида свинца на лабораторных животных на уровне экспрессии генов и метаболома. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(6): 793–798. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-6-793-798> <https://elibrary.ru/cyhihi>

**Для корреспонденции:** Кикоть Анна Михайловна, e-mail: kikitam@ymrc.ru

**Участие авторов:** Кикоть А.М. — обработка данных, статистическая обработка, написание текста, редактирование; Унесихина М.С. — сбор материала и обработка данных, статистическая обработка, написание текста, редактирование; Шаихова Д.Р. — обработка данных, редактирование; Берёза И.А. — сбор материала и обработка данных, редактирование; Никогосян К.М. — сбор материала, редактирование; Минигалиева И.А. — концепция и дизайн исследования, редактирование; Сутункова М.П. — концепция и дизайн исследования. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех её частей.

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

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 28.03.2025 / Принята к печати: 26.06.2025 / Опубликовано: 31.07.2025

Anna M. Kikot<sup>1</sup>, Maria S. Unesikhina<sup>1</sup>, Daria R. Shaikhova<sup>1</sup>, Ivan A. Bereza<sup>1</sup>,  
Ilzira A. Minigalieva<sup>1</sup>, Karen M. Nikogosyan<sup>1</sup>, Marina P. Sutunkova<sup>1,2</sup>

## Neurotoxicity of PbO nanoparticles following subchronic inhalation exposure of laboratory animals studied at the level of gene expression and metabolome

<sup>1</sup>Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation;

<sup>2</sup>Ural State Medical University, Yekaterinburg, 620028, Russian Federation

### ABSTRACT

**Introduction.** The study of toxicity of lead oxide nanoparticles (PbO NPs) is relevant owing to their ubiquity in the environment and human health impact with the focus on their neurotoxic effects. Apoptosis induced by irreversible DNA damage is one of the possible mechanisms of neurotoxicity. To confirm this hypothesis, studies of ATM and MDM2 gene expression and metabolomic analysis were conducted.

**The purpose** was to establish neurotoxicity of inhalation exposure of laboratory animals to PbO NPs using gene expression analysis and metabolomics.

**Materials and methods.** The subchronic experiment with inhalation exposure to PbO NPs at the concentration of  $1.55 \pm 0.06 \text{ mg/m}^3$  was conducted on twenty female albino rats equally divided into exposure and control groups for 5 days a week during 4 weeks. The mRNA level of the ATM and MDM2 genes in olfactory bulbs in the rats was determined by quantitative real-time PCR. Semi-quantitative metabolomic analysis of animal brain tissues was performed using liquid chromatography-mass spectrometry.

**Results.** ATM gene expression in the olfactory bulb was statistically higher in the exposed animals compared to the controls ( $p < 0.05$ ). Metabolome analysis revealed changes in the metabolism of lysophosphatidylethanolamines, lysophosphatidylcholines, acylcarnitines, omega-3 polyunsaturated fatty acids, fatty acid amide, phosphorylcholine, inosine, and hypoxanthine in the exposed rodents. For the combination of metabolites detected, a ROC curve with an AUC value of 0.903 was constructed.

**Limitations.** The study was conducted using female Wistar rats with no potential sex differences considered.

**Conclusion.** Taken together, the obtained gene expression and metabolomics data indicate that inhalation exposure to PbO NPs at the concentration of  $1.55 \pm 0.06 \text{ mg/m}^3$  induces ATM-mediated p53-induced apoptosis in the animal brain.

**Keywords:** lead nanoparticles; gene expression; metabolites; apoptosis; neurotoxicity of nanoparticles

**Compliance with ethical standards.** The local Ethics Committee of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers concluded that the animals were kept, fed, cared for, and sacrificed in accordance with generally accepted requirements, taking into account the ARRIVE guidelines. Ethics approval was provided by the Ethics Committee of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers (protocol No. 5 of October 16, 2023).

**For citation:** Kikot A.M., Unesikhina M.S., Shaikhova D.R., Bereza I.A., Minigalieva I.A., Nikogosyan K.M., Sutunkova M.P. Neurotoxicity of PbO nanoparticles following subchronic inhalation exposure of laboratory animals studied at the level of gene expression and metabolome. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(6): 793–798. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-6-793-798> <https://elibrary.ru/cyhiih> (In Russ.)

**For correspondence:** Anna M. Kikot, e-mail: kikotam@ymrc.ru

**Contribution:** Kikot A.M. — data processing, statistical analysis, draft manuscript preparation, editing; Unesikhina M.S. — data collection and processing, statistical analysis, draft manuscript preparation, editing; Shaikhova D.R. — data processing, editing; Bereza I.A. — data collection and processing, editing; Nikogosyan K.M. — data collection, editing; Minigalieva I.A. — study conception and design, editing; Sutunkova M.P. — study conception and design. 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.

