

The National  
Academies of

SCIENCES  
ENGINEERING  
MEDICINE

THE NATIONAL ACADEMIES PRESS

This PDF is available at <http://www.nap.edu/24635>



Using 21st Century Science to Improve Risk-Related Evaluations

**DETAILS**

200 pages | 8.5 x 11 | PAPERBACK  
ISBN 978-0-309-45348-6 | DOI: 10.17226/24635

**CONTRIBUTORS**

Committee on Incorporating 21st Century Science into Risk-Based Evaluations; Board on Environmental Studies and Toxicology; Division on Earth and Life Studies; National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine

## Наука 21-го века: вклад в оценку ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ

Приложение В:

Примеры исследований по оценке токсичности химических веществ

Перевод на русский язык: Баландина Юлия Геннадиевна

Редактор русского перевода: д.б.н. Суворов Александр Николаевич

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

### ПРИМЕРЫ ИССЛЕДОВАНИИ ПО ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

В этом приложении представлены тематические исследования, которые показывают, как наука 21 века может использоваться для оценки рисков, включая любой компонент процесса оценки риска (идентификация опасности, оценка доза-реакция, оценка экспозиции или характеристика риска). В первом примере показано использование методов перекрестного анализа для устранения пробелов в информации о химическом веществе, по которому имеется небольшое количество данных. Второе использует загрязнение воздуха в качестве примера, чтобы проиллюстрировать, как наука 21 века может быть использована для решения оставшихся без ответа вопросов о четко идентифицированных опасностях или химических веществах, по которым имеется хорошая база данных.

### ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРЕКРЕСТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ПРИ НЕБОЛЬШОМ КОЛИЧЕСТВЕ ДАННЫХ

Как обсуждалось в главах 3 и 5, перекрестный анализ включает оценку химического вещества на основе его структурного сходства с химическими веществами, которые уже были протестированы, и учитывает любые различия, которые могут повлиять на фармакокинетику, метаболизм или токсикодинамику. Этот подход может сочетаться с вычислительными методами и данными тестирования на системах с высокой пропускной способностью для подтверждения или опровержения результатов анализа (см. Рис. 5-5). В качестве примеров химических веществ для этого конкретного исследования используются алкилфенолы.

Алкилфенолы представляют собой метаболиты или стойкие продукты разрушения оксилэтилированных алкилфенолов в окружающей среде, химических веществ, ранее используемых в моющих средствах. Некоторые из наиболее широко используемых алкилфенолов, особенно *p*-октилфенол и *p*-нонилфенол, имеют богатый набор токсикологических данных. В этом случае, чтобы подтвердить оценку *p*-додецилфенола,

химического вещества с плохим качеством данных, которое было протестировано в рамках проекта в ToxCast, в качестве аналогов используют *p*-октилфенол и *p*-нонилфенол. Как *p*-октилфенол, так и *p*-нонилфенол обладают слабым сродством к эстрогенным рецепторам *in vitro* (Laws et al., 2000). Репродуктивно-токсические данные *in vivo* по двум этим химическим веществам показывают противоречивые результаты.

Исследования на нескольких поколениях, проводимые в соответствии с требованиями и стандартами для лабораторной практики (good-laboratory-practice, или GLP) Национальной программой по токсикологии (NTP), указывают на небольшое количество последствий для репродуктивной системы с наименьшим уровнем наблюдаемых негативных эффектов в диапазоне 30-100 мг/кг в день (*p*-нонилфенол, Chapin et al., 1999, *p*-октилфенол, Tu1 и др., 1999) при пероральном приеме. Другие исследования также показывают влияние на репродуктивную систему, хотя и используют иные пути экспозиции, как например парентеральные инъекции или высокие пероральные дозы (см., Например, Hossaini et al., 2003; Mikkilä et al., 2006). Таким образом, критической апикальной точкой для перекрестного анализа является репродуктивная токсичность с эстрогенностью в качестве предполагаемого механизма.

*P*-додецилфенол является родственным химическим веществом, по которому имеется мало данных о токсичности *in vivo*.  $K_{ow}$  для *p*-додецилфенола выше, чем у других алкилфенолов, но все они очень гидрофобны (см. Таблицу В-1). Химическая структура *p*-додецилфенола аналогична химической структуре *p*-октилфенола и *p*-нонилфенола. Разница состоит лишь в том, что у *p*-додецилфенола есть четыре или три углерода, соответственно, на алкильной цепи. Показатели химического сходства для *p*-октилфенола с прямой цепью или *p*-нонилфенола находятся в диапазоне 55-65%. Степень химического сходства является мерой молекулярного сходства, которая основана на сопоставлении атома с атомом и является хорошей отправной точкой для молекулярных сравнений. Тем не менее, не существует четких показателей химического сходства для сопоставления аналогов; ситуацию следует рассматривать вместе с другими факторами, такими как физическая химия и специфические молекулярные особенности, которые могут резко изменить потенциальную реактивность или биологическую активность. Wu et al. (2010) предоставляют серию размышлений для определения пригодности аналогов для перекрестного анализа. Комитет отмечает, что оценки химического сходства в таблице В-1 свидетельствуют о том, что разветвленный *p*-нонилфенол может быть неприемлем для взаимозамены *p*-додецилфенола. Тем не менее, он включен в анализ, потому что

большинство моделей эстрогенности считают паразамещенные фенольные фрагменты потенциально способными связываться с эстроновым рецептором (см., например, схему дерева решений, Wu et al., 2013).

В ToxCast имеются данные о химических веществах, приведенных в таблице В-1. В каждом случае наиболее чувствительный анализ (анализ, который имеет самый низкий уровень  $AC_{50}$ <sup>1</sup>) был тот, что оценивал эстрогенную активность; кроме того, все химические вещества были активными в нескольких тестах на эстроговую чувствительность при концентрациях ниже 10 мкМ. Реакция эстрогена (связывание с рецептором или активация элемента ответа эстрогена) была наиболее распространенной реакцией на все четыре химических вещества в ToxCast. Эти результаты согласуются с выводами о качественной зависимости структура-активность (SAR), сделанными с помощью программы, разработанной Агентством по охране окружающей среды США, которая классифицирует все химические вещества как имеющие слабую эстрогенную активность на основе присутствия паразамещенного фенола и известной эстрогенной активности *p*-алкилфенолов. Несколько других анализов имели сильный позитивный ответ и  $AC_{50}$  при или ниже 10 мкМ (см. Таблицу В-2). Активность также включала взаимодействие с изоформой ретиноидного X-рецептора (RXR), прегнан-X-рецептором (PXR), рецептором витамина D и гамма-рецептором активируемым пролифераторами пероксисом (PPAR- $\gamma$ ), а также показывала митохондриальную токсичность (см. таблицу В-2).

Таким образом, данные SAR и ToxCast подтверждают объединение *p*-додецилфенола с другими фенолами как химическими веществами, имеющими предположительно общий механизм действия в виде слабой эстрогенности. Небольшая биологическая активность, наблюдаемая с другими рецепторами (RXR, PXR, рецептор витамина D и PPAR- $\gamma$ ), не является неожиданностью и подчеркивает, что токсическая активность обычно является мультимодальной. Даже эндогенные гормоны, которые обладают высокой специфичностью для определенного рецептора, имеют сравнимую неспецифичность (Kelce and Gray, 1997), а анализы с высокой пропускной способностью служат основой для оценки других потенциальных или непредвиденных токсических эффектов.

Взаимодействия в более высоких концентрациях, вероятно, не приводят к токсичности. Общая *in vitro* активность *p*-додецилфенола в качестве эстрогена, по-видимому, выше

---

<sup>1</sup>  $AC_{50}$  представляет собой концентрацию, при которой в 50% -случаев вызывается ответная реакция в тестах *in vitro*.

примерно в 15 раз по сравнению с аналогами *p*-октила и *p*-нонила, а *p*-додецилфенол продемонстрировал активность в 3 раза большем количестве эстроген-рецепторных тестов. Поскольку *p*-додецилфенол является наиболее гидрофобным из алкилфенолов, его более низкий  $AC_{50}$  может быть неточным (см. ссылки и обсуждение в главе 2 о трудностях интерпретации данных тестирования *in vitro*), но данные показывают, что его эстрогенность *in vitro* находится в диапазоне других алкилфенолов.

Об эстрогенных реакциях *p*-октилфенола и *p*-нонилфенола сообщалось в многочисленных исследованиях, в том числе в исследованиях *in vivo* мультигенерации крыс, проведенных в рамках Национальной токсикологической программы (Chapin et al., 1999; Tyl et al., 1999). Для настоящего тематического исследования уровни NOAELs (no-observed-adverse-effect levels), при которых «не наблюдаются негативные изменения», определенные в двух исследованиях НТП, могут быть использованы в качестве отправной точки для получения контрольной дозы *p*-додецилфенола, хотя следует отметить, что другие опубликованные исследования сообщили об эффектах на более низких дозах. В обоих исследованиях вещество попадало в организм с пищей, диетическая концентрация 200 мг/кг не имела репродуктивных эффектов. Поскольку рост животных и потребление пищи изменялись со временем, диапазон доз (9-36 мг/кг в сутки) был связан с этой концентрацией. Использование NOAELs в качестве суррогата для *p*-додецилфенола может потребовать корректировки потенциала токсичности: самый низкий  $AC_{50}$  для *p*-додецилфенола составляет примерно одну двадцатую от наименьшего  $AC_{50}$  для *p*-октилфенола и *p*-нонилфенола, и это может потребовать соответствующей ревизии NOAELs.

**ТАБЛИЦА В-1** Коэффициенты разделения октанол-вода ( $K_{ow}$ ) и химические показатели сходства (CSS) для отобранных алкилфенолов.

Вещество	CAS номер	Log $K_{ow}$ <sup>a</sup>	CSS <sup>b</sup>
<i>p</i> -октилфенол	1806-26-4	5.5	0.55
<i>p</i> -нонилфенол	104-40-5	5.76	0.64
разветвленный <i>p</i> -нонилфенол	84852-15-3	5.77	0.15
<i>p</i> -додецилфенол	104-43-8	7.91	--

<sup>a</sup>Log KOWs взяты из базы данных AOOC (EPA, EPI Suite database) (EPA 2011).

<sup>b</sup>The CSS для аналогов были рассчитаны с помощью коэффициента Tanimoto (<http://chemmine.ucr.edu>). CSS представляют собой дополнительный количественный источник для выбора аналогов для перекрестного анализа.

**ТАБЛИЦА В-2** Активность в анализах ToxCast для выбранных алкилфенолов.

Вещество	Взаимодействие с протеинами: значения AC <sub>50</sub> в мкМ <sup>a</sup>					Митохон- дриальная токсичность
	ER	RXR	PXR	рецептор витамина D	PPAR-γ	
<i>p</i> -октилфенол	1.44(4)	--	1.71	--	--	9.23
<i>p</i> -нонилфенол	1.35 (3)	8.19	--	--	7.36	--
разветвленный <i>p</i> -нонилфенол	0.517 (14)	1.4	2.29	1.98	--	6.3
<i>p</i> -додецилфенол	0.084 (13)	2.74	1.45	--	--	3.28

<sup>a</sup>Число в скобках - количество тестов на эстрогеновый ответ с AC<sub>50</sub> менее мкМ. Сокращения: ER - эстрогеновый рецептор; PPAR-γ - гамма-рецептор активируемый пролифераторами пероксисом; RXR - ретиноидный X-рецептор, PXR - прегнан-X-рецептор.

В данном перекрестном анализе было выявлено несколько ограничений, которые конспективно изложены ниже. Для корректировки NOAEL было предложено уточнить показатели AC<sub>50</sub> с использованием моделей баланса масс *in vitro*. Следует также учитывать корректировки NOAEL на основе возможных различий в фармакокинетике химических веществ. Различия в logK<sub>ow</sub> на 2 порядка, вероятно, будут важны для скорости и степени абсорбции и выведения, хотя в этом случае гидрофобность всех химических веществ достаточно высока, чтобы можно было ожидать высокой пероральной абсорбции всех химических веществ. Для подтверждения выводов, сделанных на основе перекрестного анализа, прогнозируемые оценки абсорбции, клиренса и NOAEL для эстрогенных эффектов могут быть уточнены при целевом тестировании или аналогичных целевых исследованиях. Наконец, для обеспечения целостности, согласованности и соответствующей осторожности, необходимо оценить степень погрешностей при перекрестном анализе (Blackburn and Stuard 2014).

Результатом этого перекрестного анализа может стать классификация *p*-додецилфенола в качестве эстрогенного соединения, потенциально более сильного, чем другие алкилфенолы. Установление эталонной дозы может быть достаточно правдоподобным, но дополнительная информация о метаболизме, абсорбции и влиянии на развитие чувствительных к эстрогену органов повысила бы достоверность выводов.

## ТЕМАТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУХА

Уже давно существует серьезная обеспокоенность тем, что экспозиция загрязненным воздухом может привести к хроническим последствиям для здоровья, но только в последние несколько десятилетий эпидемиологические исследования убедительно подтвердили связь загрязнения воздуха с ранней смертностью, повышенным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний и рака (ЕРА 2009). Помимо доказательств опасности, последние исследования более точно определили зависимость «экспозиция-реакция» (Beelen et al., 2014).

