

© Зайцева Н.В., Землянова М.А., Булатова Н.И., Кольдибекова Ю.В., 2019

УДК 612.12: 616.7

ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА НАРУШЕНИЙ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ПОВЫШЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ФТОРИД-ИОНА В МОЧЕ У ДЕТЕЙ

Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Н.И. Булатова, Ю.В. Кольдибекова

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, ул. Монастырская, д. 82, г. Пермь, 614045, Россия

Проведена оценка качества атмосферного воздуха по содержанию фторсодержащих соединений по данным мониторинговых исследований, химико-аналитическое определение фторид-иона в моче, выполнено протеомное исследование плазмы крови у детей групп наблюдения и сравнения. В условиях неудовлетворительного качества атмосферного воздуха по содержанию гидрофторида, обусловленного хозяйственной деятельностью объектов производства алюминия, у детей группы наблюдения установлено повышенное содержание фторид-иона в моче относительно аналогичного показателя у детей группы сравнения и референтного уровня. Концентрация фторид-иона в моче обоснована в качестве маркера ингаляционной экспозиции. Сравнительный анализ позволил выявить наличие достоверных различий относительного объема белковых пятен. Получены масс-спектры, содержащие информацию о пептидах, входящих в состав исследуемых белков, установлены гены, кодирующие идентифицируемые белки.

Ключевые слова: загрязнение атмосферного воздуха, детское население, фторид-ион в моче, протеомный профиль, ремоделирование костной ткани, катепсин L1, SH3-доменный белок - RF3, аннексин-13.

Для цитирования: Зайцева Н.В., Землянова М.А., Булатова Н.И., Кольдибекова Ю.В. Исследование и оценка нарушений протеомного профиля плазмы крови, обусловленных повышенной концентрацией фторид-иона в моче у детей // Здоровье населения и среда обитания. 2019. № 7 (316). С. 23–27. DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-316-7-23-27>

N.V. Zaitseva, M.A. Zemlianova, N.I. Bulatova, J.V. Koldibekova □ ANALYSIS AND EVALUATION OF BLOOD PLASMA PROTEOMIC PROFILE VIOLATIONS DUE TO THE INCREASED CONCENTRATION OF FLUORIDE ION IN CHILDREN'S URINE □ Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya Str., Perm, 614045, Russia.

We evaluated the air quality by the content of fluorine-containing compounds according to monitoring studies, chemical and analytical determination of fluoride ion in urine and performed proteomic analysis of blood plasma in children of the observation and comparison group. The increased content of fluoride ion in the urine was found in children of the observation group relative to the same indicator in children of the comparison group and the reference level in conditions of poor air quality for the hydrofluoride content due to the economic activity of aluminum production facilities. The concentration of fluoride ion in the urine is justified as a marker of inhalation exposure. A comparative analysis revealed the presence of significant differences in the relative volume of protein spots. Mass spectra were obtained that contain information about the peptides included in the composition of the studied protein set and the genes encoding identifiable proteins were established.

Keywords: air pollution, child population, fluoride ion in urine, proteomic profile, bone remodeling, cathepsin L1, SH3 domain protein - RF3, annexin-13.

For citation: Zaitseva N.V., Zemlianova M.A., Bulatova N.I., Koldibekova J.V. Issledovanie i otsenka narushenii proteomnogo profilya plazmy krovi, obuslovlennykh povyshennoi kontsentratsiei ftorid-iona v moche u detei [Analysis and evaluation of blood plasma proteomic profile violations due to the increased concentration of fluoride ion in children's urine]. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya, 2019, no. 7 (316), pp. 23–27. (In Russ.) DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-316-7-23-27>

Химические факторы среды обитания, в первую очередь атмосферного воздуха, в составе выбросов промышленных предприятий оказывают или могут оказывать воздействие на человека и на состояние здоровья будущих поколений. По данным государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году», с воздействием приоритетных химических примесей атмосферного воздуха селитренных территорий ассоциировано порядка 4,8 тыс. дополнительных случаев смерти и около 2,7 млн дополнительных случаев заболевания населения [3]. Хроническая аэрогенная экспозиция химических загрязнителей может обуславливать развитие негативных эффектов со стороны критических органов и систем, что

проявляется в виде формирования дополнительных случаев заболеваемости у населения, и в первую очередь детского.