**Funding.** The study had no sponsorship.

Received: March 28, 2025 / Accepted: June 26, 2025 / Published: July 31, 2025

## Введение

Уникальные свойства металлических наночастиц (НЧ) определяют их широкое применение. Так, НЧ оксида свинца (НЧ PbO) используют в магнитном резонансе и хранении данных, батареях, пигментах, газовых датчиках, красках и катализаторах [1, 2]. Наряду с искусственными НЧ PbO в окружающей среде присутствуют самопроизвольно образованные НЧ PbO, генерируемые промышленными процессами, например, на свинцовых, медеплавильных и нефтеперерабатывающих заводах, а также образованные в результате сгорания в тепловых двигателях и природных явлений [3–6]. Обеспокоенность исследователей вызывают повсеместное распространение и высокая устойчивость НЧ PbO в окружающей среде в связи с их токсичностью и пагубным влиянием на здоровье населения, в том числе работающего на промышленных предприятиях, где данные частицы присутствуют в воздухе рабочей зоны [1, 4]. Так как в настоящее время для НЧ не существует мер регулирования, углубление

знаний в механизмах их токсичности и влиянии на здоровье являются важной задачей медицины труда [6].

Ранее было показано, что НЧ PbO оказывают негативное влияние на различные системы органов, в том числе на сердечно-сосудистую, нервную, иммунную, дыхательную и репродуктивную системы [1–3, 7]. Особое внимание вызывают нейротоксические эффекты НЧ PbO, так как ранее было показано, что они могут проникать в головной мозг при вдыхании через ольфакторный путь [7]. Известно, что НЧ PbO способны генерировать активные формы кислорода (АФК) и вызывать окислительный стресс, длительное воздействие которого может приводить к генотоксичности и гибели клеток [7, 8]. Эти воздействия при изменении процесса нейротрансмиссии и способствуют повреждению нейронов, что проявляется в нарушении когнитивных функций, памяти, снижении способности к обучению, а также в виде развития нейродегенеративных болезней [9].

Ранее нашим коллективом был показан один из возможных механизмов нейротоксичности НЧ PbO через митохон-

## Последовательность праймеров

## Sequence of primers

| Ген<br>Gene | Направление<br>Direction | Последовательность 5' → 3'<br>5' to 3' direction |
|-------------|--------------------------|--------------------------------------------------|
| ATM         | Прямой / Forward         | GCTTATGACGTTGCATGAAACG                           |
|             | Обратный / Reverse       | GTGACGGGAAATATGGTGGATT                           |
| MDM2        | Прямой / Forward         | GGCGTAAGTGACCATTCTG                              |
|             | Обратный / Reverse       | CCGATAGACCTCATCATCCT                             |

дрияльный путь апоптоза посредством изменения экспрессии генов *P53*, *BAX* и *BCL-2*, вовлечённых в его реализацию [10]. Для подтверждения этих выводов были проведены дополнительные исследования по определению экспрессии генов *ATM*, *MDM2* и метаболомный анализ. Белковый продукт гена *ATM* активируется в ответ на двуцепочечные разрывы ДНК, вовлечён в репарацию ДНК, а также способен активировать ген-супрессор опухолей *P53* и вызывать остановку клеточного цикла и (или) апоптоз в зависимости от тяжести повреждения [11], тогда как белок гена *MDM2* через ауторегуляторную петлю обратной связи разрушает *p53*, поддерживая его на низком уровне [12]. Клеточный метаболизм и изменение внутриклеточных метаболитов рассматриваются как важные факторы в регуляции судьбы клеток на фоне действия окислительного стресса [13]. Изменённый метаболизм считается немаловажным аспектом развития патологических состояний, так как он может быть как причиной их развития, так и следствием нарушений и (или) изменений регуляции на геномном, транскриптомном и протеомном уровнях. Таким образом, обнаружение метаболомных изменений важно как отражение состояния гомеостаза, в том числе на фоне апоптотических процессов. Это позволит глубже понять нейротоксические механизмы ингаляционного воздействия НЧ РbО.

Целью данного исследования было изучение нейротоксичности ингаляционного воздействия НЧ РbО на лабораторных животных с помощью анализа экспрессии генов и метаболомики.

## Материалы и методы

**Эксперимент на животных.** Планирование и проведение исследования осуществлялось в соответствии с руководством ARRIVE Guidelines. Исследования были одобрены локальным этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол № 4 от 12.07.2022 г.). Лабораторные животные содержались в стандартных условиях клиники экспериментальных животных на базе ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора при температуре плюс  $22 \pm 2$  °С, цикл «свет — темнота» 12/12 ч. Животные были разделены на две группы: опытная (НЧ РbО) и контрольная, по 10 особей в каждой. НЧ РbО размером  $18,2 \pm 4,2$  нм подавались в экспозиционную башню для воздействия «только нос» (СН Technologies, Westwood, NJ, США). Экспозиции НЧ РbО проводились в данной установке, где контрольная группа животных дышала чистым воздухом, а опытная группа подвергалась воздействию НЧ РbО в концентрации  $1,55 \pm 0,06$  мг/м<sup>3</sup> четыре часа в день пять раз в неделю в течение четырёх недель. После завершения эксперимента проводили полную декапитацию животных и фиксировали фрагменты обонятельной луковицы с последующим хранением в морозильной камере при температуре минус 80 °С.