Новые данные отражают большую вычислительную мощь, позволяющую внести существенные улучшения в эпидемиологические методы, в особенности оценки экспозиции на базе больших массивов данных, сочетающие широкомасштабный мониторинг загрязнителей окружающей среды с применением передовых географических информационных систем (ГИС), дисперсионных моделей и моделей регрессии в результате землепользования (LUR) для оценки экспозиции на больших популяциях. Эти методы - и десятилетия инвестиций в общенациональные системы наблюдения за загрязнением воздуха - позволили исследователям создать модели долгосрочной экспозиции для крупных когортных исследований и изучить долгосрочные последствия загрязнения воздуха (такие как рак и сердечно-сосудистые заболевания), с контролем для основных потенциальных ко-факторов. Исследования, основанные на этих достижениях, примером которых служат недавние публикации консорциума European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE) (Beelen et al., 2014), привели к тому, что рабочая группа Международного агентства по изучению рака (IARC) заключила, что имеются «достаточные» доказательства того, что загрязнение атмосферного воздуха является канцерогенным для человека и что доказательств «достаточно» для заключения о том, что содержащиеся в воздухе микрочастицы (particulate matter = PM) являются канцерогенными для человека (IARC 2015). (Микрочастицы обычно классифицируются на следующие размерные классы: грубые - 2.5-10 мкм (PM10); тонкие - 0,1-2,5 мкм (PM2.5); и ультратонкие - <0.1 мкм (PM0.1) - Прим. редактора перевода.)

Данные о причинно-следственной связи загрязнения воздуха с раком легких (IARC 2015) обширны, и выявление факторов риска не является проблемой для принятия нормативных решений, по крайней мере в странах с высоким уровнем доходов, имеющих хорошо зарекомендовавшие себя модели, основанные на фактических данных стандартов качества

воздуха. Тем не менее, существует ряд научных вопросов, касающихся загрязнения воздуха и рака, на которые до сих пор не существует ясных ответов и которые по-прежнему актуальны для принятия регулятивных решений; в решении этих вопросов могут помочь методы и подходы науки 21 века. Это конкретное тематическое исследование иллюстрирует, как новейшие технологии в науке могут использоваться для решения имеющихся вопросов о четко определенных опасностях или химических веществах, по которым имеется достаточное количество данных, и рассматривает следующие ключевые вопросы:

- *Определение критических источников и компонентов-загрязнителей воздуха.*

1) Загрязнители воздуха - это смесь компонентов из множества источников; ее состав меняется во времени и пространстве.

2) Состав смеси загрязнителей не полностью охарактеризован, и исследования страдают от «синдрома лампового столба» (=ищут там где светло - то есть имеется фокус на нескольких целевых или индикаторных загрязнителях, таких как загрязняющие вещества по критериям АООС, включая РМ и диоксид азота).

3) Существует возможность взаимодействия и синергизма между различными компонентами смеси загрязненного воздуха с вытекающими изменениями уровня общей токсичности смеси.

- *Характеристика отношения «экспозиция-реакция».*

1) На основании имеющихся эпидемиологических данных, в настоящий момент ни в США, ни где либо еще не было обнаружено такого порогового уровня долгосрочной экспозиции загрязненным воздухом, с которого начиналось бы влияние на общую смертность и на развитие рака (Raaschou-Nielsen et al., 2013 , Beelen et al., 2014, Hamra et al., 2014).

2) Способность обнаружения эффектов и точной характеристики рисков при низких уровнях экспозиции затруднена даже в больших когортах, таких как когорты ESCAPE и когорта American Cancer Society.

3) Существуют различные гипотезы о возможных механизмах, посредством которых загрязнение воздуха оказывает долгосрочное неблагоприятное воздействие при существующих экспозициях. Эти механизмы, вероятно, отличаются по оказываемым эффектам на здоровье и составу смесей загрязнителей.



4) Отдельные группы населения могут подвергаться большему риску из-за таких параметров как генетика, стадия жизни, имеющееся ранее заболевание или кумулятивная экспозиция другими веществами.

- *Решение возникающих проблем.*

Список возможных негативных последствий для здоровья, связанных с долгосрочным воздействием загрязненного воздуха постоянно расширяется. Например, некоторые данные указывают на возможные негативные последствия для развития нервной системы у детей и снижение когнитивной функции у взрослых (Calderon-Garciduenas et al., 2014; Chen et al., 2015).

В этом тематическом исследовании развиваются два параллельных примера. Один из них основан на раке легких, и основные проблемы связаны с оценкой отношения «экспозиция-реакция», особенно при низких уровнях экспозиции, как это имеет место в Соединенных Штатах и в значительной части Европы, и выявлением задействованных механизмов и ключевых компонентов смеси, которые могут вызывать риск развития рака. Вторым примером, нейроразвитие у детей, был выбран по разным причинам. Эти вопросы касаются главным образом идентификации опасностей, поскольку причинные ассоциации с загрязнением воздуха для какого-либо конкретного неврологического исхода далеки от того, чтобы быть четко определенными. Изучение нарушений развития нервной системы, таких как аутизм, сталкивается с серьезными сложностями, так как требует привлечения крупных когорт беременных, подробных оценок загрязнения воздуха и сравнения результатов между исследованиями, оценивающими большой спектр нейropsychологических эффектов и когнитивных функций в разные возрастные периоды у детей, подвергающихся воздействию различных загрязняющих веществ.

#### **Рак легких: характеристика отношения «экспозиция-реакция» и идентификация ключевых компонентов смеси**

Существующие методы эпидемиологии вряд ли могут дать прямые ответы на проблемы оценки риска малых доз и определить форму кривой зависимости «экспозиция-реакция» частично из-за того, что существуют ограничения в отношении размера когорт, которые могут быть собраны, а так же из-за того, что ошибка измерения экспозиции является неизбежной для имеющихся инструментов. Однако эти проблемы можно решать с

помощью новых подходов и методов, описанных ниже, которые помогают точнее охарактеризовать экспозицию и глубже изучить механизмы.

### **Внешний экспозом**

Одной из важнейших проблем при характеристике отношения «экспозиция-реакция» является более точное определение экспозиции, особенно при низких ее уровнях. Новые подходы к оценке экспозиции, основанные на концепции экспозома, могут помочь решить эту проблему. Как говорилось в первой главе, термин «экспозом» относится ко всей совокупности экспозиций, которым подвергается индивидуум. Эта тема обсуждается здесь в связи с появлением новых инструментов, обеспечивающим интегрированные во времени измерения множества загрязнителей на индивидуальном уровне с большим пространственным и временным разрешением, чем это могло быть достигнуто ранее (см. главу 2). Такие измерения потенциально помогут лучше охарактеризовать связь между экспозицией и реакцией, уменьшив погрешность измерения экспозиции и предоставив необходимые входные данные для моделей коррекции ошибок измерения.

Новые подходы к оценке экспозиции резко контрастируют с теми, которые использовались в прошлых исследованиях. Первоначально эпидемиологические исследования загрязнения воздуха основывались на классификации экспозиций, основывающейся на всего лишь нескольких измерениях в нескольких местах. Даже известное исследование Шести городов (Harvard Six Cities Study Dockery et al., 1993), начатое в 1974 году, основывалось на измерениях центральных участков в шести выбранных городах. Волна исследований включивших оценку экспозиции во временной динамике, начавшаяся около трех десятилетий назад, полностью учитывала временные детали параметров экспозиции, но использовала пространственно ограниченные данные мониторинга. Более поздние когортные исследования также включали в себя более уточненные временные показатели, такие как почасовые или ежедневные замеры на станциях мониторинга, но опять же были пространственно ограниченными, часто одной или нескольких станциями в городе. Средний общегородской риск в течение определенных периодов затем применялся ко всем резидентам, участвующим в проекте и был признан экологическим или семи-экологическим (т.е. уровень экспозиция населения, но с ковариационной информацией индивидуального уровня, Künzli and Tager 1997). Этот подход, отраженный в исследовании «Шесть городов», игнорирует внутригородские вариации и подразумевает, что пространственная неоднородность загрязнителей воздуха

несущественна или что жители перемещаются внутри города достаточно, чтобы быть подвергнутыми аналогичным воздействиям с различными источниками загрязнителей. Ни одно предположение не является верным на практике. Таким образом, эти исследования допускали встроенную ошибку. Тем не менее, они позволили обнаружить ассоциацию с показателями РМ экспозиции, что, вероятно, объясняется тем, что исследования позволили использовать высокое временное разрешение и оценить флуктуации загрязнителей воздуха, особенно при оценке краткосрочных эффектов, таких как временная динамика смертности.

В настоящий момент разрабатываются новые инструменты, позволяющие лучше фиксировать пространственные различия в эффектах на здоровье (Coker et al., 2015). Достижения начала 21-го века, такие как ГИС, модели рассеивания и модели ЛУР, позволили определить пространственные различия показателей экспозиции. До применения новых методов экспозиции обычно распределялись по месту проживания, и эта практика учитывала некоторые изменения в пределах города. Однако данные экспозиции по месту проживания не отражали всего спектра экспозиций, которым подвергались испытуемые. Например, в Европе и США исследователи использовали индивидуальные измерения РМ<sub>2,5</sub> в ряде городов с множеством характеристик землепользования (трафик, наличие портов и заводов, плотность населения) для прогнозирования концентраций по отдельным точкам с использованием моделей LUR и иногда добавлением временного компонента к оценкам с данными мониторинга окружающей среды (Raaschou-Nielsen и др., 2013) и получили достаточно качественные результаты. Однако, при сравнении с исследованиями мониторинга индивидуальной экспозиции было выяснено, что на эти измерения повлияла ошибка измерения. Мониторинг индивидуальной экспозиции основан на использовании рюкзаков или аналогичных устройств, содержащих приборы, которые измеряют экспозицию на индивидуальном уровне с большим временным и пространственным разрешением; для повышения уверенности в выполнимости замеров, такой мониторинг обычно проводится в течение более коротких периодов времени, таких как 2-4 недели. Замеры внешней экспозиции показали сложность охвата всей индивидуальной экспозиции для РМ. Например, было показано, что приготовление пищи является существенным источником экспозиции ультратонкими (ultrafine) частицами. Подобные исследования дополняют прежние представления о том, что показатели индивидуальной экспозиции загрязненным воздухом могут широко варьировать во времени и пространстве и зависеть от конкретных временных характеристик, таких как время, проведенное дома, в пробках, на работе и в

ресторанах. Без понимания такого разнообразия, оценки экспозиции могут быть весьма неточными и содержать ошибки в оценке риска (Nieuwenhuijsen et al., 2015). Новые персональные устройства, которые будут измерять большее разнообразие загрязнителей, находятся в стадии разработки, о чем сообщается во второй главе.

Тем не менее, вряд ли какие-либо из новых сенсорных технологий будут применяться (с точки зрения обработки данных и безопасности) на индивидуальном уровне в крупных когортах на протяжении длительного периода времени (речь идет о десятилетиях), необходимого для исследования рисков развития хронических заболеваний. Вряд ли будут предприняты и достаточно объемные и содержательные исследования, необходимые для решения ключевых вопросов, связанных с раком легких и загрязнением воздуха. В такой ситуации, crowd sourcing или сбор анонимных данных с использованием датчиков может быть практически осуществимой альтернативой, если она будет реализована в рамках существующих или новых когорт. Полученные данные затем будут использованы для уточнения моделей и оценок, связанных с участниками таких когорт. Возможные ограничения таких методов сбора данных включают смещение выборки и погрешность измерения устройств (см. NRC 2012 для более подробного обсуждения возможных ограничений). Комитет предполагает, что в дальнейшем оценки экспозиции в когортных исследованиях будут более точными. Это может быть достигнуто путем включения обширных данных о времени активности в сложные усовершенствованные пространственно-временные модели загрязнения и путем лучшего контроля погрешности измерений, что уменьшит погрешности в отношении рисков возникновения рака легких, связанного с загрязнением воздуха.

Новые и возникающие подходы также будут полезны для решения другой проблемы, отмеченной выше, которая связана с характеристикой конкретных компонентов смеси и соответствующих источников, вызывающих риск развития рака легких. Большинство фактических данных о влиянии загрязнения воздуха РМ на здоровье в результате эпидемиологических исследований (например, на рак легких) основано на оценке массы РМ как показателя экспозиции. Но РМ представляет собой сложную смесь, где частицы разного размера и состава могут отличаться по токсичности и канцерогенному потенциалу. Кроме того, РМ существует в рамках более широкой смеси загрязнителей воздуха.

Использование новых подходов к моделированию может определить концентрации различных компонентов и характеристик РМ и облегчить изучение взаимосвязи между конкретными компонентами РМ и риском для здоровья. Недавние исследования предоставили достаточно полную и разностороннюю информацию об источниках загрязнения атмосферного воздуха и включили LUR модели для оценки РМ<sub>10</sub>, РМ<sub>2,5</sub> и диоксида азота (Raaschou-Nielsen и др., 2016). Затем были разработаны модели элементного состава (рентгенолюминесценция), элементарного и органического углерода, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), бензола и мелкозернистых частиц, которые мало изучены из-за различий в оценке экспозиции (Chang et al. 2015). Оценка экспозиции РМ ультратонких частиц теперь возможна, например, с помощью инновационного мобильного мониторинга, который, как было показано, является надежным и экономичным способом сбора данных (Hudda et al., 2014).

Появилась возможность использовать новые *in vitro* и *in vivo* тесты для оценки и сравнения токсичности различных образцов РМ. Одним из свойств частиц, отражающих токсичность, является окислительный потенциал, свойство, для которого были разработаны новые тесты, измеряющие снижение антиоксидантов в жидкостной пленке выстилающей легкие (Kelly and Fussell 2015). Анализируя пространственную и временную изменчивость окислительного потенциала РМ в фильтрах, можно охарактеризовать детерминанты этих вариаций и разработать новые модели пространственного определения загрязнения воздуха для окислительного потенциала (Yang et al., 2015).

