



Казакова О.А., Ярома А.В., Долгих О.В.

Контаминация биосред N-нитрозаминами как фактор развития нарушений иммунного статуса у школьников с диспепсией в условиях изменённого полиморфизма генов-кандидатов

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

Введение. Употребление питьевой воды, загрязнённой N-нитрозаминами, формирует повышенный уровень контаминации ими биологических сред. Ранним маркером эффекта в этом случае выступает дисбаланс показателей иммунного профиля у детей младшего школьного возраста с диспептическими нарушениями. N-нитрозамины относятся к веществам первого класса опасности. Био- и токсикокINETические особенности данной группы веществ при поступлении в организм с водой в условиях полиморфизма гена фермента детоксикации CYP1A1_3 rs4646421, участвующего в биодegradации нитрозаминов, отличаются образованием прямых канцерогенов, способных метилировать ДНК, что характеризуется не только формированием диспепсии, но и угнетением цитокинового контроля процессов клеточной пролиферации.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие дети 6–12 лет ($n = 52$), проживающие на территории Пермского края и потребляющие воду, загрязнённую N-нитрозаминами. В группу наблюдения вошли 30 детей с патологией пищеварительной системы, в группу сравнения — 22 условно здоровых ребёнка. Для всех детей выполнены химические (НДМА, НДЭА), иммунологические (IgG, специфический к НДМА, IgM, CD95⁺, ИЛ-10, Bcl, кортизол, СА 72-4) и генетические (ген фермента детоксикации CYP1A1_3 rs4646421) исследования биосред.

Результаты. По результатам проведённых исследований установлено, что группа наблюдения относительно группы сравнения характеризовалась повышенным содержанием N-нитрозаминов в крови до 3,8 раза; изменённым иммунным профилем в виде повышения специфической сенсибилизации к НДМА по критерию IgG в 1,2 раза, угнетением апоптотической активности по критериям клеточной гибели CD95⁺ в 1,8 раза ($p < 0,05$) и Bcl2 в 1,3 раза, снижением уровня экспрессии противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в 2,3 раза ($p < 0,05$), повышением уровня экспрессии гормона стресса кортизола в 1,3 раза ($p < 0,05$) и желудочного онкомаркера СА 72-4 в 2,5 раза; повышением в 1,5 раза частоты дикого гомозиготного генотипа CC гена CYP1A1_3 rs4646421, который выступает как фактор риска развития диспепсии в условиях контаминации крови N-нитрозаминами ($OR = 4,5$; CI: 1,16–17,40; $p < 0,05$).

Ограничения исследования. Ограничение заключается в применении выявленных маркеров для диагностики иммунных нарушений, проявляющихся при контаминации крови нитрозаминами на конкретной территории.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в условиях потребления питьевой воды, содержащей нитроамины, у школьников формируется повышенный уровень контаминации биосред N-нитроаминами, достоверно связанный с развитием диспепсии, ассоциированной с дисбалансом цитокинового профиля, специфической сенсибилизацией к НДМА, угнетением апоптоза, что на фоне полиморфизма гена детоксикации CYP1A1_3 rs4646421 может привести к развитию процессов неконтролируемой клеточной пролиферации.

Ключевые слова: N-нитроамины; дети; диспепсия; CD; ИЛ-10; ген CYP1A1_3

Соблюдение этических стандартов. Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов» и Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика» (ICH E6 GCP).

Согласие пациентов. Каждый участник исследования (или его законный представитель) дал информированное добровольное письменное согласие на участие в исследовании и публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме в журнале «Гигиена и санитария».