**Экстракция РНК и количественная ПЦР в реальном времени.** Экстракцию РНК из фрагментов обонятельной луковицы и количественную ПЦР в реальном времени для определения уровня экспрессии генов *ATM* и *MDM2* проводили согласно [10]. Последовательности праймеров изучаемых генов представлены в таблице.

В качестве эндогенного контроля использовали уровень экспрессии гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*GAPDH*). Полученные данные экспрессии генов были проанализированы методом  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ .

**Метаболомное исследование.** Фрагменты головного мозга промывали в физрастворе и гомогенизировали в ступке с жидким азотом. Пробоподготовку проводили путём добавления к 50 мг гомогенизированной ткани 1500 мкл смеси метанола с водой (1 : 1) с обработкой пробы на ультразвуке со льдом. Полученную смесь центрифугировали при температуре плюс 4 °С со скоростью 14 000 об./мин в течение 15 мин, полученный супернатант фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 0,2 мкм, 1000 мкл упаривали досуха в вакуумном концентраторе с последующим перерастворением в 200 мкл смеси метанола с водой, затем пробы центрифугировали при тех же условиях и полученный супернатант анализировали.

Для хромато-масс-спектрометрического анализа использовали жидкостный хроматограф Agilent 1290 Infinity II с колонкой InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 2,1 × 100 мм (1,9 мкм) со скоростью потока 0,2 мл/мин при температуре колонки плюс 35 °С. Элюирование проводили в градиентном режиме с использованием подвижных фаз: А — вода с 0,1%-й муравьиной кислотой; Б — метанол с 0,1%-й муравьиной кислотой. Программа градиента: 0–1 мин — 5% (Б); 1–2 мин — от 5 до 30% (Б); 2–22 мин — от 30 до 100% (Б); 22–34 мин — 100% (Б); 34–34,5 мин — от 100 до 5%; 34,541 мин — 5% (Б). Объём пробы — 2 мкл.

В качестве масс-спектрометра использовали Agilent 6545XT AdvanceBio Q-TOF в режиме сканирования и регистрации положительно заряженных ионов при помощи электрораспылительной ионизации. Для аннотации соединений получали фрагментные спектры с энергией столкновения 0; 10 и 20 V. Данные обрабатывали на платформе Workflow4metabolomics<sup>1</sup>. Аннотацию метаболитов проводили по моноизотопной массе (ppm < 10) и библиотекам спектров фрагментации Human Metabolome Database<sup>2</sup>, LIPID MAPS<sup>3</sup> и MassBank<sup>4</sup> в ручном режиме.

**Статистический анализ.** Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Колмогорова — Смирнова. Статистический анализ экспрессии генов проводили с применением непараметрического *U*-критерия Манна — Уитни в программе Statistica (StatSoft, США). Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ . Для статистической обработки метаболомных данных использовали MetaboAnalyst 6.0<sup>5</sup> и Workflow4metabolomics. При определении достоверных различий в содержании метаболитов был использован *t*-критерий Стьюдента с уровнем значимости  $p < 0,05$ . Для построения ROC-кривой был применён алгоритм Random Forests.

## Результаты

**Анализ экспрессии генов.** Результаты анализа изменения экспрессии генов *ATM* и *MDM2* представлены на рис. 1. Из графика видно, что в обонятельной луковице крыс, находящихся под воздействием НЧ РbО, экспрессия гена *ATM* была статистически значимо увеличена в 1,4 раза по сравнению с контрольной группой животных ( $p = 0,03$ ). Экспрессия гена *MDM2* достоверно не различалась у животных опытной и контрольной групп.

**Метаболомный анализ.** В результате метаболомного анализа ткани головного мозга животных было установлено изменение

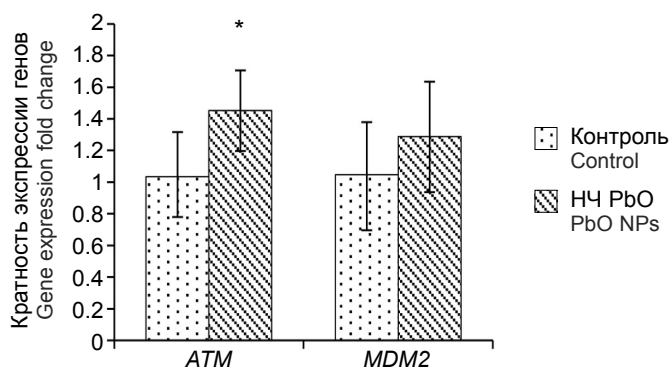
<sup>1</sup> Workflow4metabolomics. URL: <https://workflow4metabolomics.usgalaxy.fr/> (дата обращения: 28.02.2025 г.).