Тем не менее, модели загрязнения воздуха обеспечивают лишь информацией о концентрациях наружного загрязнения и не включают данные о географическом местонахождении индивидуумов, необходимые для применения подхода к оценке экспозиции, который бы интегрировал данные по различным территориям. В моделях специально не учитываются источники внутренней экспозиции или уровень экспозиции наружных загрязнителей внутри помещений. Недавние достижения в области ГИС (например, моделирование маршрутов) и моделей микросреды привели к разработке более детальных моделей индивидуальной экспозиции, которые могут учитывать разнообразные источники временных данных и отражать время, проведенное в помещении. Что касается внешних экспозиций, многие города сохраняют информацию о пунктах отправления и назначения из систем предоплаченных карт или обзорных данных в путешествиях. В сочетании с региональными или национальными наблюдениями местонахождения в конкретный момент времени, эти данные представляют собой богатый

дополнительный источник индивидуальных моделей экспозиции. Для оценки новых моделей экспозиции и их использования для выработки более точных оценок риска необходимы подробные данные об экспозиции загрязненным воздухом отдельных граждан и населения в целом и модели пространственно-временной активности, базирующиеся на мониторинговых данных.

## **Внутренний экспозом**

Внутренний экспозом можно изучать с применением двух принципиальных подходов: непосредственно, методами аналитической химии (как описано в главе 2) и косвенно, с помощью -omics технологий. Прямое измерение основано на измерении экзогенных химических веществ, которые могут быть обнаружены во внутренних жидкостях и измерены с большой чувствительностью с учетом современных аналитико-химических методов. Косвенные измерения основаны на определении экспозиции экзогенными химическими веществами на основе изменений ДНК, РНК, белков или метаболитов. Геномика, транскриптомика, эпигенетика и протеомика допускают только косвенные выводы об экспозиции, а метаболомика и аддуктомика могут позволить проводить прямые измерения.

Использование -omics технологий, описанных в этом приложении, позволяет изучать изменения, например, в крови или моче, которые могут помочь охарактеризовать неблагоприятное воздействие загрязнителей воздуха, уточнить экспозицию, определить механизмы и выявить группы риска. Здесь комитет описывает потенциальный вклад различных -omics технологий в связи с поднятыми выше вопросами регулирования и дает несколько примеров, призванных продемонстрировать потенциал быстро развивающейся науки. Систематический обзор по этой теме невозможен с учетом быстро растущего объема соответствующей литературы и высокой скорости развития этой области (для определений -omics технологий см. гл. 1).

### *Геномика*

Под канцерогенезом понимается многоступенчатый процесс, который включает в себя генетические и негенетические изменения (см. Smith и др., 2016). Что касается связи рака легких с загрязнением воздуха, информация о генетических детерминантах риска была бы полезна для охраны общественного здоровья. Геномика может быть основана на

систематическом исследовании генетических (унаследованных) вариантов, которые приводят к или увеличивают восприимчивость к заболеванию, связанному с загрязнением воздуха, или основана на изучении соматических мутаций, вызванных загрязнением воздуха в клетках. Что касается наследственной восприимчивости, в эпоху развития генетических методов было проведено несколько исследований генетических вариантов (таких как GSTM1); в более поздние годы, варианты были идентифицированы благодаря исследованиям по изучению генома в целом (см., Например, Kachuri et al., 2016). Ассоциации генетических вариантов с раком легких в основном слабые, позволило выявить группы населения, которые потенциально более чувствительны к канцерогенам.

Потенциально плодотворным подходом к выявлению восприимчивых групп является разработка профилей восприимчивости, основанных на генетических путях. Например, Байнд и коллеги (Bind et al., 2014) исследовали генетические пути, чтобы выяснить, могут ли варианты генов, которые связаны с такими путями как окислительный стресс, эндотелиальная функция и детоксификация металлов, модифицировать токсичность РМ.

Что касается соматических (приобретенных) мутаций, то секвенирование нескольких типов раковых тканей показало, что профили мутаций могут отражать экологические мутагены (Nik-Zainal et al., 2015). Например, рак легкого имеет мутационную структуру, которая сильно напоминает индуцированную бензо [a] пиреном (B[a]P) в анализах *in vitro*, использующие иммортализованные фибробласты эмбриона мыши (Nik-Zainal et al., 2015). Результаты показали, что B[a]P индуцирует характерную мутацию: преимущественно мутации G → T для B[a]P в противоположность C → T и CC → TT для ультрафиолетового излучения и A → T для аристоклочной кислоты, канцерогенного и мутагенного вещества. Таким образом, исследование показывает, что канцерогенность, вызванная курением (и, возможно, загрязнением воздуха), может быть вызвана ПАУ в дыме (или окружающем воздухе). С точки зрения понимания механизмов, эта информация имеет большое значение.

Таким образом, геномика может оказаться полезной с нескольких точек зрения. Во-первых, можно определить генетические (унаследованные) варианты, которые способствуют модулированию риска развития рака, связанного с экспозицией загрязненным воздухом. Идентификация групп населения с большим (или меньшим) риском улучшит понимание взаимосвязи между экспозицией и развитием негативных эффектов на здоровье, а также поможет выявить наиболее восприимчивые группы населения. Во-вторых, если будет

показано, что изменения молекулярных путей в опухолевой ткани (соматические мутации) были определенно связаны с экспозицией загрязненным воздухом, величину ее влияния можно было бы более эффективно оценить количественно, а также разработать модели экспозиция-реакция для конкретных фенотипов, определяемых этиологией. Комитет отмечает, что значительные исследования указывают на различия в мутационных спектрах рака легких между курильщиками и никогда не курившими людьми, хотя маркеры, которые являются окончательными для какого-либо конкретного вида экспозиции, пока не определены. В-третьих, даже если маркеры не определены, геномика позволяет получить представление о нарушенных биологических механизмах, что возможно укажет на состав компонентах смеси.

### *Эпигеномика*

Экспозиция различными факторами внешней среды способна изменять эпигенетические профили, например, метилирование ДНК или хроматина. Метилирование ДНК и ассоциированная репрессированная или активированная транскрипция генов могут влиять на канцерогенез (Vineis et al., 2010). Изменения метилирования гена репрессора арил-углеводородного рецептора (AHR) показывают, что метилирование можно использовать в качестве маркера воздействия курения (Shenker et al., 2013) и контролировать эффект прекращения воздействия (Guida et al., 2015). Некоторые авторы использовали метилирование AHR репрессора в качестве маркера для внутриутробной экспозиции плода компонентами табачного дыма у курящих матерей (Joubert et al., 2012). Эпигенетические маркеры в пуповинной крови и плацентарной ткани могут также использоваться для выявления возможных эффектов экспозиции загрязненным воздухом на плод и могут быть полезны при рассмотрении вопроса о том, влияет ли эта экспозиция на здоровье плода в процессе развития (Novakovic et al., 2014). Кроме того, эпигенетические маркеры могут предоставить информацию об экспозиции загрязненным воздухом как смесью и даже отдельными ее компонентами.

Насколько информативна будет эпигенетика при изучении рисков заболевания или эффектов для здоровья, зависит от того, будут ли маркеры устойчивыми (следует иметь в виду, что маркеры метилирования являются тканеспецифичными), были ли они определены в критический период времени и доступна ли нужная ткань для исследований. В нескольких исследованиях изучалось влияние экспозиции загрязненным воздухом на структуры метилирования ДНК (см., Например, Vaccarelli et al., 2009), и основное внимание



уделялось метилированию элементов с длинным вкрапленным элементом-1 (LINE-1) и Alu в качестве показателей метилирование всего генома в клетках крови. Элементы LINE-1 и Alu являются ретротранспозонами, то есть повторными и подвижными последовательностями в геноме. LINE-1 составляют значительную часть генома, а метилирование LINE-1 и Alu коррелирует с общим клеточным уровнем метилирования ДНК. Было установлено, что загрязнение воздуха изменяет метилирование LINE-1 (Baccarelli et al., 2009; Demetriou et al., 2012).

Эпигенетические изменения также могут быть неотъемлемой частью канцерогенеза, возможно, в той же степени, что и генетические мутации. Фазанелли и коллеги (Fasanelli et al., 2015) показали, что те же самые гены (включая ген репрессора AHR), для которых изменения метилирования связаны с курением, связаны с риском развития рака легких. Подобные исследования для загрязнения воздуха и рака легких пока отсутствуют.

Учитывая значительный акцент в настоящее время на эпигеном и окружающую среду, комитет ожидает, что в течение следующего десятилетия эпигенетика займет надлежащее место в оценке риска. В настоящий момент проводятся исследования, охватывающие все стадии жизни, таким образом предоставляя возможность проверки маркеров в течение более длительного промежутка времени, хотя следует признать, что для этого исследования потребуются многочисленные биологические образцы из хорошо охарактеризованных крупных когорт.

### *Транскриптомика*

Транскриптомика может приводить к идентификации пертурбаций в экспрессии генов, относящихся к канцерогенезу легких в результате экспозиции загрязненным воздухом. Таким образом, ожидается, что транскриптомика будет ключевым инструментом в исследованиях, например, для определения того, какие конкретно компоненты смеси загрязненного воздуха биологически активны и могут играть существенную роль в возникновении рака легких. Транскриптомика также может помочь выявить взаимодействия компонентов смеси, показав, что общий эффект смеси на экспрессию гена больше, чем сумма эффектов отдельных компонентов смеси на экспрессию гена.

В экспериментах *in vitro* и на животных были зафиксированы изменения экспрессии генов связанные с загрязнением воздуха. В частности, экспозиция загрязненным воздухом

приводит к увеличению или уменьшению экспрессии генов, которые имеют отношение к иммунитету или противовоспалительным реакциям. Несмотря на то, что было сделано некоторое количество наблюдений на людях, Уиткоп и коллеги (Wittkopp et al., 2016) провели исследование и проверили, связь экспрессии генов с загрязнением воздуха среди лиц пожилого возраста в когортах Лос-Анджелеса, подвергавшихся экспозиции PM<sub>2,5</sub> в среднем 10-12  $\mu\text{г}/\text{м}^3$ . Авторы обнаружили положительные ассоциации для загрязнителей, связанных с транспортными потоками (включая оксиды азота и содержание ПАУ в PM<sub>0.25-2.5</sub> или PM<sub>0.25</sub>) с экспрессией нескольких генов-кандидатов, в частности Nrf2-опосредованных генов, что указывает на участие путей окислительного стресса. С помощью методов транскриптомики при изучении рака легких было установлено, что ряд генов является разрегулированным (см., например, Amelung et al., 2010).

### *Протеомика*

Как отмечалось в главе 1, протеомика занимается измерением всего объема белков в биологическом образце на базе тестовых систем с высокой пропускной способностью. Как и в случае с транскриптомикой, этот метод может быть полезен при характеристике токсичности отдельных компонентов воздушных смесей, определении взаимодействия компонентов загрязненного воздуха и определении путей, которые могут быть задействованы в реакции на загрязненный воздух. Например, Мостафави и коллеги (Mostafavi et al., 2015) исследовали длительную экспозицию загрязненным воздухом и обнаружили маркеры нарушения иммунных процессов и маркеры воспалительных процессов при высоких экспозициях. Влияние загрязнения воздуха на протеом изучено очень слабо.

### *Аддуктомика*

Аддукты ДНК и белков уже давно измерены в связи с оценкой экспозиции загрязненным воздухом (Demetriou et al., 2012; Demetriou and Vineis, 2015); также были измерены специфические аддукты, такие как аддукты ПАУ-ДНК. Аддуктомика - это новый подход к выявлению биомаркеров экспозиции с систематическим и высокоскоростным поиском всех потенциальных аддуктов, вызванных внешней или внутренней экспозицией. Как часть концепции экспозома, аддуктомика обычно включает в себя нецелевое исследование, анализирующее продукты гидролиза альбумина с помощью масс-спектрометрии. Электрофильные химические вещества или их метаболиты, которые связываются с

альбумином, также могут связываться с ДНК. Таким образом, основанная на белке аддуктомика может потенциально использоваться для идентификации генотоксичных, электрофильных компонентов в смеси. Аддуктомика также может применяться при коррекции взаимоотношений между экспозицией и реакцией, в том числе и на форму кривой зависимости ответной реакции от экспозиции при раке легких, поскольку высокая чувствительность аддуктомики существенно снижает ошибочную классификацию и погрешности. Исследования, основанные на аддуктомике (использующие аддуктомику в качестве метода), потребуют повторных выборок из проспективных когорт, и одним из столпов современной эпидемиологии является наличие крупных проспективных когорт с несколькими выборками, которые дают возможность изучать стабильность сигналов. Некоторые маркеры являются результатом интегрированной экспозиции в течение относительно длительных периодов времени и поэтому могут быть особенно полезны для ее оценки.

### *Метаболомика*

Метаболомическое исследование может быть выполнено на образцах плазмы, сыворотки или мочи несколькими способами, включая масс-спектрометрию высокого разрешения, со сверх-высоко-эффективной жидкостной хроматографией для нецелевого анализа. Метаболические пики идентифицируются с помощью многомерной статистики с коррекцией для множественных сравнений. Метаболиты, уникальные для подвергнутых экспозиции групп, затем идентифицируются в целевых исследованиях. Однако данные метаболомики подвержены высокой внутрииндивидуальной изменчивости, а многие метаболиты имеют короткий срок жизни, что может ограничить их применимость при оценке долгосрочных экспозиций. Аннотация является еще одним ограничивающим фактором; исследователи не могут характеризовать признаки, обнаруженные, например, масс-спектрометрией без дополнительных химических анализов. Однако, в будущем, при появлении соответствующих технических разработок, метаболомика, вероятно, сможет стать полезным инструментом для достижения некоторых целей, а именно: идентификации конкретных метаболитов, связанных с компонентами смеси, улучшения характеристики экспозиции путем связывания метаболитов с внешними измерениями и реконструкции молекулярных и биохимических путей, которые будут способствовать механистическому знанию и идентификации путей (см. таблицу В-3)

**ТАБЛИЦА В-3** Вопросы, относящиеся к регуляции риска возникновения рака легких и применению -omics технологий. <sup>a</sup>

Регуляторный вопрос	Ген-омика	Эпиген-омика	Транскрипт-омика	Проте-омика	Аддукт-омика	Метабол-омика
Идентификация критических источников и компонентов загрязнения воздуха						
• Характеристика токсичности и долгосрочных эффектов смесей	X	X	X	X		X
• Изучение потенциала компонентов смеси по взаимодействию			X	X		X
Характеристика отношений экспозиция-эффект						
• Улучшение характеристики экспозиции					X	X
• Идентификация механизмов					X	X
• Идентификация групп с повышенным риском	X	X	X	X	X	X
	X					

<sup>a</sup>Эта таблице описывает сегодняшние знания об использовании -omics технологий в области изучения рака легких. Таблица вероятно претерпит существенные изменения с развитием -omics технологий и наших знаний о раке легких.