На сегодняшний день актуальны выявление и оценка негативных эффектов, ассоциированных с аэрогенным воздействием химических веществ, на стадиях донозологических изменений, что позволит повысить эффективность раннего выявления развития предпатологических состояний до наступления выраженных функциональных изменений и развития болезни. Одним из наиболее перспективных подходов в решении вопроса о поиске специфических биомаркеров, пригодных для раннего выявления негативных эффектов, является использование методов молекулярной диагностики на основе технологии протеомного анализа.

Протеом человека имеет динамический характер, определяемый воздействием факторов среды обитания и эндогенных процессов, происходящих в организме в конкретный момент времени. Идентификация белков и поиск их соответствия определенным генам позволят существенно повысить эффективность раннего выявления и профилактики развития заболеваний, ассоциированных с внешнесредовым воздействием химических факторов риска [10]. Наиболее адекватной матрицей для поиска белков является плазма крови, представляющая собой репрезентативную совокупность белковых молекул и доступную биологическую среду организма [5].

В последние годы на промышленно-развитых территориях с размещением предприятий по производству первичного алюминия и металлургического глинозема стабильно отмечается превышение уровня первичной заболеваемости и неблагоприятная динамика (по сравнению со среднероссийскими показателями) по болезням костно-мышечной системы [4]. В перечень химических веществ, обладающих способностью при ингаляционном поступлении в организм человека преимущественно оказывать негативное влияние на морфологические структуры ткани или функции костной системы, входят неорганические соединения фтора в газообразном и твердом состоянии.

Механизм токсического действия ионов фтора на метаболизм костной ткани, с одной стороны, определяется его митогенной активностью в отношении остеобластов, вызывая усиленный синтез ДНК-клеток, и стимуляцией остеобластов к пролиферации с новообразованием остеоида, что подтверждено гистологическими исследованиями [9]. С другой стороны, механизм действия фтора на костную ткань обусловлен связыванием его ионов с кристаллами гидроксилапатита. При этом фториды увеличивают содержание внутриклеточного кальция, тем самым приводя его и другие минералы к фиксации в твердых тканях (минерализующий эффект) и, как следствие, к развитию нарушений обменных процессов в кости [2, 8, 12, 15, 19]. Результатом этого является нарушение ремоделирования костной ткани с преобладанием процесса резорбции, размягчение костной ткани, развитие деформаций и переломов [2, 7].

Фторсодержащие неорганические соединения свободно проникают в кровь и быстро элиминируются с мочой (до 90 %), при этом селективно адсорбируясь в высокоминерализованных тканях. Существует прямая связь между содержанием фториона в моче и его внешнесредовым поступлением, что позволяет по средней концентрации ионов фтора в моче прогнозировать наличие негативных эффектов со стороны костной ткани [8].

Таким образом, исследование и оценка нарушений протеомного профиля плазмы крови при воздействии соединений фтора с атмосферным воздухом позволяют выявить белки, которые целесообразно использовать для прогнозирования риска развития заболеваний со стороны опорно-двигательного аппарата, и повысить эффективность мер профилактики на индивидуальном и популяционном уровнях.

Цель исследования – оценка нарушений протеомного профиля плазмы крови, обусловленных повышенной концентрацией фторид-иона в моче у детей.

Материалы и методы. Оценка качества атмосферного воздуха по содержанию фтора в сельтебной застройке выполнена на примере территории с размещением алюминиевого производства по данным ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» о среднесуточных замерах за период с 2014 по 2017 г. Оценка выполнена относительно среднесуточной предельно допустимой концентрации (ПДК) в атмосферном воздухе фтористых газообразных соединений (в пересчете на фтор ПДК_{сс} = 0,005 мг/м³), фторидов неорганических плохо растворимых (алюминия фторид ПДК_{сс} = 0,03 мг/м³)¹.

Контингентом углубленного исследования являлись дети в возрасте 4–10 лет дошкольных образовательных и общеобразовательных организаций, подверженные аэрогенному воздействию неорганических соединений фтора от источников выбросов предприятия по производству алюминия (группа наблюдения – 189 детей) и вне зоны влияния (группа сравнения – 45 детей). Выборки детей по численности, половозрастному составу, психологическому климату в семье и в образовательных дошкольных организациях, социально-бытовым условиям проживания, уровню материального обеспечения, по частоте и характеру вредных привычек и профессиональных вредностей у родителей были сопоставимыми. На момент обследования дети проживали на исследуемых территориях не менее трех лет, не имели острых инфекционных заболеваний в период не менее 4 недель до начала исследования, не принимали лекарственных препаратов, оказывающих выраженное влияние на костную систему, менее чем за 30 дней до начала исследования.