<sup>2</sup> Human Metabolome Database. URL: <https://hmdb.ca/> (дата обращения: 28.02.2025 г.).

<sup>3</sup> LIPID MAPS. URL: <https://www.lipidmaps.org/> (дата обращения: 28.02.2025 г.).

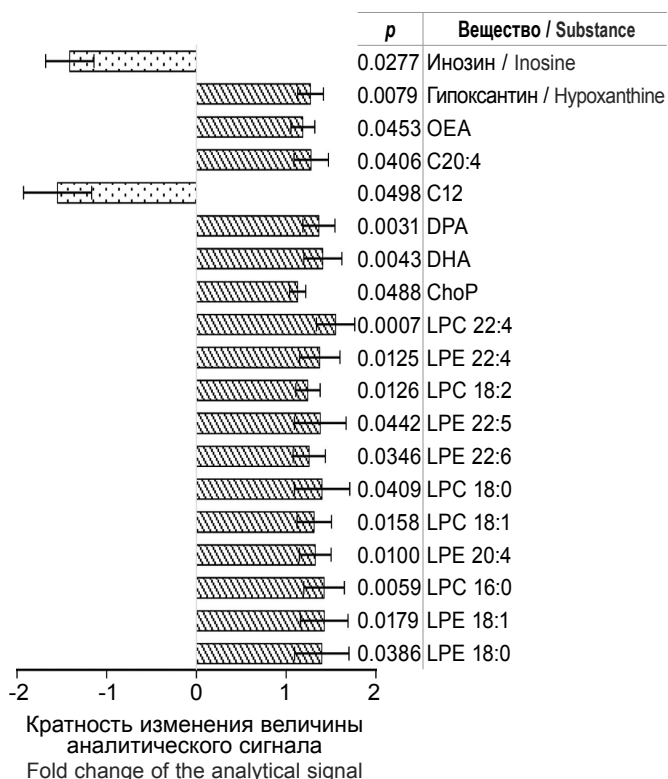
<sup>4</sup> MassBank. URL: <https://massbank.eu/MassBank/> (дата обращения: 28.02.2025 г.).

<sup>5</sup> MetaboAnalyst 6.0. URL: <https://www.metaboanalyst.ca/> (дата обращения: 28.02.2025 г.).



**Рис. 1.** Изменение экспрессии генов *ATM* и *MDM2* в обонятельной луковице лабораторных крыс в контрольной и опытной группах (НЧ PbO). На графиках указаны среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение; \* – статистически значимое различие  $p < 0,05$ .

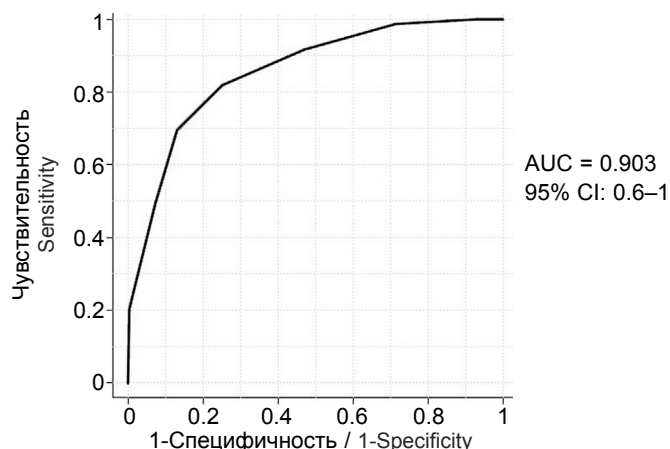
**Fig. 1.** The change in the expression of *ATM* and *MDM2* genes in the olfactory bulb of the control and PbO NP-exposed rats (arithmetic mean  $\pm$  standard deviation); \*  $p < 0.05$ .



OEA – олеоилэтаноламид / oleoylethanolamide  
 C20:4 – арахидоилкарнитин / arachidonoylcarnitine  
 C12 – додеcanoилкарнитин / dodecanoylcarnitine  
 DPA – докозапентаеновая кислота / docosapentaenoic acid  
 DHA – докозагексаеновая кислота / docosahexaenoic acid  
 ChoP – фосфорилхолин / phosphorylcholine  
 LPC – лизофосфатидилхолин / lysophosphatidylcholine  
 LPE – лизофосфатидилэтаноламин / lysophosphatidylethanolamine

**Рис. 2.** Метаболиты, содержание которых в тканях головного мозга животных изменилось вследствие ингаляционного воздействия НЧ PbO. На графике указана кратность изменения величины аналитического сигнала относительно контрольной группы  $\pm$  абсолютная погрешность.