### Заключительные замечания

Первые и все еще продолжающие поступать данные эпидемиологических исследований, в которых используются -омикс технологии, позволяют предположить, что загрязнители воздуха могут действовать через пути, связанные с воспалительными процессами и окислительным стрессом. Кроме того, могут существовать мутации, характерные для экспозиции загрязненным воздухом, например, курение, хотя загрязненный воздух и сигаретный дым имеют общие компоненты, такие как ПАУ. Небольшие пилотные исследования, однако, не позволяют дать количественную оценку пертурбаций при низких дозах. Несмотря на то, что данные ограничены, уже появляется некоторая согласованность между различными -omics платформами, такими как транскриптомика, эпигеномика и протеомика. Согласованность между платформами может быть исследована с использованием статистических методов, известных как кросс- omics (Vineis et al., 2013). Долгосрочная цель состоит в том, чтобы соединить подходы по изучению внешнего экспозома для уменьшения погрешности измерения на индивидуальном уровне с

различными -omics исследованиями, описывающими различные этапы, вовлеченные в канцерогенез, путем изучения, например, мутационных спектров, эпигенетических изменений и клеточной пролиферации в образцах человека. Ожидается, что это исследование приведет к более точной количественной оценке риска.

В целом, -omics технологии будут способствовать изучению всех характеристик канцерогенов и путей, ведущих к развитию болезней. Основные проблемы связаны с разнообразием измерений, обусловленных техническими причинами и индивидуальной изменчивостью, длительной латентностью рака (десятилетия между экспозицией, началом заболевания и последующими стадиями развития), а также с отсутствием доступа к предшествующим повреждениям (для изучения молекулярных изменений, происходящих в клетках-мишенях имеется доступ только к суррогату тканей, таких как кровь, например). Однако, невзирая на имеющиеся проблемы, -omics технологии предоставляют новые возможности для определения критических компонентов загрязненного воздуха и для проверки зависимости «экспозиция-реакция», как показано в таблице В-3.

### **Эффекты, возникающие в процессе развития нервной системы и загрязнение воздуха: определение наличия причинно-следственной связи**

Определение, существует ли причинно-следственная связь между дефектами развития нервной системы и РМ, потенциально имеет важное значение для общественного здравоохранения. Давно известно, что эмбрионы, младенцы и маленькие дети более чувствительны, чем взрослые к различным токсическим веществам в окружающей среде из-за уязвимости, характерной для процессов развития, роста и созревания (WHO, 1986; NRC 1993; Anderson et al., 2000; Perera et al. 2004, ; Grandjean and Landrigan 2006). Одной из проблем, вызывающих особое беспокойство, является развитие нервной системы. Большой объем исследований касался влияния загрязнения воздуха на рост плода, включая окружность головы (Vrijheid et al., 2011; Stieb et al., 2012; van den Hooven et al., 2012; Backes et al., 2013; Proietti et al. 2013; Smarr et al., 2013). В последнее время эпидемиологи стали интересоваться потенциальным воздействием загрязнителей воздуха РМ, поскольку некоторые компоненты горения РМ, такие как ПАУ и их производные, показали токсичность в отношении нервной системы в некоторых экспериментальных и небольших исследованиях патологии (Calderon-Garciduenas et al., 2002; Takeda et. 2004). В этом разделе Комитет кратко обсуждает эпидемиологические исследования, связывающие экспозицию

загрязненным воздухом с последствиями для развития нервной системы, и высказывает некоторые предложения о том, как инструменты и методы ES21 и Tox21 могут использоваться для повышения качества эпидемиологических исследований. Комитет отмечает, что эпидемиологические исследования, направленные на борьбу с нейрорепродуктивными эффектами загрязнения воздуха, были обобщены Guxens and Sunyer (2012) и Suades-González et al. (2015) и здесь не обсуждаются. Раздел заканчивается некоторыми общими соображениями, связанными с нейротоксичностью в процессе развития (developmental neurotoxicity, или DNT) и возможными подходами к ее изучению.

### **Эпидемиологические данные об ассоциациях между загрязнением воздуха и неврологическим развитием детей**

Некоторое время назад эпидемиологи начали изучать связь между различными загрязнителями воздуха и неврологическими проявлениями у детей. Характеристики и конструкции ключевых исследований приведены в таблице В-4. Несколько небольших когортных исследований в Соединенных Штатах, Польше и Китае показали неблагоприятные эффекты на развитие нервной системы у детей, подвергшихся внутриутробно экспозицией ПАУ (Perera et al., 2006; Tang et al., 2008, Edwards et al., 2010; Lovasi et al. Аль-2014). Данную экспозицию определяли посредством краткосрочных (48-часовых) измерений индивидуальной экспозиции во время беременности или в виде ПАУ - ДНК аддуктов в пуповинной крови. Было обнаружено определенное количество неблагоприятных эффектов: снижение умственных функций или IQ и моторные задержки развития в раннем детстве, но эти эффекты не наблюдались последовательно во всех возрастах, в которых дети были обследованы. Дополнительное когортное исследование в Соединенных Штатах связало неблагоприятные эффекты развития нервной системы (IQ и расстройства внимания) с увеличением продолжительности экспозиции детей черным углем, что связано с дорожным движением (Suglia et al., 2008; Chiu et al., 2013); однако, расстройство внимания наблюдались только у мальчиков, что свидетельствует о возможной уязвимости, специфичной для пола. Большое европейское исследование объединило шесть когорт (Guxens et al., 2014) и обнаружило, что лишь экспозиция диоксидом азота, а не другими загрязнителями воздуха, связана с задержкой развития психомоторного развития у детей в возрасте 4 лет и младше; при этом не было отмечено никаких ассоциаций с когнитивным или языковым развитием. Кроме того, в нескольких азиатских исследованиях и в одном исследовании, сделанном в Польше, сообщается о связях различных типов загрязнителей воздуха и периодах экспозиции с различными

результатами развития (см. Таблицу В-4 ниже). Большинство исследований были небольшими, они тестировали детей в разные возрастные периоды и для разных функций или расстройств, а также измеряли экспозицию пренатально или постнатально, уделяя особое внимание различным загрязняющим веществам и источникам. Таким образом, необходимо проведение дополнительных исследований для того, чтобы повторить или подтвердить некоторые из данных, прежде чем делать выводы об ассоциации экспозиции загрязненным воздухом с неблагоприятными результатами развития нервной системы.

Ограничения эпидемиологических исследований могут быть рассмотрены в рамках подходов ES21 и Tox21. В нижеследующих пунктах кратко изложены проблемы и возможные подходы к их решению.

- Исследования, изучающие нейropsychическую функцию детей в разном возрасте, требуют много времени и довольно дорогие с финансовой точки зрения, поэтому исследователям приходится находить компромисс в выборе различных параметров исследования, таких как объем и разнообразие функциональных оценок, размер когорты и продолжительность наблюдения. Техничко-экономическое обоснование и затраты являются серьезными проблемами. Эти проблемы проиллюстрированы в последнем обзоре эпидемиологических исследований (Suades-González et al., 2015), который все еще не выявил достаточных данных для проведения количественного мета-анализа из-за неоднородности методов, используемых для оценки экспозиций и результатов. Что касается когнитивного и психомоторного развития, Суадес-Гонсалес и коллеги (Suades-González et al., 2015) решили, что для одной только экспозиции (ПАУ) было сделано достаточно высококачественных исследований, чтобы сформулировать вывод о наличии «достаточных доказательств» ассоциации, но не причинно-следственной связи. Что касается других загрязнителей воздуха, современная оценка экспозиции и моделирование (ГИС или дисперсионное моделирование, поддерживаемые спутниковыми данными и наземными сетями мониторинга) могли бы внести свой вклад во включение сопоставимых параметров экспозиции в завершенные или текущие исследования в области нейроразвития (например, исследования с использованием нейровизуализации или обширного функционального тестирования). В конечном итоге, проведенные исследования могут обеспечить достаточный размер выборки, соответствующие градиенты экспозиции и, возможно, информацию о компонентах загрязнения, зависящих от источника или химического состава, для получения результатов, позволяющих понять количественную или причинную связь загрязнителей воздуха и неврологического развития.

- Основные ограничения во многих исследованиях нейротоксичности заключаются в том, что они не могут оценить множественную экспозицию загрязнителями воздуха (смеси) и, учитывая ограниченные знания социальных и культурных детерминант развития нервной системы и сильную ассоциацию неврологического развития с социально-экономическим статусом (СЭС), могут лишь с достаточной степенью достоверности выявлять потенциальные кофакторы. ГИС может помочь пролить свет на роль социально-экономического статуса, допустив, например, корректировку на уровне СЭС. Многоуровневое ресурсоемкое пространственное моделирование в байесовской структуре также может способствовать учету пространственно-коррелированных факторов и смеси загрязнителей (Coker et al., 2015, 2016).
- В будущих исследованиях с меньшими выборками можно было бы использовать биомаркеры или индивидуальные методы мониторинга воздуха, которые включают новые сенсорные технологии (при условии относительно низкой стоимости и, соответственно, исполнимости проектов). Новые подходы позволяют осуществлять мониторинг в течение продолжительных периодов беременности и на ранних этапах развития ребенка. За исключением аддуктов ПАУ, для токсичных компонентов РМ не существует хороших биомаркеров. Контроль только частиц не позволяет оценить токсичность их компонентов, и состав частиц, вероятно, зависит от источников, которые генерируют частицы. Однако объединение постоянного мониторинга частиц с последующим сбором соответствующих биологических образцов (таких как материнская и детская кровь, моча и плацента) также позволит использовать -omics подходы для поиска новых биомаркеров экспозиции в образцах человека и, возможно, некоторых биомаркеров, указывающих на потенциальные эффекты на здоровье (См., Например, Janssen et al., 2015; Saenen et al., 2015). Нецелевые методы тестирования могут быть также полезны для выявления новых биомаркеров.

### **Общие соображения, связанные с развитием нейротоксичности и возможных подходов к ее оценке**

Исторически сложилось так, что установление причинно-следственных связей между расстройствами нервной системы и воздействием окружающей среды, такими как экспозиция загрязненным воздухом, было трудным по целому ряду причин, включая необходимость включения больших популяций в эпидемиологические исследования, сложность сбора полного массива данных о соответствующих экспозициях до и во время беременности, длительный латентный период между экспозицией и эффектом (особенно



при нейродегенеративных расстройствах), отсутствие четко определенной патологии некоторых расстройств (таких как шизофрения или расстройство аутистического спектра) и ограничения, присущие животным моделям и тестам *in vitro*. Перспективы и стратегии для оценки нейротоксичности на ранних этапах развития более подробно были опубликованы различными заинтересованными сторонами и не будут здесь воспроизводиться (Aschner et al., 2010; Bal-Price и др., 2015; Felter et al., 2015). Данное обсуждение подчеркивает уникальные проблемы, связанные с попыткой оценить DNT и предоставляет некоторые возможные подходы к этому.

Наиболее серьезной задачей, уникальной для оценки нейропсихического развития, является динамическая сложность развивающегося мозга и фундаментальное непонимание этиологии сложных поведенческих расстройств, таких как умственная отсталость и эмоциональные расстройства. Подход к оценке риска DNT, ориентированный на болезни, является особенно сложным и малоприменимым, поскольку многие нервные расстройства, особенно нейропсихиатрические расстройства, являются синдромами со спектром характерных особенностей и отсутствием определенной невропатологии или явной этиологии. Таким образом, нецелесообразно и нерационально использовать модель, которая пытается установить четкую взаимосвязь между экспозицией, механизмами DNT и нервным заболеванием. Несколько таких моделей были предложены, но они являются слишком общими (например, оксидативный стресс) и не объясняют внятно возникшую патологию. Более того, данные не вызывают большого доверия, особенно в среде неврологов. Таким образом, на сегодняшний день задача состоит в том, чтобы провести оценку риска и скрининг химических веществ так, что их потенциальная связь с клинически диагностированным заболеванием нервной системы будет доказана.

Хотя перспективы совершенствования оценки риска нейротоксичности на ранних этапах развития в нормативном контексте различаются, существует общее мнение, что тестирование для DNT должно быть сосредоточено на эволюционно консервативных фундаментальных моментах в нейроразвитии. Эти моменты включают нейронную индукцию, миграцию клеток, аксональное наведение, образование синапсов и обрезку, а также апоптоз. Пертурбации в эти критические моменты развития лежат в основе нервных расстройств. Учитывая эту перспективу, нейротоксиканты развития должны определяться по их способности изменять фундаментальные события, независимо от их специфических клеточных или молекулярных механизмов.

Примеры, в которых такая перспектива дает критическое понимание в связи с загрязнением воздуха, включают в себя доказательство того, что PM<sub>2,5</sub> вызывает окислительный стресс в гомогенатах областей головного мозга крыс и нарушает целостность гематоэнцефалического барьера, тем самым усиливая нейротоксичность активированных макрофагов и микроглии (Fagundes et al. 2015; Liu et al 2015). У мышей экспозиция микрочастицами индуцировала секс-специфичную нейротоксичность (включая экситотоксичность и глиальную активацию), а также изменения в поведении, свидетельствующие об усилении импульсивности и гиперактивности - поведенческие изменения, также связанные с экспозицией детей загрязненным воздухом (Allen et al., 2014). Кроме того, было отмечено, что при внутриутробной экспозиции B[a]P во время пиковых периодов нейрогенеза у мышей наблюдается дефицит обучения (Mc-Callister et al., 2016).