От каждого законного представителя ребенка, включенного в выборку, получено письменное информированное согласие на добровольное участие в обследовании. Диагностические процедуры осуществляли с обязательным соблюдением этических принципов медико-биологических исследований, изложенных в Хельсинкской декларации 1975 г. с дополнениями 2013 г., в гармонизации с Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика» (ICH E6 GCP).

¹ ГН 2.1.6.3492–17 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений», утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 22.12.2017 № 165.

Количественное определение содержания фторид-иона в моче выполнено в соответствии с действующими в Российской Федерации методическими указаниями: МУК 4.1.773–99² на масс-спектрометре с индуктивно связанной аргонной плазмой Agilent 7500cx (США) и ионметре лабораторном автоматизированном ИЛА-2 (Россия). Оценка уровня содержания фторид-иона в моче выполнена на основании сравнительного анализа с его референтным уровнем ($RL = 0,2 \text{ мг/дм}^3$) [6].

Для выявления и оценки зависимости концентрации фторид-иона в моче от концентрации гидрофторида в атмосферном воздухе выполняли математическое моделирование с оценкой достоверности и адекватности модели на основании однофакторного дисперсионного анализа по критерию Фишера ($F \geq 3,96$), коэффициенту детерминации (R^2) и t-критерию Стьюдента ($t \geq 2$) при заданном уровне значимости $p \leq 0,05$ [1]. При установлении адекватной модели, отражающей исследуемую зависимость, повышенную концентрацию фторид-иона в моче принимали в качестве маркера хронической аэрогенной экспозиции.

Протеомные исследования плазмы крови выполнены у детей группы наблюдения, имеющих наиболее высокие уровни содержания фторид-иона в моче ($1,0\text{--}2,7 \text{ мг/дм}^3$). В качестве группы сравнения выбраны дети, имеющие наиболее низкие уровни содержания фторид-иона в моче относительно референтных значений ($0,27\text{--}0,52 \text{ мг/дм}^3$).

Исследование протеомного профиля плазмы крови выполнено по технологии двумерного электрофореза в полиакриламидном геле в соответствии с методиками, рекомендованными для используемого оборудования [16–18]. Полученные электрофореграммы плазмы крови визуализировали методом окраски серебром и документировали с помощью системы для гель-документирования (BioRad, США). Анализ полученных протеомных карт проводили с помощью программного комплекса PDQuest. В полученной протеинограмме выделяли значимые белковые пятна по их интенсивности и проводили последующий анализ методом жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрическим анализом (на хроматографе UltiMate 3000 и тандемном масс-спектрометре ABSciex 4000 QTRAP с источником ионизации Nanospray 3). Данные тандемных экспериментов обрабатывались программой ProteinPilot, версия 4.5 (AB SCIEX) с идентификацией по базе данных UniProt_sprot_fasta (от 24.11.2017), с выборкой по таксону Homo Sapiens. Основная часть информации о полученных белках экстрагирована из баз данных UniProt (<http://www.uniprot.org>). Установление гена, которому соответствует идентифицированный белок, выполнено с помощью базы данных HGNC

database of human gene name (<https://www.genenames.org/>).

Статистическая обработка результатов исследования выполнена в пакете статистического анализа Statistica 6.0 и специально разработанных программных продуктах, сопряженных с приложениями MS Office. Использованы параметрические методы статистики, так как случайные величины анализируемых показателей соответствовали закону нормального распределения. Характеристики выборки представляли в виде среднего значения и ошибки репрезентативности. Сравнение двух несвязанных групп проведено по величине двухвыборочного t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми являлись отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p \leq 0,05$ [1]. Выявление и оценка зависимости содержания идентифицированных белков в плазме крови от концентрации фторид-иона в моче выполнена с помощью регрессионного анализа. Достоверность полученных моделей оценивали на основе дисперсионного анализа с помощью F-критерия Фишера. Достоверность параметров модели оценивали по t-критерию Стьюдента. Вклад фторид-иона в изменения зависимой переменной оценивали по коэффициенту детерминации (R^2). Критерием статистической значимости являлась величина $p \leq 0,05$ [1].

Результаты исследования. Оценка качества атмосферного воздуха селитебной застройки в зоне влияния источника выбросов алюминиевого производства показала превышение гидрофторида до $4,0 \text{ ПДКсс}$, фторидов неорганических плохо растворимых до $3,0 \text{ ПДКсс}$.