**Fig. 2.** The metabolites in the rat brain tissue, which contents changed in response to inhalation exposure to PbO NPs. The graph shows the fold change of the analytical signal of metabolites in the exposed animals compared to the controls  $\pm$  absolute error.



**Рис. 3.** ROC-кривая для комплекса обнаруженных метаболитов. AUC – площадь под ROC-кривой.

**Fig. 3.** The ROC curve for the combination of detected metabolites. AUC is the area under the ROC curve.

ние содержания 19 метаболитов, которые отражали метаболизм липидов и пуринов. При этом два метаболита показали снижение содержания НЧ PbO в мозге лабораторных животных после ингаляционного воздействия, тогда как для 17 метаболитов было характерно увеличение содержания (рис. 2).

Для комбинации обнаруженных метаболитов была построена ROC-кривая, где площадь под кривой ROC-кривой (AUC) указывает на отличную ( $AUC > 0,9$ ) способность модели выбранных метаболитов к распознаванию воздействия ингаляционного воздействия НЧ PbO на мозг (рис. 3).

## Обсуждение

Ген *ATM* играет ключевую роль в ответе на повреждения ДНК, особенно на двуцепочечные разрывы. Проведённое исследование выявило увеличение в 1,4 раза уровня экспрессии гена *ATM* в обонятельной луковице животных, подвергавшихся ингаляционному воздействию НЧ PbO, по сравнению с контрольной группой животных. Повышение уровня мРНК *ATM* может указывать на его активацию, вызванную окислительным стрессом в результате воздействия НЧ PbO. Кроме этого, известно, что *ATM* способен фосфорилировать и активировать p53, запуская процессы репарации ДНК или апоптоза в зависимости от степени повреждения ДНК [11]. Наша предыдущая работа выявила увеличение экспрессии гена *P53* в 2,3 раза при одновременном снижении антиапоптотического гена *Bcl-2* в 1,5 раза после ингаляционного воздействия НЧ PbO [10]. Аналогичные данные были получены группой исследователей, изучавших влияние водорастворимых твёрдых частиц на жизнеспособность клеток эпителия лёгких человека. Обнаружено, что в клетках, подвергавшихся воздействию водорастворимых твёрдых частиц, было увеличено мРНК генов *ATM* и *P53*, что приводило к нарушению клеточного цикла [14]. В другом исследовании воздействие эндосульфидом на клетки также вызвало повышение регуляции *ATM* и *P53*, указывавшее на возникновение повреждений ДНК [11]. Исследование экспрессии генов в крови, проведённое среди мужчин, занимающихся переработкой электронных отходов, показало изменение мРНК генов, вовлечённых в поддержание стабильности генома, апоптоз и путь p53, в том числе повышенную регуляцию гена *ATM*, что свидетельствовало о повреждении ДНК [15]. *MDM2* поддерживает уровни белка p53 в клетке на низком уровне, препятствуя его активации [12]. Отсутствие изменений в экспрессии гена *MDM2* может косвенно свидетельствовать о накоплении p53 в клетке и остановке клеточного цикла. Кроме того, известно, что *ATM* фосфорилирует *MDM2*, что приводит к стабилизации p53 в клетке и его функциониро-

ванию [16]. В работе по изучению воздействия фторида на клетки было обнаружено повышение мРНК *АТМ* и *P53*, а также апоптотического гена *BAX* с одновременным снижением экспрессии генов *MDM2* и антиапоптотического *BCL-2* в почечных тканях, что привело к реализации митохондриального пути апоптоза [17]. Таким образом, полученные в этом исследовании данные в совокупности с нашей предыдущей работой предполагают активацию апоптотического процесса в клетках обонятельной луковицы, вызванную ингаляционным воздействием НЧ PbO через путь АТМ/p53.

Повышенное содержание продуктов гидролиза фосфолипидов (LPC, LPE и ПНЖК) характерно для деградации фосфолипидов клеточных мембран, которая наблюдается при перекисном окислении липидов из-за образования АФК, вызванных воздействием НЧ PbO [18]. Сообщалось, что при подавлении активности P53 снижается содержание внутриклеточных LPC и LPE, что свидетельствует об опосредованной P53 регуляции ферментов, участвующих в метаболизме липидов [19]. LPC при высвобождении из апоптотических клеток стимулируют привлечение моноцитарных клеток и макрофагов, действуя при этом как медиатор при апоптозе [20]. Полученные данные также согласуются с описанным увеличением уровня фосфорилхолина и ПНЖК в апоптотических клетках, что объясняется активацией в клетках фосфолипаз и снижением способности к синтезу липидов [21, 22]. Сами ПНЖК могут инициировать апоптоз косвенными или прямыми путями, в том числе подавлением путей выживания клеток и повышением экспрессии генов апоптоза [23]. Также было показано, что докозагексаеновая кислота индуцирует апоптоз активацией сигнальных путей P53 через повышение экспрессии *BAX* и каспаз [24].