Быстрое развитие экспериментальных, эпидемиологических, вычислительных и токсикологических инструментов позволяет лучше оценивать нейротоксичность и нейроэндокринные нарушения, а также устранять критические пробелы в тестировании. Таким образом, развитие нейротоксичности на ранних этапах - это тема, в которой применение подходов Tox21 было бы особенно своевременным и выгодным. Например, нейровоспалительные реакции на загрязнение воздуха теперь наблюдаются в исследованиях человека, животных и *in vitro* (Costa et al., 2014).

Подходы Tox21, включая эксперименты по нейротоксичности на ранних этапах развития, также могут быть использованы для решения проблем идентификации компонентов загрязненного воздуха, вносящих вклад в развитие нервных болезней. Они могут позволить осуществлять быстрое тестирование специфической нейротоксичности частиц и помочь идентифицировать маркеры источников частиц, ответственных за наибольшую токсичность. Например, до сих пор плохо известно, какие ПАУ присутствуют в смесях; экологические образцы могут содержать сотни отдельных ПАУ, а биологическая активность и токсичность ПАУ в значительной степени зависят от их химической структуры (Wang et al., 2011). Новые методы могли бы помочь нам лучше понять структуру и токсические связи нейроповеденческих нарушений, если бы можно было идентифицировать полный набор химических веществ, присутствующих в образцах, и понять их индивидуальную активность или активность в смеси. В частности, для классификации ПАУ можно использовать набор *in vitro* и высокопроизводительных интегрированных систем, определяя их биологические цели или пути. Эти системы могут

первоначально использовать нецелевые глобальные оценки, такие как протеомика, метаболомика, транскриптомика и эпигеномика, для идентификации механизмов действия и последующей химической классификации и моделирования. Недавние исследования на данио рерио, например, позволили оценить и сравнить токсичность 38 окси-ПАУ и выявить модели ответов, связанных с структурными особенностями ПАУ (Knecht et al., 2013). Кроме того, исследования полногеномных РНК-последовательностей у данио рерио показали, что даже для ПАУ, вызывающих токсичность посредством связывания и активации АНР, тонкие различия в структуре ПАУ вызывают различные общие изменения экспрессии генов в развитии и указывают, что индукции P450 как мера активации АНР может быть проблематичной (Goodale et al., 2015). После определения показателей отдельных ПАУ подходы, Tox21 могут быть использованы дополнительно для прогнозирования механизмов токсичности, вызванной взаимодействием компонентов ПАУ. Для определения химических веществ и смесей, которые вызывают нежелательные эффекты, относящиеся к нервной системе, могут быть проведены соответствующие функциональные тесты *in vitro*. Высокопроизводительные интегрированные системы, такие как данио рерио, могут играть ключевую роль в интеграции идентифицированных данных молекулярных механизмов с нейроповеденческими показателями (Truong et al., 2014, Reif и др., 2016). Оптимизация и масштабирование тестов, исследующих более сложное поведения у взрослых данио рерио (см. Главу 3), должны обеспечить новые возможности для связывания химической экспозиции с функционально релевантными нейроповеденческими отклонениями.

Несмотря на энтузиазм в отношении совершенствования подходов к тестированию и появление новых тестов для исследования нейротоксичности, применение новых инструментов было довольно медленным. Например, отсутствие покрытия программой ToxCast нейротоксических эффектов или нейронных мишеней является общепризнанным ограничением. Первоначальная попытка использовать данные ToxCast для ранжирования испытуемых химикатов с точки зрения нейротоксичности не удалась из-за плохого охвата тестовыми системами подходящих конечных точек и низкой надежности существующих тестов (Filer et al., 2014). Встречи с заинтересованными сторонами и семинары помогли определить лучшие способы интеграции новых инструментов и подходов для изучения нейротоксичности, но требуют включения большего количества нейробиологов и эндокринологов развития, чтобы гарантировать, что фундаментальные пути в нейрофизиологии оценены верно и что половой диморфизм, региональная специфика и критические окна экспозиции учтены в процессе разработки тестов (Crofton et al., 2014,

McPartland et al., 2015). Необходимо разработать тестовую батарею, включающую в себя самые современные инструменты и принципы нейро-науки и предоставляющую данные, необходимые для исследований в области регулирования и оценки риска. Выявление и использование наиболее перспективных подходов и технологий потребует активного привлечения экспертов в области дисциплин вне традиционной токсикологии, особенно нейро-науки. Реализация междисциплинарного подхода и поощрение междисциплинарной исследовательской программы для разработки и оценки анализа могут быть достигнуты путем координации с соответствующими научными обществами и группами, имеющими необходимый опыт и с соответствующими финансирующими учреждениями, такими как Национальный институт здоровья окружающей среды.

Каким образом мозг взрослого человека выполняет сложную когнитивную и социальную обработку, до сих пор остается загадкой и является предметом интенсивных исследований, которые используют широкий спектр инструментов. Еще меньше известно о том, в какой момент происходит организация ключевых аспектов сложной системы в процессе развития или о том, как возникают половые диморфизмы (Reinius and Jazin 2009; Yang and Shah 2014; Nawrylycz et al., 2015; Loke et al., 2015). В последние годы ученые проявляют особый интерес к роли глии, потому что, как выясняется, эти клетки, особенно астроциты и микроглия, играют более фундаментальную роль в развитии нервной системы, чем считалось ранее (Schwarz and Bilbo 2012; Schitine et al., 2015). Таким образом, оценки неврологических последствий химической экспозиции должны проводиться с признанием того факта, что фундаментальное понимание того, как развивается мозг, еще не достигнуто, не говоря уже о том, что нам мало известно о том, как мозг формирует уникальное человеческое поведение и способствует развитию когнитивных возможностей, определяющих наш вид. В будущем необходимо продолжать проводить исследования в отношении нейротоксичности на ранних этапах развития, особенно с учетом ее критических последствий для нервного развития и высокой степени обеспокоенности общества ее неблагоприятными последствиями. Для решения проблем, связанных с нейротоксичностью на ранних этапах, потребуются совместное участие всего научного сообщества, от нейрофизиологов, которые могут решать фундаментальные вопросы об уязвимости мозга в результате экспозиции химическими веществами до ученых, занимающихся оценкой химической экспозиции на человеческие популяции.

**ТАБЛИЦА В-4** Дизайн эпидемиологических исследований, направленных на изучение влияния загрязнения воздуха на развитие нервной системы

Характеристика исследования	Детали экспозиции	Основные изучаемые эффекты на здоровье	Полученные сведения (выборочно)	Ссылки
N = 46 039 детей (одиночных), рожденных в Японии в января и июле в период с 2010-2017	Оценка экспозиции загрязненным воздухом, связанным с дорожным движением, включая PM, NO <sub>2</sub> , CO и SO <sub>2</sub> за 9 месяцев до рождения. Измерения загрязнения воздуха производились на общих и придорожных станциях на национальном уровне.	Задержки развития между этапами измерялись с помощью серии вопросов, которые проводились в возрасте 2,5 и 5,5 лет. Вопросы не были утверждены или выбраны из установленной шкалы, но были использованы в предыдущих исследованиях.	Экспозиция загрязненным воздухом во время беременности положительно ассоциировалась с определенным риском, связанным с задержками развития у обоих возрастов: вербальные нарушения и нарушения тонкой моторики в возрасте 2,5 лет; поведением, связанным с торможением и импульсивностью в возрасте 5,5 лет.	Yorifuji et al. 2016
N = 183 детей, 3-х лет, родившихся у пар, проживающих в Нью-Йорке, где отец – черный, мать- из Доминиканской республики, пары мать-ребенок, рекрутированные в 1998-2003 годах.	Оценка дородового воздействия ПАУ в воздухе, пассивного табачного дыма и пестицидов; Мониторинг ПАУ проводился во время беременности с индивидуальным отбором проб воздуха.  Пуповинная кровь была взята при родах, а материнская через 2 дня после родов; анализировали котинин, тяжелые металлы и пестициды.	Для оценки когнитивного и психомоторного развития были использованы шкалы Bayley Infant Development - Revised в возрасте 12, 24 и 36 месяцев для создания MDI и соответствующего PDI. Поведенческие проблемы были оценены согласно контрольному списку Child Behavior Checklist.	Пренатальные экспозиции ПАУ матери не были связаны с PDI или поведенческими проблемами. Однако высокий уровень предродовой экспозиции ПАУ (верхний квартиль распределения) был связан с более низким MDI в возрасте 3 лет, но не в возрасте 1 года или 2 лет.	Perera et al. 2006
N = 249 детей, 5-ти лет, родившихся у пар, проживающих в Нью-Йорке, где отец – черный, мать-	ПАУ измерялись у женщин в третьем триместре с помощью персонального	Для определения словесного, исполнительского и общего IQ использовался	Женщины, с повышенной экспозицией ПАУ во время беременности, значительно чаще имели	Perera et al. 2009

<p>из Доминиканской республики, пары мать-ребенок, рекрутированные в 1998-2003 годах. Примечание: Эта та же когорта, что и Perera et al. 2006.</p>	<p>устройства контроля в дневные часы в течение двух последовательных дней; ночью монитор был установлен возле кровати. Насосы работали непрерывно в течение этого периода, собирая пары и частицы диаметром <math>\leq 2,5 \mu\text{m}</math>.</p>	<p>WPPSI-R.</p>	<p>младенцев с более низкими общими и вербальными оценками IQ в возрасте 5 лет. После корректировки на материнский интеллект, качество домашнего ухода, экспозицию табачным дымом и другие потенциально ко-факторы, высокие уровни ПАУ (выше медианы 2,26 нг / м<sup>3</sup>) были значительно и обратно пропорционально связаны с общим и вербальным IQ, но не с показателями IQ.</p>	
<p>N = 326 детей, родившихся у пар, проживающих в Нью-Йорке, где отец – черный, мать- из Доминиканской республики, пары мать-ребенок, рекрутированные в 1998-2006 годах. Примечание: Эта та же когорта, что и Perera et al. 2006.</p>	<p>Экспозиция ПАУ измерялось с помощью персональных мониторов окружающего воздуха, прикрепленных к матери в течение двух последовательных дней и помещались у постели ночью в течение третьего триместра беременности. Оценивалось качество жилья и характеристики района в пределах 1 км от дорожного адреса, наложенного на данные переписи населения США 2000 года. Измеренные показатели включали в себя число жителей ниже федеральной черты бедности, аттестат об окончании средней школы или</p>	<p>WPPSI-R использовался для оценки интеллекта и развития нервной системы в возрасте 5 лет.</p>	<p>Пренатальная экспозиция ПАУ выше медианы значимо ассоциировалась с более низким общим WPPSI-R и вербальными оценками. Средние различия составили 3,5 общего количества баллов и 3,9 словесных баллов между группами высокой и низкой экспозиции ПАУ соответственно</p>	<p>Lovasi et al. 2014</p>

	эквивалентный документ, а также низкий уровень владения английским языком.			
N = 214 детей, родившихся у женщин в Кракове, Польша	Экспозиция восьмью ПАУ измерялась на персональных мониторах, закрепленных в течение 48 часов во время второго или третьего триместра беременности; ночью они прикреплялись к кровати.	В возрасте 5 лет RCPM использовались для оценки способности невербального мышления у ребенка.	Более высокая пренатальная экспозиция (выше медианы 17,96 нг/м3) к переносимым ПАУ (диапазон 1,8-272,2 нг/м3) значимо ассоциировался со снижением показателей RCPM в возрасте 5 лет (после корректировки для потенциальных ко-факторов это соответствует расчетному среднему уменьшению на 3,8 пунктов IQ.	Edwards et al. 2010
N = 1,257 американских детей, 6-15 лет; данные, собранные за 2001-2004 годы в циклах NHANES.	Оценка экспозиции ПАУ основывалась на концентрациях метаболита в моче, измеренных в циклах 2001-2002 и 2003-2004 гг.	Результаты были зафиксированы со слов родителей (1) когда-либо диагностированного ADHD (2) когда-либо выявленного врачом или школой LD и (3) получение SE или дополнительных вспомогательных услуг в раннем периоде развития.	Более высокие концентрации метаболитов фторированных ПАУ у детей были связаны с двукратным увеличением шансов SE	Abid et al. 2014
N = 202 детей в Бостоне, штат Массачусетс, участвующих в Проспективном когортном исследовании 1986-2001 гг.	Экспозиция ВС оценивалась с помощью модели на основе места проживания ребенка во время проведения исследования. Данные, собранные	Когнитивные тесты проводились в возрасте 8-11 лет и включали К-ВТ (оценивает вербальный и невербальный интеллект) и WRAML (оценивает	С учетом изменения социально-демографических факторов, массы тела при рождении, концентрации свинца в крови и табачного дыма экспозиция ВС ассоциировалась со	Suglia et al. 200