Химико-аналитическими исследованиями установлено, что у детей группы наблюдения среднее содержание фторид-иона в моче составило $0,955 \pm 0,144 \text{ мг/дм}^3$, что в $1,8$ раза выше аналогичного показателя у детей группы сравнения ($0,526 \pm 0,097 \text{ мг/дм}^3$, $p = 0,0001$) и в $4,8$ раза выше референтного уровня фторид-иона в моче ($p = 0,0001$). Частота регистрации проб мочи с повышенным содержанием фторид-иона относительно группы сравнения составила $33,8 \%$ от общего количества исследованных проб.

Получена адекватная модель зависимости содержания фторид-иона в моче от концентрации гидрофторида в атмосферном воздухе ($R^2 = 0,38$; $p = 0,002$), описываемая уравнением вида: $y = 0,001 + 9,806x$ (область определения модели $[0,0001; 0,023]$, мг/дм^3). На основании полученной модели зависимости концентрация фторид-иона в моче выше $0,2 \text{ мг/дм}^3$ обоснована в качестве маркера ингаляционной экспозиции.

Сравнительный анализ результатов изменения протеомных карт плазмы крови детей исследуемых выборок позволил выявить наличие достоверных различий относительного объема белковых пятен у детей группы

² МУК 4.1.773–99 «Количественное определение ионов фтора в моче с использованием ионселективного электрода» // Определение химических соединений в биологических средах: Сб. метод. указаний МУК 4.1.763–4.1.779–99. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000. С. 97–105.

наблюдения и группы сравнения. В результате идентификации достоверно отличающихся белковых пятен получены масс-спектры, содержащие информацию о пептидах, входящих в состав исследуемых белков, характеризующие преимущественно процессы нарушения ремоделирования костной ткани: катепсин L1, SH3-доменный белок-RF3, аннексин-13.

Катепсин L1 – внутриклеточная протеаза, участвующая в связывании коллагена. Высвобождение этого протеолитического фермента приводит к разложению внеклеточного матрикса костной ткани с последующей деструкцией суставов [9, 11].

SH3-доменный белок-RF3 – домен в составе аминокислотной последовательности, осуществляющий изменение активности взаимодействующих молекул. Так, SH3-доменный белок-RF3 способен связываться посредством родственных лиганд с остеокласт-стимулирующим фактором человека (hOSF), вырабатываемым остеокластами, тем самым нарушая межмолекулярные взаимодействия между фактором и его молекулами-партнерами, индуцирующими резорбцию кости через каскады клеточной сигнальной трансдукции. В результате изменения активности взаимодействующих молекул происходит ингибирование образования остеокластов и замедление процесса резорбции костной ткани [14].

Аннексин-13 – белок семейства кальций-зависимых фосфолипидсвязывающих белков – играет роль в механизмах, поддерживающих внутриклеточную концентрацию кальция на строго определенном уровне. По данным зарубежных исследований, установлено участие семейства аннексинов в кальцификации костей за счет их экспрессии в остеобластах и способности связывать кальций и фосфолипиды [13].

Установлены гены CTSL, SH3RF3 и ANXA13, кодирующие идентифицируемые белки, которые представлены в таблице.

Полученные результаты показали, что при повышенном относительно группы сравнения содержании фторид-иона в моче наблюдается значимое ($p \leq 0,05$) снижение в группе наблюдения относительного объема вышеперечисленных белков.

Исследована и установлена связь изменения объема идентифицированных белков с концентрацией фторид-иона в моче. У детей группы наблюдения доля вклада фторид-иона в изменение белкового профиля плазмы крови составила для идентифицированных белков 45–48 % (таблица).

Таким образом, в условиях длительной сохраняющейся аэрогенной экспозиции фторсодержащих неорганических соединений и отсутствия направленных мер профилактики у экспонируемых детей вероятным является развитие негативных эффектов в виде нарушения ремоделирования костной ткани. Это может выражаться в последующем возрастном периоде в виде роста заболеваемости со стороны опорно-двигательной системы, что подтверждается повышенной частотой встречаемости заболеваний у детей группы наблюдения до двух раз в виде нарушения осанки (М.43), плоскостопия (М.21) и сколиоза (М.41) относительно показателей у детей в группе сравнения ($p \leq 0,001$).