Н-олеилэтаноламид относится к семейству биологически активных амидов жирных кислот, и предполагается, что их накопление в нейронах происходит в связи с повреждением и гибелью клеток [25]. Окислительный стресс является основным фактором, вызывающим дезаминирование, в результате которого происходит удаление аминогруппы из азотистого основания ДНК [26]. Так, при дезаминировании аденина образуется гипоксантин, который может свидетельствовать о повреждении ДНК, что согласуется со способностью НЧ PbO вызывать окислительный стресс. Гипоксантин и инозин взаимопревращаемы, но инозин считается малоактивным метаболитом, тогда как гипоксантин метаболизируется до мочевой кислоты с высвобождением АФК, усугубляя тем самым повреждение клеточных структур [27]. Гипоксантин способен вызывать митохондриальную дисфункцию и апоптоз за счёт нарушения энергетического обмена [28]. Было показано, что гипоксантин индуцирует апоптоз за счёт активации каспазы-3 и снижения экспрессии *BCL-2*. Это согласуется с данными нашей предыдущей работы, показавшей, что экспрессия гена *BCL-2* достоверно снижается в результате воздействия НЧ PbO [10, 27].

Ацилкарнитины являются промежуточными продуктами в  $\beta$ -окислении, и изменения в уровне их содержания свидетельствуют о нарушении энергетического обмена в митохондриях. Также во время апоптоза, являющегося энергозатратным процессом, происходит переключение липидного обмена с липогенеза на окисление жирных кислот и наблюдается нарушение функций митохондрии вследствие протекающего апоптоза. При этом также сообщалось о p53-зависимом повышении активности карнитинпальмитоилтрансферазы I – фермента, ответственного за образование ацилкарнитинов [29].

Построенная ROC-кривая из комбинации 19 обнаруженных метаболитов демонстрирует отличную прогностическую способность модели метаболитов ( $AUC = 0,903$ ), в результате чего они могут рассматриваться как надёжный комплекс соединений, характерный для нейротоксичности, вызванной ингаляционным воздействием НЧ PbO.

Результаты данной работы продемонстрировали, что ингаляционный путь поступления НЧ PbO в концентрации  $1,55 \pm 0,06$  мг/м<sup>3</sup> в течение четырёх недель вызывает повышение уровня экспрессии гена *АТМ*. Предположительно, данное явление связано с генотоксическими эффектами НЧ PbO в обонятельной луковице лабораторных животных и активирует апоптоз клеток через путь АТМ/p53, что согласуется с наблюдаемой метаболической перестройкой.

**Ограничения исследования.** Данная работа выполнена на самках крыс породы Wistar и не учитывает возможных межполовых различий.

## Заключение

С помощью анализа экспрессии генов и метаболомики в проведённом исследовании были изучены некоторые нейротоксические эффекты ингаляционного воздействия НЧ PbO в концентрации  $1,55 \pm 0,06$  мг/м<sup>3</sup> после четырёх недель. Полученные результаты демонстрируют, что НЧ PbO повышает экспрессию гена *АТМ* в обонятельной луковице, регулируя сигнальный путь АТМ/p53, активирующий апоптотический процесс. Для вызванного НЧ PbO повреждения мозга были описаны нарушения метаболизма глицерофосфолипидов, амидов жирных кислот, ацилкарнитинов, ПНЖК и пуриновых оснований, что также характерно для клеток в состоянии апоптоза. Данное исследование продемонстрировало важность комплексного подхода для понимания нейротоксических эффектов на молекулярном уровне, оказываемых ингаляционным воздействием НЧ PbO, и предоставило более подробную информацию о вовлечённости метаболических процессов в апоптотический процесс. Необходимы дальнейшие исследования нейротоксичности НЧ PbO, направленные на оценку риска для здоровья населения и рабочих, подверженных влиянию этих частиц, и развитие мер регулирования.

## Литература

(п.п. 1–9, 11–29 см. References)

10. Кикоть А.М., Шаихова Д.Р., Берёза И.А., Минигалиева И.А., Никогосян К.М., Сутункова М.П. Изменение экспрессии генов, вовлечённых в митохондриальный путь апоптоза, при воздействии

наночастиц оксида свинца. *Гигиена и санитария*. 2024; 103(11): 1429–33. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-11-1429-1433> <https://elibrary.ru/pkpdpm>

## References

1. Sutunkova M.P., Solovyeva S.N., Chernyshov I.N., Klinova S.V., Gurvich V.B., Shur V.Ya., et al. Manifestation of systemic toxicity in rats after a short-time inhalation of lead oxide nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(3): 690. <https://doi.org/10.3390/ijms21030690>

2. Elgharabawy R.M., Alhowail A.H., Emara A.M., Aldubayan M.A., Ahmed A.S. The impact of chicory (*Cichoriumintybus* L.) on hemodynamic functions and oxidative stress in cardiac toxicity induced by lead oxide nanoparticles in male rats. *Biomed. Pharmacother.* 2021; 137: 111324. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111324>