	из более чем 80 мест Бостона и пригородов, были использованы для завершения пространственно-временной LUR-модели для прогнозирования 24-часового измерения воздействия трафика.	способность ребенка активно изучать и запоминать разнообразную информацию).	снижением лексического запаса (-2.2), матриц (-4.0) и коэффициентов составного интеллекта (-3.4) ВIT и визуальной подшкалы (-5.4) и общего индекса (-3.9) WRAML.	
N = 174 детей, 7-14 лет в Бостоне, Массачусетс. Примечание: эта когорта та же когорта, что и Suglia et al. 2008	Концентрации черного углерода (BC), связанные с трафиком, оценивались по продолжительности жизни ребенка с использованием пространственно-временной модели для 24-часовых мер BC, основанной на 6021 наблюдений более чем 2079 дней экспозиции в 82 точках Бостона и его пригородах. Модели учитывали теплый (май-октябрь) и холодный (ноябрь-апрель) сезоны.	CPT Conners использовался для оценки расстройств внимания и неврологического функционирования в возрасте 7-14 лет.	В этой популяции городских детей школьного возраста наблюдалась положительная связь между более высокой дозой и повышенными ошибками и более низкой HRT даже после корректировки на детский IQ, возраст, пол и другие переменные. Анализ по признаку пола показал статистически значимые ассоциации между BC и двумя ошибками HRT у мальчиков, но не у девочек.	Chiu et al. 2013
N = 9 482 детей в шести европейских когортах: Нидерландов, Германии, Франции, Италии, Греции и Испании; пары мать-младенец, набранные в 1997-2008 годах.	Модели LUR использовались для оценки NOx во всех исследуемых регионах и PM с диаметром <2,5, <10 и 2,5-10 мкм и поглощением PM2,5 в субрегионах. Кампании по мониторингу проводились в основном с октября 2008 года по январь 2011 года. NOx измеряли по меньшей мере три раза в неделю в	Когнитивное и психомоторное развитие оценивалось в возрасте 1-6 лет. Были проведены различные нейропсихологические тесты для когнитивного и психомоторного развития, в том числе инвентаризация коммуникативного развития McArthur, шкалы Bayley для младенческого	Экспозиция загрязненным воздухом во время беременности, особенно NO2 (для которого дорожное движение является основным источником) и PM2.5, было связано с задержкой психомоторного развития у детей (-0,68 балла по шкале глобального развития) для каждого 10 мкг / м3 увеличения NO2). Когнитивное развитие, измеренное в аналогичном возрасте,	Guxens et al. 2014



	<p>течение 2 недель в течение 1 года. Поглощение PM<sub>2,5</sub> измеряли в подгруппе регионов по коэффициенту коррекции PM<sub>2,5</sub>. Для получения окончательных анализов использовалась процедура обратной экстракции для оценки концентраций во время беременности .</p>	<p>развития I-III издания, тест на выявление развития в Денвере II, шкалы Маккарти по общему познанию и анкета для возрастов и стадий.</p>	<p>не было связано с экспозицией во время беременности.</p>	
<p>N = 520 пар мать-ребенок в трех региональных центрах в Южной Корее, изученных в период с 1 января 2006 г. по 31 дек. 2008 г.</p>	<p>Экспозиция PM<sub>10</sub> и NO<sub>2</sub> во время беременности оценивали методом обратного взвешивания по расстоянию. Воздушный пробозаборник мини-объема использовался для измерения внешнего PM<sub>10</sub>; пассивный пробозаборник был использован для измерения внешнего NO<sub>2</sub>; забор проб осуществлялся в течение 24 часов.</p>	<p>Корейская шкала Bayley Infant Development II использовалась для измерения прогресса в развитии нейронов. Результаты были выражены как MDI и PDI в возрасте 6, 12 и 24 месяца.</p>	<p>Наблюдается отрицательная связь между экспозиции матери на PM<sub>10</sub> и MDI и PDI в течение первых 24 месяцев жизни. Материнская экспозиция NO<sub>2</sub> была связана с нарушением PDI, но не с когнитивной функцией. Модель множественной линейной регрессии показала значительное влияние пренатального воздействия загрязнения воздуха (PM<sub>10</sub> и NO<sub>2</sub>) на MDI и PDI через 6 месяцев, но значимых ассоциаций не было обнаружено через 12 и 24 месяца.</p>	<p>Kim et al. 2014</p>
<p>N = 533 пары матерей-младенцев в 29 деревнях или городах Тайваня, отобранных в октябре 2003 года - январе 2004 года; наблюдались через 6 и 18 месяцев.</p>	<p>Ежечасные концентрации в окружающей среде CO, O<sub>3</sub>, PM<sub>10</sub>, SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, TNC и NMHC были измерены в Тайваньской сети мониторинга качества воздуха. Экспозиция участника считалась средней величиной,</p>	<p>Показатели неврологического развития измерялись с помощью родительских ответов на скрининговый инструмент TBCS. Шкала состоит из четырех делений развития: общая моторика, тонкая</p>	<p>Различные показатели загрязнения атмосферного воздуха, даже низкого воздействия SO<sub>2</sub> во время беременности и до 12-месячного возраста ассоциировались плохим субклиническим неврологическим развитием (нейроповеденческие</p>	<p>Lin et al. 2014</p>

	<p>полученной в период с 7.00 до 19.00. Воздействие загрязненного воздуха на каждого ребенка измерялось путем связывания данных из станций мониторинга качества воздуха в городе с периодом воздействия от начала беременности до 18 месяцев после рождения. Период беременности был разделен на три триместра, а послеродовые интервалы были 0 - 6 месяцев, 7-12 месяцев и 13-18 месяцев.</p>	<p>моторика, язык / общение и социальные навыки / самообслуживание. Родители заполнили две шкалы нейроповеденческого о развития развития на каждом собеседовании; ответы состояли из никогда, иногда, и все время. Шкалы имеют хорошую прогностическую достоверность, и коррелируют со шкалам Бейли развития младенцев.</p>	<p>эффекты и плохое двигательное развитие) в раннем детстве.</p>	
<p>N = 133 детей, родившихся 4 марта 2002 года - 19 июня 2002 года, в трех больницах округа Тунлян, Китай; В течение 2 лет</p>	<p>Исследование, проведенное в Китае с сезонно эксплуатируемой угольной электростанцией. Аддукты ПАУ-ДНК, Pb и Hg были измерены в пробах крови пуповинной крови, собранных при родах. ВЭЖХ использовали для анализа аддуктов В[а]Р-ДНК в экстрагированной ДНК белых кровяных телец. Для измерения Pb в образцах использовался атомный абсорбционный спектрометр Ze-800 с системой коррекции фона.</p>	<p>Физическое, эмоциональное и поведенческое развитие 2-летних детей измерялось с помощью GDS. Дети получали DQ для каждого типа моторного, языкового, индивидуального и социального поведения</p>	<p>Увеличение концентрации аддукта было обратно пропорционально уменьшено в двигательной DQ, языковой DQ и в среднем DQ после корректировки концентрации свинца, табачного дыма, пола, гестационного возраста и уровня образования матери. Высокий уровень свинца в пуповинной крови также значительно ассоциировался с уменьшением социальной DQ и средней DQ. Частота задержки развития колебалась от 9,1% (социальная) до 13,6% (моторная), со средним баллом 6,4%.</p>	<p>Tang et al. 2008</p>
<p>N = 150 детей, родившихся с 4 марта 2002 года по 19 июня 2002 года,</p>	<p>Два малобагабаритных пробозаборника были использованы</p>	<p>Вес при рождении, длина и окружность головы измерялись при рождении или</p>	<p>Электростанция была закрыта в период между набором двух когорт. Структуры задержки</p>	<p>Tang et al. 2014</p>

<p>по сравнению с 158 детьми, родившимися с 2 марта 2005 года по 23 мая 2005 года; Обе когорты состояли из детей, родившихся в Тунлянь, Китай. Примечание: Эта когорта такая же, как и Tang et al. 2008</p>	<p>на трех участках в Тонглянь в марте 2002 года - феврале 2003 года и в марте 2005 года - феврале 2006 года для сбора 72-часовых проб ПАУ. Общие концентрации ПАУ измерялись путем анализа аддуктов В[а]Р- ДНК в экстрагированных белых кровяных клетках, собранных из пуповины при родах и у матери в течение 1 дня после родов.</p>	<p>более одного раза после рождения, если ребенок был рожден с помощью кесарева сечения . Развитие измеряли с помощью GDS в возрасте 2 лет. Как и выше, DQ были разработаны для моторного, адаптивного, языкового и социального поведения.</p>	<p>развития во всех областях DQ, за исключением языка, были улучшены в когорте 2005 после остановки по сравнению с группой 2002 года.</p>	
---	--	--	---	--

Сокращения: ADHD - гиперактивность и дефицит внимания; BC - черный углерод; CPT - Continuous Performance Test; DQ - developmental quotient; GDS - Gesell Developmental Schedules; HPLC - высокопроизводительная жидкостная хроматография; HRT - hit reaction time; K-BIT - Kaufman Brief Intelligence Test; LD - нарушение способности к обучению; LUR, land-use regression; MDI - индекс ментального развития; NHANES, National Health and Nutrition Examination Survey; NMHC - не-метан углеводороды; ПАУ - полициклические ароматические углеводороды; PDI - индекс психомоторного развития; PM - микрочастицы; RCPM, Raven Coloured Progressive Matrices; SE - спец-обучение; TBCS - Birth Cohort Study Scale; THC - ошие углеводороды ; WPPSI-R - Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence-Revised; WRAML - Wide Range Assessment of Memory and Learning.

## REFERENCES

- Abid, Z., A. Roy, J.B. Herbstman, and A.S. Ettinger. 2014. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites and attention/deficit hyperactivity disorder, learning disability, and special education in US children aged 6 to 15. *J. Environ. Public Health* 2014:628508.
- Allen, J.L., X. Liu, D. Weston, L. Prince, G. Oberdörster, N.J. Finkelstein, C.J. Johnston, and A. Cory-Slechta. 2014. Developmental exposure to concentrated ambient ultra ne particulate matter air pollution in mice results in persistent and sex-dependent behavioral neurotoxicity and glial activation. *Toxicol. Sci.* 140(1): 160-178.
- Amelung, J.T., R. Böhrens, M. Beshay, and M.A. Reymond. 2010. Key genes in lung cancer translational research: A meta-analysis. *Pathobiology* 77(2): 53-63.
- Anderson, L.M., B.A. Diwan, N.T. Fear, and E. Roman. 2000. Critical windows of exposure for children’s health: Cancer in human epidemiological studies and neoplasms in experimental animal models. *Environ. Health Perspect.* 108(Suppl. 3): 573-594.

- Aschner, M., K.M. Crofton, and E.D. Levin. 2010. Emerging high throughput and complementary model screens for neurotoxicology. *Neurotoxicol. Teratol.* 32(1): 1-3.
- Baccarelli, A., R.O. Wright, V. Bollati, L. Tarantini, A.A. Litonjua, H.H. Suh, A. Zanobetti, D. Sparrow, P.S. Vokonas, and J. Schwartz. 2009. Rapid DNA methylation changes after exposure to traffic particles. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 179(7): 572-578.
- Backes, C.H., T. Nelin, M.W. Gorr, and L.E. Wold. 2013. Early life exposure to air pollution: How bad is it? *Toxicol. Lett.* 216(1): 47-53.
- Bal-Price, A., K.M. Crofton, M. Sachana, T.J. Shafer, M. Behl, A. Forsby, A. Hargreaves, B. Landesmann, P.J. Lein, J. Louise, F. Monnet-Tschudi, A. Paini, A. Rolaki, A. Schratzenholz, C. Suñol, C. van Thriel, M. Whelan, and E. Fritsche. 2015. Putative adverse outcome pathways relevant to neurotoxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 45(1): 83-91.
- Beelen, R., O. Raaschou-Nielsen, M. Stafoggia, Z.J. Andersen, G. Weinmayr, B. Hoffmann, K. Wolf, E. Samoli, P. Fischer, M. Nieuwenhuijsen, P. Vineis, W. Xun, K. Katsouyanni, K. Dimakopoulou, A. Oudin, B. Forsberg, L. Modig, A.S. Havulinna, T. Lanki, A. Turunen, B. Oftedal, W. Nystad, P. Nafstad, U De Faire, N. Pedersen, C.G. Östenson, L. Fratiglioni, J. Pennell, M. Korek, G. Pershagen, K.T. Eriksen, K. Overvad, T. Ellermann, M. Eeftens, P. H. Peeters, L. Meliefste, M. Wang, B. Bueno-de-Mesquita, D. Sugiri, U. Krämer, J. Heinrich, L. de Hoogh, T. Key, A. Peters, R. Hampel, H. Concin, G. Nagel, A. Ineichen, E. Schaffner, N. Probst-Hensch, N. Künzli, C. Schindler, T. Schikowski, M. Adam, H. Phuleria, A. Vilier, F. Clavel-Chapelon, C. Declercq, S. Gironi, V. Krogh, M.
- Tsai, F. Ricceri, C. Sacerdote, C. Galassi, E. Migliore, A. Ranzi, G. Cesaroni, C. Badaloni, F. Forastiere, I. Tamayo, P. Amiano, M. Dorronsoro, M. Katsoulis, A. Trichopoulou, B. Brunekreef, and G. Hoek. 2014. Effects of long-term exposure to air pollution on natural-cause mortality: An analysis of 22 European cohorts within the multicentre ESCAPE project. *Lancet* 383(9919): 785-795.
- Bind, M.A., B. Coull, H. Suh, R. Wright, A. Baccarelli, P. Vokonas, and J. Schwartz. 2014. A novel genetic score approach using instruments to investigate interactions between pathways and environment: Application to air pollution. *PLoS One* 9(4): e96000.
- Blackburn, K., and S.B. Stuard. 2014. A framework to facilitate consistent characterization of read across uncertainty. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 68(3): 353-362.
- Calderón-Garcidueñas, L., B. Azzarelli, H. Acuna, R. Garcia, T.M. Gambling, N. Osnaya, S. Monroy, M. del Rosario Tizapantzi, J.L. Carson, A. Villarreal-Calderon, and B. Rewcastle. 2002. Air pollution and brain damage. *Toxicol. Pathol.* 30(3): 373-389.
- Calderón-Garciduenas, L., R. Torres-Jardón, R.J. Kulesza, S. Park, and A. D'Angiulli. 2014. Air pollution and detrimental effects on children's brain. The need for a multidisciplinary approach to

the issue complexity and challenges. *Front Hum. Neurosci.* 8:613.

Chang, S.Y., W. Vizuete, A. Valencia, B. Naess, V. Isakov, T. Palma, M. Breen, and S. Arunachalam. 2015. A modeling framework for characterizing near-road air pollutant concentration at community scales. *Sci. Total Environ.* 538:905-921.