Установленные омик-маркеры представляют собой принципиально новые молекулярные биологические маркеры, использование которых является перспективным и может привести к разработке инновационных методов ранней диагностики заболеваний опорно-двигательной системы, ассоциированных с воздействием химических соединений, к своевременному выявлению «групп риска», подверженных воздействию химических факторов, и повышению эффективности профилактических мероприятий.

Выводы

1. В условиях неудовлетворительного качества атмосферного воздуха по содержанию гидрофторида до 4,0 ПДКсс, фторидов неорганических плохо растворимых до 3,0 ПДКсс, обусловленного хозяйственной деятельностью объектов производства алюминия, у детей группы наблюдения установлено повышенное в 1,8–4,8 раза содержание фторид-иона в моче относительно аналогичного показателя у детей группы сравнения и референтного уровня.

2. Концентрация фторид-иона в моче выше 0,2 мг/дм³ обоснована в качестве маркера ингаляционной экспозиции.

3. Идентифицированные белки аннексин-13, SH3-доменный белок-RF3, катепсин L1 и, соответственно, гены CTSL, SH3RF3 и ANXA13, их кодирующие, обоснованы в качестве омик-маркеров аэрогенной экспозиции фторсодержащих неорганических соединений.

4. Долевой вклад фторид-иона в изменение белкового профиля плазмы крови детей с повышенным содержанием фторид-иона в моче составил для идентифицированных белков 45–48 %.

Таблица. Перечень белков протеомного профиля плазмы крови и их связь с содержанием фторид-иона в моче детей

Table. Proteins' list of the blood plasma proteomic profile and their relationship with the content of fluoride ion in the children's urine

Наименование белка	Код в базе данных	Ген, кодирующий белок	Коэффициент детерминации (R ²)	Уровень значимости (p)
Катепсин L1	P07711	CTSL	0,45	0,0164
SH3-доменный белок-RF3	Q8TEJ3	SH3RF3	0,45	0,0164
Аннексин-13	P27216	ANXA13	0,48	0,0127

ЛИТЕРАТУРА
(п. 10–19 см. References)

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.
2. Журавская Н.С., Рущенко Н. А., Окунь Б. В и др. Интоксикация фтором и его соединениями: Учебное пособие. Владивосток: Медицина ДВ, 2014. 54 с.
3. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018. 268 с.
4. Оценка влияния факторов среды обитания на здоровье населения Иркутской области: Информационно-аналитический бюллетень за 2014 год. Иркутск, 2015. 50 с.
5. Сучков С.В., Гнатенко Д.А., Костюшев Д.С., Крынский С.А., Пальцев М.А. Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии // Вестник РАМН. 2013. № 1. С. 65–71.
6. Тит Н.У. Клиническое руководство по лабораторным тестам. М.: ЮНИМЕД-пресс, 2003. 570 с.
7. Шугалей И.В., Гарабадзхи А.В., Илюшин М.А., Судариков А.М. Некоторые аспекты влияния алюминия и его соединений на живые организмы // Экологическая химия. 2012. № 21 (3). С. 172–186.
8. Янин Е.П. Биогеохимическая роль и эколого-гигиеническое значение фтора // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов. 2009. № 4. С. 20–108.
9. Ярыгина Е.С., Жанаева С.Я., Богатырева А.В. Катепсин L-подобная активность сыворотки крови и синовиальной жидкости при артритах у детей // Бюллетень СО РАМН. 2003. № 1 (107). С. 37–39.

REFERENCES

1. Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika [Biomedical statistics]. Moscow: Praktika Publ., 1998, 459 p. (In Russ.)
2. Zhuravskaya N.S., Rushchenko N. A., Okun' B. V. et al. Intoksikatsiya ftorom i ego soedineniyami: Uchebnoe posobie [Intoxication with fluorine and its compounds: A tutorial]. Vladivostok: Meditsina DV Publ., 2014, 54 p. (In Russ.)
3. O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossiiskoi Federatsii v 2017 godu: Gosudarstvennyi doklad [On the state of sanitary and epidemiological wellbeing of the population in the Russian Federation in 2017: the State Report]. Moscow: Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitel'ei i blagopoluchiya cheloveka Publ., 2018, 268 p. (In Russ.)
4. Otsenka vliyaniya faktorov sredy obitaniya na zdorov'e naseleniya Irkutskoi oblasti. Informatsionno-analiticheskii byulleten' za 2014 god [Assessment of the impact of environmental factors on the health of the Irkutsk region population: Information and analytical bulletin for 2014]. Irkutsk, 2015, 50 p. (In Russ.)
5. Suchkov S.V., Gnatenko D.A., Kostyushev D.S., Krynskiy S.A., Pal'tsev M.A. Proteomika kak fundamental'nyi instrument doklinicheskogo skrininga, verifikatsii analizov i otsenki primenyaemoi terapii [Proteomics as a fundamental tool for preclinical screening, verification of tests and evaluation of the applied therapy]. Vestnik RAMN, 2013, no. 1, pp. 65–71. (In Russ.)
6. Tits N.U. Klinicheskoe rukovodstvo po laboratornym testam [Clinical Laboratory Test Guide]. Moscow: YuNIMED-press Publ., 2003, 570 p. (In Russ.)
7. Shugalei I.V., Garabadzhiu A.V., Ilyushin M.A., Sudarikov A.M. Nekotorye aspekty vliyaniya alyuminiya i ego soedinenii na zhivye organizmy [Some aspects