3. Minigaliyeva I.A., Klinova S.V., Sutunkova M.P., Ryabova Y.V., Valamina I.E., Shelomentsev I.G., et al. On the mechanisms of the cardiotoxic effect of lead oxide nanoparticles. *Cardiovasc Toxicol.* 2024; 24(1): 49–61. <https://doi.org/10.1007/s12012-023-09814-5>

4. Ermolin M.S., Fedotov P.S., Ivanev A.I., Karandashev V.K., Burmistrov A.A., Taty Y.G. Assessment of elemental composition and properties of copper smelter-affected dust and its nano- and micron size fractions. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016; 23(23): 23781–90. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7637-6>

5. Ermolin M.S., Shilobreeva S.N., Fedotov P.S. Study of the chemical composition of ash nanoparticles from the volcanoes of Kamchatka. *Geochem. Int.* 2023; 61(4): 348–58. <https://doi.org/10.1134/S0016702923040043>
6. Pal D., Dastoor A., Ariya P.A. Aerosols in an urban cold climate: Physical and chemical characteristics of nanoparticles. *Urban Clim.* 2020; 34: 100713. <https://doi.org/10.1016/j.uclim.2020.100713>
7. Bláhová L., Nováková Z., Večeřa Z., Vrlíková L., Dočekal B., Dumková J., et al. The effects of nano-sized PbO on biomarkers of membrane disruption and DNA damage in a sub-chronic inhalation study on mice. *Nanotoxicology.* 2020; 14(2): 214–31. <https://doi.org/10.1080/17435390.2019.1685696>
8. Tulinska J., Krivosikova Z., Liskova A., Mikusova M.L., Masanova V., Rollerova E., et al. Six-week inhalation of lead oxide nanoparticles in mice affects antioxidant defense, immune response, kidneys, intestine and bones. *Environ. Sci. Nano.* 2022; 9(2): 751–66. <https://doi.org/10.1039/D1EN00957E>
9. Aljelehaw H.A.Q. Effects of the lead, cadmium, manganese heavy metals, and magnesium oxide nanoparticles on nerve cell function in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Cent. Asian J. Med. Pharm. Sci. Innov.* 2022; 2(1): 25–36. <https://doi.org/10.22034/CAJMPISI.2022.01.04>
10. Kikot A.M., Shaikhova D.R., Bereza I.A., Minigalieva I.A., Nikogosyan K.M., Sutunkova M.P. Alterations in the expression of genes involved in the mitochondrial apoptotic pathway upon exposure to lead oxide nanoparticles. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2024; 103(11): 1429–33. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-11-1429-1433> <https://elibrary.ru/pkpdpm> (in Russian)
11. Xu D., Liang D., Guo Y., Sun Y. Endosulfan causes the alterations of DNA damage response through ATM-p53 signaling pathway in human leukemia cells. *Environ. Pollut.* 2018; 238: 1048–55. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.044>
12. Yin J., Zhou Q., Tan J., Che W., He Y. Inorganic arsenic induces MDM2, p53, and their phosphorylation and affects the MDM2/p53 complex in vitro. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2022; 29(58): 88078–88. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21986-1>
13. Liao J., Yang F., Bai Y., Yu W., Qiao N., Han Q., et al. Metabolomics analysis reveals the effects of copper on mitochondria-mediated apoptosis in kidney of broiler chicken (*Gallus gallus*). *J. Inorg. Biochem.* 2021; 224: 111581. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111581>
14. Xia Y., Zhang X., Sun D., Gao Y., Zhang X., Wang L., et al. Effects of water-soluble components of atmospheric particulates from rare earth mining areas in China on lung cancer cell cycle. *Part. Fibre. Toxicol.* 2021; 18(1): 27. <https://doi.org/10.1186/s12989-021-00416-z>
15. Wang Y., Sun X., Fang L., Li K., Yang P., Du L., et al. Genomic instability in adult men involved in processing electronic waste in Northern China. *Environ. Int.* 2018; 117: 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.04.027>
16. Peker N., Gozuacik D. Autophagy as a cellular stress response mechanism in the nervous system. *J. Mol. Biol.* 2020; 432(8): 2560–88. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.01.017>
17. Pal P., Jha N.K., Pal D., Jha S.K., Anand U., Gopalakrishnan A.V., et al. Molecular basis of fluoride toxicities: Beyond benefits and implications in human disorders. *Genes Dis.* 2022; 10(4): 1470–93. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.09.004>
18. Wu Y., Chen Z., Darwish W.S., Terada K., Chiba H., Hui S.P. Choline and ethanolamine plasmalogens prevent lead-induced cytotoxicity and lipid oxidation in HepG2 cells. *J. Agric. Food Chem.* 2019; 67(27): 7716–25. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02485>
19. Butera A., Roy M., Zampieri C., Mammarella E., Panatta E., Melino G., et al. p53-driven lipidome influences non-cell-autonomous lysophospholipids in pancreatic cancer. *Biol. Direct.* 2022; 17(1): 6. <https://doi.org/10.1186/s13062-022-00319-9>
20. Chaurio R.A., Janko C., Muñoz L.E., Frey B., Herrmann M., Gaipf U.S. Phospholipids: key players in apoptosis and immune regulation. *Molecules.* 2009; 14(12): 4892–914. <https://doi.org/10.3390/molecules14124892>
21. Griffin J.L., Kauppinen R.A. Tumour metabolomics in animal models of human cancer. *J. Proteome. Res.* 2007; 6(2): 498–505. <https://doi.org/10.1021/pr060464h>
22. Iorio E., Di Vito M., Spadaro F., Ramoni C., Lococo E., Carnevale R., et al. Triacsin C inhibits the formation of 1H NMR-visible mobile lipids and lipid bodies in HuT 78 apoptotic cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003; 1634(1–2): 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2003.07.001>
23. Montecillo-Aguado M., Tirado-Rodríguez B., Huerta-Yepez S. The involvement of polyunsaturated fatty acids in apoptosis mechanisms and their implications in cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(14): 11691. <https://doi.org/10.3390/ijms241411691>
24. Sun Y., Jia X., Hou L., Liu X., Gao Q. Involvement of apoptotic pathways in docosahexaenoic acid-induced benefit in prostate cancer: Pathway-focused gene expression analysis using RT<sup>2</sup> Profile PCR Array System. *Lipids Health Dis.* 2017; 16(1): 59. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0442-5>
25. Wellner N., Diep T.A., Janfelt C., Hansen H.S. N-acylation of phosphatidylethanolamine and its biological functions in mammals. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013; 1831(3): 652–62. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2012.08.019>
26. Shadfar S., Parakh S., Jamali M.S., Atkin J.D. Redox dysregulation as a driver for DNA damage and its relationship to neurodegenerative diseases. *Transl. Neurodegener.* 2023; 12(1): 18. <https://doi.org/10.1186/s40035-023-00350-4>
27. Kim Y.J., Ryu H.M., Choi J.Y., Cho J.H., Kim C.D., Park S.H., et al. Hypoxanthine causes endothelial dysfunction through oxidative stress-induced apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017; 482(4): 821–27. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.11.119>
28. Virág L., Szabó C. Purines inhibit poly(ADP-ribose) polymerase activation and modulate oxidant-induced cell death. *FASEB J.* 2001; 15(1): 99–107. <https://doi.org/10.1096/fj.00-0299com>
29. Sanchez-Macedo N., Feng J., Faubert B., Chang N., Elia A., Rushing E.J., et al. Depletion of the novel p53-target gene carnitine palmitoyltransferase 1C delays tumor growth in the neurofibromatosis type 1 tumor model. *Cell Death Differ.* 2013; 20(4): 659–68. <https://doi.org/10.1038/cdd.2012.168>