Chapin, R.E., J. Delaney, Y. Wang, L. Lanning, B. Davis, B. Collins, N. Mintz, and G. Wolfe. 1999. The effects of 4-nonylphenol in rats: A multigeneration reproduction study. *Toxicol. Sci.* 52(1): 80-91.

Chen, J.C., X. Wang, G.A. Wellenius, M.L. Serre, I. Driscoll, R. Casanova, J.J. McArdle, J.E. Manson, H.C. Chui, and M.A. Espeland. 2015. Ambient air pollution and neurotoxicity on brain structure: Evidence from Women's Health Initiative Memory Study. *Ann. Neurol.* 78(3): 466-476.

Chiu, Y.H., D.C. Bellinger, B.A. Coull, S. Anderson, R. Barber, R.O. Wright, and R.J. Wright. 2013. Associations between traffic-related black carbon exposure and attention in a prospective birth cohort of urban children. *Environ Health Perspect.* 121(7): 859-864.

Coker, E., J. Ghosh, M. Jerrett, V. Gomez-Rubio, B. Becker-man, M. Cockburn, S. Liverani, J. Su, A. Li, M.L. Kile, B. Ritz, and J. Molitor. 2015. Modeling spatial effects of PM(2.5) on term low birth weight in Los Angeles County. *Environ Res.* 142:354-364.

Coker, E., S. Liverani, J.K. Ghosh, M. Jerrett, B. Becker-man, A. Li, B. Ritz, and J. Molitor. 2016. Multi-pollutant exposure pro les associated with term low birth weight in Los Angeles County. *Environ. Int.* 91: 1-13.

Costa, L.G., T.B. Cole, J. Coburn, Y.C. Chang, K. Dao, and P. Roque. 2014. Neurotoxicants are in the air: Convergence of human, animal, and in vitro studies on the effects of air pollution on the brain. *Biomed. Res. Int.* 2014:736385.

Crofton, K., E. Fritsche, T. Ylikomi, and A. Bal-Price. 2014. International Stakeholder NETwork (ISTNET) for creating a developmental neurotoxicity testing (DNT) roadmap for regulatory process. *ALTEX* 31(2): 223-224.

Demetriou, C.A., and P. Vineis. 2015. Carcinogenicity of ambient air pollution: Use of biomarkers, lessons learnt and future directions. *J. Thorac. Dis.* 7(1): 67-95.

Demetriou, C.A., O. Raaschou-Nielsen, S. Loft, P. Møller, R. Vermeulen, D. Palli, M. Chadeau-Hyam, W.W. Xun, and P. Vineis. 2012. Biomarkers of ambient air pollution and lung cancer: A systematic review. *Occup. Environ. Med.* 69(9): 619-627.

Dockery, D.W., C.A. Pope, III, X. Xu, J.D. Spengler, J.H. Ware, M.E. Fay, B.G. Ferris, Jr., and F.E. Speizer. 1993. An association between air pollution and mortality in six US cities. *N. Engl. J. Med.* 329(24):

1753-1759.

Edwards, S.C., W. Jedrychowski, M. Butscher, D. Camann, A. Kieltyka, E. Mroz, E. Flak, Z. Li, S. Wang, V. Rauh, and F. Perera. 2010. Prenatal exposure to airborne poly- cyclic aromatic hydrocarbons and children's intelligence at 5 years of age in a prospective cohort study in Poland. *Environ. Health Perspect.* 118(9): 1326-1331.

EPA (US Environmental Protection Agency). 2009. Integrated Science Assessment for Particulate Matter (Final Report). EPA/600/R-08/139F. US Environmental Protection Agency, Washington, DC [online]. Available: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=216546> [accessed July 25, 2016].

EPA (US Environmental Protection Agency). 2011. Estimation Programs Interface (EPI) Suite for Microsoft® Windows, Version 4.1. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

Fagundes, L.S., A.daS. Fleck, A.C. Zanchi, P.H. Saldiva, and C.R. Rhoden. 2015. Direct contact with particulate matter increases oxidative stress in different brain structures. *Inhal. Toxicol.* 27(10): 462-467.

Fasanelli, F., L. Baglietto, E. Ponzi, F. Guida, G. Campanella, M. Johansson, K. Grankvist, M. Johansson, M.B. Assumma, A. Naccarati, M. Chadeau-Hyam, U. Ala, C. Faltus, R. Kaaks, A. Risch, B. De Stavola, A. Hodge, G.G. Giles, M.C. Southey, C.L. Relton, P.C. Haycock, E. Lund, S. Polidoro, T.M. Sandanger, G. Severi, and P. Vineis. 2015. Hypomethylation of smoking-related genes is associated with future lung cancer in four prospective cohorts. *Nat. Commun.* 6:10192.

Felter, S.P., G.P. Daston, S.Y. Euling, A.H. Piersma, and M.S. Tassinari. 2015. Assessment of health risks resulting from early-life exposures: Are current chemical toxicity testing protocols and risk assessment methods adequate? *Crit. Rev. Toxicol.* 45(3): 219-244.

Filer, D., H.B. Patisaul, T. Schug, D. Reif, and K. Thayer. 2014. Test driving ToxCast: Endocrine pro ling for 1858 chemicals included in phase II. *Curr. Opin. Pharmacol.* 19:145-152.

Goodale, B.C., J. La Du, S.C. Tilton, C.M. Sullivan, W.H. Bisson, K.M. Waters, and R.L. Tanguay. 2015. Ligand- specific transcriptional mechanisms underlie aryl hydrocarbon receptor-mediated developmental toxicity of oxygenated PAHs. *Toxicol. Sci.* 147(2): 397-411

Grandjean, P. and P.J. Landrigan. 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 368(9553): 2167- 2178.

Guida, F., T.M. Sandanger, R. Castagné, G. Campanella, S. Polidoro, D. Palli, V. Krogh, R. Tumino, C. Sacerdote, S. Panico, G. Severi, S.A. Kyrtopoulos, P. Georgiadis, R.C. Vermeulen, E. Lund, P. Vineis, and M. Chadeau-Hyam. 2015. Dynamics of smoking-induced genome-wide methylation changes

with time since smoking. *Hum. Mol. Genet.* 24(8): 2349-2359.

Guxens, M., and J. Sunyer. 2012. A review of epidemiological studies on neuropsychological effects of air pollution. *Swiss Med. Wkly.* 141:w13322.

Guxens, M., R. Garcia-Esteban, L. Giorgis-Allemand, J. Fornes, C. Badaloni, F. Ballester, R. Beelen, G. Cesaroni, L. Chatzi, M. de Agostini, A. de Nazelle, M. Eeftens, M.F. Fernandez, A. Fernández-Somoano, F. Forastiere, U. Gehring, A. Ghassabian, B. Heude, V.W. Jaddoe, C. Klümper, M. Kogevinas, U. Krämer, B. Larroque, A. Lertxundi, N. Lertxuni, M. Murcia, V. Navel, M. Nieuwenhuijsen, D. Porta, R. Ramos, T. Roumeliotaki, R. Slama, M. Sørensen, E.G. Stephanou, D. Sugiri, A. Tardón, H. Tiemeier, C.M. Tiesler, F.C. Verhulst, T. Vrijkotte, M. Wilhelm, B. Brunekreef, G. Pershagen, and J. Sunyer. 2014. Air pollution during pregnancy and childhood cognitive and psychomotor development: Six European birth cohorts. *Epidemiology* 25(5): 636-647.

Hamra, G.B., N. Guha, A. Cohen, F. Laden, O. Raaschou-Nielsen, J. Samet, P. Vineis, F. Forastiere, P. Saldiva, T. Yorifuki, and D. Loomis. 2014. Outdoor particulate matter exposure and lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Environ. Health Perspect.* 122(9): 906-911.

Hawrylycz, M., J. Miller, V. Menon, D. Feng, T. Dolbeare, A.L. Guillozet-Bongaarts, A. G. Jegga, B. J. Aronow, C. Lee, A. Bernard, M.F. Glasser, D.L. Dierker, J. Menche, A. Szafer, F. Collman, P. Grange, K.A. Berman, S. Mihalas, Z. Yao, L. Stewart, A. Barabási, J. Schulkin, J. Phillips, L. Ng, C. Dang, D.R. Haynor, A. Jones, D.C. Van Essen, C. Koch, and E. Lein. 2015. Canonical genetic signatures of the adult human brain. *Nat. Neurosci.* 18(12): 1832-1844.

Hossaini, A., M. Dalgaard, A.M. Vinggaard, P. Pakarinen, and J.J. Larsen. 2003. Male reproductive effects of octylphenol and estradiol in Fischer and Wistar rats. *Reprod. Toxicol.* 17(5): 607-615.

Hudda, N.T. Gould, K. Hartin, T.V. Larson, and S.A. Fruin. 2014. Emissions from an international airport increase particle number concentrations 4-fold at 10 km downwind. *Environ. Sci. Technol.* 48(12): 6628-6635.

IARC (International Agency for Research on Cancer). 2015. Outdoor Air Pollution. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol. 109. Lyon: IARC [on-line]. Available: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol109/index.php> [accessed July 25, 2016].

Janssen, B.G., H.M. Byun, W. Gyselaers, W. Lefebvre, A.A. Baccarelli, and T.S. Nawrot. 2015. Placental mitochondrial methylation and exposure to airborne particulate matter in the early life environment: An ENVIRONAGE birth cohort study. *Epigenetics* 10(6): 536-544.

Joubert, B.R., S.E. Håberg, R.M. Nilsen, X. Wang, S.E. Vollset, S.K. Murphy, Z. Huang, C. Hoyo, Ø.

- Midttun, L.A. Cupul-Uicab, P.M. Ueland, M.C. Wu, W. Nystad, D.A. Bell, S.D. Peddada, and S.J. London. 2012. 450K epigenome-wide scan identifies differential DNA methylation in newborns related to maternal smoking during pregnancy. *Environ. Health Perspect.* 120(10):1425-1431.
- Kachuri, L., C.I. Amos, J.D. McKay, M. Johansson, P. Vineis, H.B. Bueno-de-Mesquita, M.C. Boutron-Ruault, M. Johansson, J.R. Quirós, S. Sieri, R.C. Travis, E. Weiderpass, L. Le Marchand, B.E. Henderson, L. Wilkens, G. Goodman, C. Chen, J.A. Doherty, D.C. Christiani, Y. Wei, L. Su, S. Tworoger, X. Zhang, P. Kraft, D. Zaridze, J.K. Field, M.W. Marcus, M.P. Davies, R. Hyde, N.E. Caporaso, M.T. Landi, G. Severi, G.G. Giles, G. Liu, J.R. McLaughlin, Y. Li, X. Xiao, G. Fehringer, X. Zong, R.E. Denroche, P.C. Zuzarte, J.D. McPherson, P. Brennan, and R.J. Hung. 2016. Fine-mapping of chromosome 5p15.33 based on a targeted deep sequencing and high density genotyping identifies novel lung cancer susceptibility loci. *Carcinogenesis* 37(1): 96-105.
- Kelce, W.R., and L.E. Gray, Jr. 1997. Endocrine disruptors: Effects on sex steroid hormone receptors and sex development. Pp. 435-474 in *Drug Toxicity in Embryonic Development*, Vol. 2, R.J. Kavlock, and G.P. Daston, eds. Berlin: Springer.
- Kelly, F.J., and J.C. Fussell. 2015. Linking ambient particulate matter pollution effects with oxidative biology and immune responses. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1340:84-94.
- Kim, E., H. Park, Y.C. Hong, M. Ha, Y. Kim, B.N. Kim, Y. Kim, Y.M. Roh, B.E. Lee, J.M. Ryu, B.M. Kim, and E.H. Ha. 2014. Prenatal exposure to PM<sub>2.5</sub> and NO<sub>2</sub> and children's neurodevelopment from birth to 24 months of age: Mothers and Children's Environmental Health (MOCEH) study. *Sci. Total Environ.* 481:439-445.
- Knecht, A.L., B.C. Goodale, L. Truong, M.T. Simonich, A.J. Swanson, M.M. Matzke, K.A. Anderson, K.M. Waters, and R.L. Tanguay. 2013. Comparative developmental toxicity of environmentally relevant oxygenated PAHs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 271(2): 266-275.
- Künzli, N., and I.B. Tager. 1997. The semi-individual study in air pollution epidemiology: A valid design as compared to ecologic studies. *Environ. Health Perspect.* 105(10): 1078-1083.
- Laws, S.C., S.A. Carey, J.M. Ferrell, G.J. Bodman, and R.L. Cooper. 2000. Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. *Toxicol. Sci.* 54(1): 154-167.
- Lin, C.C., S.K. Yang, K.C. Lin, W.C. Ho, W.S. Hsieh, B.C. Shu, and P.C. Chen. 2014. Multilevel analysis of air pollution and early childhood neurobehavioral development. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 11(7): 6827-6841.
- Liu, F., Y. Huang, F. Zhang, Q. Chen, B. Wu, W. Rui, J.C. Zheng, and W. Ding. 2015. Macrophages treated with particulate matter PM<sub>2.5</sub> induce selective neurotoxicity through glutaminase-mediated glutamate generation. *J. Neurochem.* 134(2): 315-326.