- of the influence of aluminum and its compounds on living organisms]. *Ekologicheskaya khimiya*, 2012, no. 21 (3), pp. 172–186. (In Russ.)
8. Yanin E.P. Biogeokhimicheskaya rol' i ekologo-gigienicheskoe znachenie fitora [Biogeochemical role and ecological and hygienic value of fluorine]. *Problemy okruzhayushchei sredy i prirodnykh resursov*, 2009, no. 4, pp. 20–108. (In Russ.)
9. Yarygina E.S., Zhanaeva S.Ya., Bogatyreva A.V. Katepsin L-podobnaya aktivnost' syvorotki krovi i sinovial'noi zhidkosti pri artritakh u detei [Cathepsin L-like activity of blood serum and synovial fluid in children with arthritis]. *Byulleten' SO RAMN*, 2003, no. 1 (107), pp. 37–39. (In Russ.)
10. Anderson N., Polanski M., Pieper R., Gatlin T., Tirumalai R., Conrads T., Veenstra T., Adkins J., Pounds J., Fagan R. The human plasma proteome: A non-redundant list developed by combination of four separate source. *Mol. Cell Proteomics*, 2004, vol. 3, pp. 311–316.
11. Burton L.J., Smith B.A., Smith B.N., Loyd Q., Nagappan P., McKeithen D., Wilder C.L., Platt M.O., Hudson T., Odero-Marah V.A. Muscadine grape skin extract can antagonize Snail-cathepsin L-mediated invasion, migration and osteoclastogenesis in prostate and breast cancer cells. *Carcinogenesis*, 2015, no. 36 (9), pp. 1019–1027. DOI:10.1093/carcin/bgv084
12. Cerklewski F.L. Fluoride bioavailability – nutritional and clinical aspects. *Nutr. Res*, 1997, vol. 17, no. 5, pp. 907–929.
13. Damazo A.S., Moradi-Bidhendi N., Oliani S.M., Flower R.J. Role of annexin I gene expression in mouse craniofacial bone development. Birth Defects Research Part A. *Clinical and Molecular Teratology*, 2007, no. 79 (7), pp. 524–532. DOI:10.1002/bdra.20368
14. Han S., Liu Q., Wang F., Yuan, Z. Targeting the SH3 domain of human osteoclast-stimulating factor with rationally designed peptoid inhibitors. *Journal of Peptide Science*, 2016, no. 22 (8), pp. 533–539. DOI:10.1002/psc.2901
15. Krewski D., Yokel R.A., Nieboer E. et al. Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B*, 2007, no. 10, pp. 1–269.
16. PROTEAN i12 IEF System. Instruction Manual. Available at: <https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/Isr/Literature/10022069A.pdf> (accessed: 20.05.2018).
17. PROTEAN II xi 2D cell. Instruction Manual. Available at: <https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/Isr/Literature/M1651801.pdf> (accessed: 20.05.2018).
18. ReadyPrep 2-D starter Kit. Instruction manual. Available at: <https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/Isr/Literature/4110009A.pdf> (accessed: 20.05.2018).
19. Review of fluoride: Benefits and risks, report of the ad hoc subcommittee on fluoride of the committee to coordinate environmental health and related programs. U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Washington, DC, 1991, 233 p.

Контактная информация:

Зайцева Нина Владимировна, научный руководитель ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН
e-mail: znv@fcrisk.ru

Contact information:

Zaitseva Nina, Research Supervisor of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of Rosпотребнадзор, Doctor of Medicine, Professor, fellow of RAS
e-mail: znv@fcrisk.ru