## Сведения об авторах

**Кикоть Анна Михайловна**, науч. сотр. отд. молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: kikitam@ymrc.ru

**Унесихина Мария Сергеевна**, мл. науч. сотр. отд. молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: unesihinams@ymrc.ru

**Шапхова Дарья Рамильевна**, науч. сотр. отд. молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: darya.bo@mail.ru

**Берёза Иван Андреевич**, науч. сотр. отд. молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: berezaia@ymrc.ru

**Минигалиева Ильзира Амировна**, доктор биол. наук, зав. отд. токсикологии и биопрофилактики ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

**Никогосян Карен Мерсович**, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и биопрофилактики ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: nikoghosyankm@ymrc.ru

**Сутункова Марина Петровна**, доктор мед. наук, директор ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: sutunkova@ymrc.ru

## Information about the authors

**Anna M. Kikot**, researcher, Department of Molecular Biology and Electron Microscopy, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8794-7288> E-mail: kikitam@ymrc.ru

**Maria S. Unesikhina**, junior researcher, Department of Molecular Biology and Electron Microscopy, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-5576-365X> E-mail: unesihinams@ymrc.ru

**Daria R. Shaikhova**, researcher, Department of Molecular Biology and Electron Microscopy, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7029-3406> E-mail: darya.bo@mail.ru

**Ivan A. Bereza**, researcher, Department of Molecular Biology and Electron Microscopy, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-4109-9268> E-mail: berezaia@ymrc.ru

**Ilzira A. Minigalieva**, DSc (Biology), Head of the Department of Toxicology and Bioprophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-1871-8593> E-mail: ilzira@ymrc.ru

**Karen M. Nikogosyan**, junior researcher, Department of Toxicology and Bioprophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0003-0780-5733> E-mail: nikoghosyankm@ymrc.ru

**Marina P. Sutunkova**, DSc (Medicine), Director, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642> E-mail: sutunkova@ymrc.ru