- Loke, H., V. Harley, and J. Lee. 2015. Biological factors underlying sex differences in neurological disorders. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 65: 139-150.
- Lovasi, G.S., N. Eldred-Skemp, J.W. Quinn, H.W. Chang, V.A. Rauh, A. Rundle, M.A. Orjuela, and F.P. Perera. 2014. Neighborhood social context and individual polycyclic aromatic hydrocarbon exposures associated with child cognitive test scores. *J. Child Fam. Stud.* 23(5): 785-799.
- McCallister, M.M., Z. Li, T. Zhang, A. Ramesh, R.S. Clark, M. Maguire, B. Hutsell, M.C. Newland, and D.B. Hood. 2016. Revealing behavioral learning deficit phenotypes subsequent to in utero exposure to benzo(a)pyrene. *Toxicol Sci.* 149(1): 42-54.
- McPartland, J., H.C. Dantzker, and C.J. Portier. 2015. Building a robust 21st century chemical testing program at the US Environmental Protection Agency: Recommendations for strengthening scientific engagement. *Environ. Health Perspect.* 123(1): 1-5.
- Mikkilä, T.F., J. Toppari, and J. Paranko. 2006. Effects of neonatal exposure to 4-tert-octylphenol, diethylstilbestrol, and utamide on steroidogenesis in infantile rat testis. *Toxicol. Sci.* 91(2): 456-466.
- Mostafavi, N., J. Vlaanderen, M. Chadeau-Hyam, R. Beelen, L. Modig, D. Palli, I.A. Bergdahl, P. Vineis, G. Hoek, S.A. Kyrtopoulos, and R. Vermeulen. 2015. Inflammatory markers in relation to long-term air pollution. *Environ. Int.* 81: 1-7.
- Nieuwenhuijsen, M.J., D. Donaire-Gonzalez, I. Rivas, M. de Castro, M. Cirach, G. Hoek, E. Seto, M. Jerrett, and J. Sunyer. 2015. Variability in and agreement between modeled and personal continuously measured black carbon levels using novel smartphone and sensor technologies. *Environ. Sci. Technol.* 49(5): 2977-2982.
- Nik-Zainal, S., J.E. Kucab, S. Morganella, D. Glodzik, L.B. Alexandrov, V.M. Arlt, A. Weninger, M. Hollstein, M.R. Stratton, and D.H. Phillips. 2015. The genome as a record of environmental exposure. *Mutagenesis* 30(6): 763-770.
- Novakovic, B., J. Ryan, N. Pereira, B. Boughton, J.M. Craig, and R. Saffery. 2014. Postnatal stability, tissue, and time specific effects of AHRR methylation change in response to maternal smoking in pregnancy. *Epigenetics* 9(3): 377- 386.
- NRC (National Research Council). 1993. *Pesticides in Diet of Infants and Children*. Washington, DC: National Academy Press.
- NRC (National Research Council). 2012. *Exposure Science in the 21st Century: A Vision and a Strategy*. Washington, DC: The National Academies Press.

Perera, F.P., D. Tang, Y.H. Tu, L.A. Cruz, M. Borjas, T. Bernert, and R.M. Whyatt. 2004. Biomarkers in maternal and newborn blood indicate heightened fetal susceptibility to procarcinogenic DNA damage. *Environ. Health Perspect.* 112(10): 1133-1136.

Perera, F.P., V. Rauh, R.M. Whyatt, W.Y. Tsai, D. Tang, D. Diaz, L. Hoepner, D. Barr, Y.H. Tu, D. Camann, and P. Kinney. 2006. Effects of prenatal exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Environ. Health Perspect.* 114(8): 1287-1292.

Perera, F.P., Z. Li, R. Whyatt, L. Hoepner, S. Wang, D. Camann, and V. Rauh. 2009. Prenatal airborne polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and child IQ at age 5 years. *Pediatrics* 124(2): e195-e202.

Proietti, E., M. Rössli, U. Frey, and P. Latzin. 2013. Air pollution during pregnancy and neonatal outcome: A review. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 26(1): 9-23.

Raaschou-Nielsen, O., Z.J. Andersen, R. Beelen, E. Samoli, M. Stafoggia, G. Weinmayr, B. Hoffman, P. Fischer, M.J. Nieuwenhuijsen, B. Brunekreef, W.W. Xun, K. Katsouyanni, L. Dimakopoulou, J. Sommar, B. Forsberg, L. Modig, A. Oudin, B. Oftedal, P.E. Schwarze, P. Nafstad, U. De Faire, N.L. Pedersen, C.G. Ostenson, L. Fratiglioni, J. Penell, M. Korek, G. Pershagen, K.T. Eriksen, M. Sørensen, A. Tjønneland, T. Ellerman, M. Eeftens, P.H. Peeters, K. Meliefste, M. Wang, B. Bueno-de-Mesquita, T.J. Key, K. de Hoogh, H. Concin, G. Nagel, A. Vilier, S. Grioni, V. Krogh, M.Y. Tsai, F. Ricceri, C. Sacerdote, C. Galassi, E. Migliore, A. Ranzi, G. Cesaroni, C. Badaloni, F. Forastiere, I. Tamayo, P. Amiano, M. Dorronsoro, A. Trichopoulou, C. Bamia, P. Vineis, and G. Hoek. 2013. Air pollution and lung cancer incidence in 17 European cohorts: Prospective analyses from the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). *Lancet Oncol.* 14(9): 813-822.

Raaschou-Nielsen, O., R. Beelen, M. Wang, G. Hoek, Z.J. Andersen, B. Hoffmann, M. Stafoggia, E. Samoli, G. Weinmayr, K. Dimakopoulou, M. Nieuwenhuijsen, W.W. Xun, P. Fischer, K.T. Eriksen, M. Sørensen, A. Tjønneland, F. Ricceri, K. de Hoogh, T. Key, M. Eeftens, P.H. Peeters, H.B. Bueno-de-Mesquita, K. Meliefste, B. Oftedal, P.E. Schwarze, P. Nafstad, C. Galassi, E. Migliore, A. Ranzi, G. Cesaroni, C. Badaloni, F. Forastiere, J. Penell, U. De Faire, M. Korek, N. Pedersen, C.G. Östenson, G. Pershagen, L. Fratiglioni, H. Concin, G. Nagel, A. Jaensch,

A. Ineichen, A. Naccarati, M. Katsoulis, A. Trichopoulou, M. Keuken, A. Jedynska, I.M. Kooter, J. Kukkonen, B. Brunekreef, R.S. Sokhi, K. Katsouyanni, and P. Vineis. 2016. Particulate matter air pollution components and risk for lung cancer. *Environ. Int.* 87: 66-73.

Reif, D.M., L. Truong, D. Mandrell, S. Marvel, G. Zhang, and R.L. Tanguay. 2016. High-throughput characterization of chemical-associated embryonic behavioral changes predicts teratogenic outcomes. *Arch. Toxicol.* 90(6): 1459-1470.

Reinius, B., and E. Jazin. 2009. Prenatal sex differences in the human brain. *Mol. Psychiatry* 14(11): 987-989.

Saenen, N.D., M. Plusquin, E. Bijmens, B.G. Janssen, W. Gyselaers, B. Cox, F. Fierens, G. Molenberghs, J. Penders, K. Vrijens, P. De Boever, and T.S. Nawrot. 2015. In utero fine particle air pollution and placental expression of genes in the brain-derived neurotrophic factor signaling pathway: An ENVIRONAGE Birth Cohort Study. *Environ Health Perspect.* 123(8): 834-840.

Schitine, C., L. Nogaroli, M.R. Costa, and C. Hedin-Pereira. 2015. Astrocyte heterogeneity in the brain: From development to disease. *Front. Cell. Neurosci.* 9:76.

Schwarz, J.M., and S.D. Bilbo. 2012. Sex, glia, and development: Interactions in health and disease. *Horm. Behav.* 62(3): 243-253.

Shenker, N.S., S. Polidoro, K. van Veldhoven, C. Sacerdote, F. Ricceri, M.A. Birrell, M.G. Belvisi, R. Brown, P. Vineis, and J.M. Flanagan. 2013. Epigenome-wide association study in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Turin) identifies novel genetic loci associated with smoking. *Hum. Mol. Genet.* 22 (5): 843-851.

Smarr, M.M., F. Vadillo-Ortega, M. Castillo-Castrejon, and M.S. O'Neill. 2013. The use of ultrasound measurements in environmental epidemiological studies of air pollution and fetal growth. *Curr. Opin. Pediatr.* 25(2): 240-246.

Smith, M.T., K.Z. Guyton, C.F. Gibbons, J.M. Fritz, C.J. Portier, I. Rusyn, D.M. DeMarini, J.C. Caldwell, R.J. Kavlock, P. Lambert, S.S. Hecht, J.R. Bucher, B.W. Stewart, R. Baan, V.J. Coglianò, and K. Straif. 2016. Key characteristics of carcinogens as a basis for organizing data on mechanisms of carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.* 124(6): 713-721.

Stieb, D.M., L. Chen, M. Eshoul, and S. Judek. 2012. Ambient air pollution, birth weight and preterm birth: A systematic review and meta-analysis. *Environ. Res.* 117: 100-111.

Suades-González, E., M. Gascon, M. Guxens, and J. Sunyer. 2015. Air pollution and neuropsychological development: A review of the latest evidence. *Endocrinology* 156(10): 3473-3482.

Suglia, S.F., A. Gryparis, R.O. Wright, J. Schwartz, and R.J. Wright. 2008. Association of black carbon with cognition among children in a prospective birth cohort study. *Am. J. Epidemiol.* 167(3): 280-286.

Takeda, K., N. Tsukue, and S. Yoshida. 2004. Endocrine-disrupting activity of chemicals in diesel exhaust and diesel exhaust particles. *Environ. Sci.* 11(1): 33-45.

- Tang, D., T. Li, J.J. Liu, Z. Zhou, T. Yuan, Y. Chen, V.A. Rauh, J. Xie, and F. Perera. 2008. Effects of prenatal exposure to coal-burning pollutants on children's development in China. *Environ. Health Perspect.* 116(5): 674-679.
- Tang, D., T.Y. Li, J.C. Chow, S.U. Kulkarni, J.G. Watson, S.S. Ho, Z.Y. Quan, L.R. Qu, and F. Perera. 2014. Air pollution effects on fetal and child development: A cohort comparison in China. *Environ. Pollut.* 185:90-96.
- Truong, L., D. Reif, L. St. Mary, M. Geier, H.D. Truong, and R.L. Tanguay. 2014. Multidimensional in vivo hazard assessment using zebra sh. *Toxicol. Sci.* 137(1): 212-233.
- Tyl, R.W., C.B. Myers, M.C. Marr, D.R. Brine, P.A. Fail, J.C. Seely, and J.P. Van Miller. 1999. Two-generation reproduction study with para-tert-octylphenol in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 30(2 Pt 1): 81-95.
- van den Hooven, E.H., F.H. Pierik, Y. de Kluienaar, S.P. Willemsen, A. Hofman, S.W. van Ratingen, P.Y. Zandveld, J.P. Mackenbach, E.A. Steegers, H.M. Miedema, and V.W. Jaddoe. 2012. Air pollution exposure during pregnancy, ultrasound measures of fetal growth, and adverse birth outcomes: A prospective cohort study. *Environ Health Perspect.* 120(1): 150-156.
- Vineis, P., A. Schatzkin, and J.D. Potter. 2010. Models of carcinogenesis: An overview. *Carcinogenesis* 31(10): 1703- 1709.
- Vineis, P., K. van Veldhoven, M. Chadeau-Hyam, and T.J. Athersuch. 2013. Advancing the application of omics- based biomarkers in environmental epidemiology. *Environ. Mol. Mutagen.* 54(7): 461-467.
- Vrijheid, M., D. Martinez, S. Manzanares, P. Dadvand, A. Schembari, J. Rankin, and M. Nieuwenhuijsen. 2011. Ambient air pollution and risk of congenital anomalies: A systematic review and meta-analysis. *Environ. Health Perspect.* 119(5): 598-606.
- Wang, W., N. Jariyasopit, J. Schrlau, Y. Jia, S. Tao, T.W. Yu, R.H. Dashwood, W. Zhang, X. Wang, and S.L. Simonich. 2011. Concentration and photochemistry of PAHs, NPAHs, and OPAHs and toxicity of PM<sub>2.5</sub> during the Beijing Olympic Games. *Environ. Sci. Technol.* 45(16): 6887- 6895.
- WHO (World Health Organization). 1986. Principles for Evaluating Health Risks from Chemicals during Infancy and Early Childhood: The Need for a Special Approach. *Environmental Health Criteria* 59. Geneva: World Health Organization.
- Wittkopp, S., N. Staimer, T. Tjoa, T. Stinchcombe, N. Da- her, J.J. Schauer, M.M. Shafer, C. Sioutas, D.L. Gillen, and R.J. Del no. 2016. Nrf2-related gene expression and exposure to traffic-related air pollution in elderly subjects with cardiovascular disease: An exploratory panel study. *J. Expo. Sci.*

Environ. Epidemiol. 16(2): 141-149.

Wu, S., K. Blackburn, J. Amburgey, J. Jaworska, and T. Federle. 2010. A framework for using structural, reactivity, metabolic and physicochemical similarity to evaluate the suitability of analogs for SAR-based toxicological assessments. Regul. Toxicol. Pharmacol. 56(1): 67-81.

Wu, S., J. Fisher, J. Naciff, M. Laufersweiler, C. Lester, G. Daston, and K. Blackburn. 2013. Framework for identifying chemicals with structural features associated with the potential to act as developmental or reproductive toxicants. Chem. Res. Toxicol. 26(12): 1840-1861.

Yang, C.F., and N.M. Shah. 2014. Representing sex in the brain, one module at a time. Neuron. 82(2): 261-278.

Yang, A., M. Wang, M. Eeftens, R. Beelen, E. Dons, D.L. Leseman, B. Brunekreef, F.R. Cassee, N.A. Janssen, and G. Hoek. 2015. Spatial variation and land use regression modeling of the oxidative potential of ne particles. Environ. Health Perspect. 123(11): 1187-1192.

Yorifuji, T., S. Kashima, M. Higa Diez, Y. Kado, S. Sanada, and H. Doi. 2016. Prenatal exposure to traffic-related air pollution and child behavioral development milestone delays in Japan. Epidemiology 27(1): 57-65.