Для цитирования: Казакова О.А., Ярома А.В., Долгих О.В. Контаминация биосред N-нитроаминами как фактор развития нарушений иммунного статуса у школьников с диспепсией в условиях изменённого полиморфизма генов-кандидатов. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(11): 1362–1367. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-11-1362-1367> <https://elibrary.ru/hypgly>

Для корреспонденции: Казакова Ольга Алексеевна, мл. науч. сотр. лаб. иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, 614045, Пермь. E-mail: chakina2011@yandex.ru

Участие авторов: Казакова О.А. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи; Ярома А.В. — сбор и обработка материала, написание текста; Долгих О.В. — написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

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

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 06.09.2022 / Принята к печати: 03.10.2022 / Опубликована: 30.11.2022

Olga A. Kazakova, Alesya V. Yaroma, Oleg V. Dolgikh

Contamination of biomedica with N-nitrosamines as a factor in the development of disorders of the immune status in schoolchildren with dyspepsia under conditions of altered polymorphism of candidate genes

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation

Introduction. Contamination of drinking water sources with N-nitrosamines, substances of the first class of danger, creates conditions for the development of disorders of the immune profile in primary school-age children with diseases of the digestive system. Bio- and toxicokinetic features of these substances, when they enter the body with water, form changes on the part of the immune system, and the biodegradation of these substances by enzymes of the first phase of detoxification of the CYP450 family is accompanied by the formation of direct carcinogens capable of DNA methylation, which is characterized by dyspepsia, uncontrolled cell proliferation in the conditions of the CC genotype of the gene of the detoxification enzyme CYP1A1_3 rs4646421.

Materials and methods. The study involved fifty two children of primary school age (6–12 years old) living in the Perm Territory, consuming water from underground sources characterized by pollution with *N*-nitrosamines. The observation group included 30 children with pathology of the digestive system. The comparison group consisted of 22 conditionally healthy children. Chemical (NDMA, NDEA), immunological (IgE specific to NDMA, IgM, CD95+, IL 10, Bcl, cortisol, CA 72-4), and genetic (gene of the detoxification enzyme CYP1A1_3 rs4646421) studies of the biological environment were performed for all children.

Results. According to the results of the conducted studies, it was found that the observation group relative to the comparison group was characterized by an increased content of *N*-nitrosamines in the blood up to 3.8 times; altered immune status in the form of an increase in specific sensitization to NDMA by 1.2 times, inhibition of apoptotic activity of CD95+ markers by 1.8 times ($p < 0.05$) and Bcl2 by 1.3 times, a decrease in the level of expression of the anti-inflammatory cytokine IL10 by 2.3 times ($p < 0.05$), an increase in the expression of the stress hormone cortisol by 1.3 times ($p < 0.05$) and the cancer marker CA 72-4 by 2.5 times; an increase in the frequency of the wild homozygous CC genotype of the CYP1A1_3 rs4646421 gene by 1.5 times, which acted as a risk factor for dyspepsia in conditions of blood contamination with *N*-nitrosamines (OR=4.5; CI: 1.16–17.40, $p < 0.05$).

Limitations. The limitation lies in the use of the identified markers for the diagnosis of immune disorders manifested by blood contamination with nitrosamines in a specific area.

Conclusion. The obtained results indicate to an imbalance of the immune profile in conditions of low-level chronic oral intake of *N*-nitrosamines with a genetic predisposition to the development of toxic effects. So far, the detected violations should be attributed to early signs indicating the formation of dyspepsia in schoolchildren consuming water from underground sources contaminated with *N*-nitrosamines.

Keywords: nitrosamines; children; dyspepsia; CD; IL 10; CYP1A1_3 gene

Compliance with ethical standards. The study was performed in accordance with the World Medical Association's Declaration of Helsinki "Ethical principles for conducting medical research involving people as subjects" and the National Standard of the Russian Federation GOST-R 52379-2005 "Good Clinical Practice" (ICH E6 GCP).

Patient consent. Each participant of the study (or his/her legal representative) gave informed voluntary written consent to participate in the study and publish personal medical information in an impersonal form in the journal "Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)".

For citation: Kazakova O.A., Yaroma A.V., Dolgikh O.V. Contamination of biomedica with *N*-nitrosamines as a factor in the development of disorders of the immune status in schoolchildren with dyspepsia under conditions of altered polymorphism of candidate genes. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2022; 101(11): 1362–1367. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-11-1362-1367> <https://elibrary.ru/hypgly> (In Russian)

For correspondence: Olga A. Kazakova, junior researcher at the laboratory of Immunogenetics of the Federal Research Center for Medical and Preventive Technologies of Public Health Risk Management, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: chakina2011@yandex.ru

Information about authors:

Kazakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-0114-3930>
Dolgikh O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>

Yaroma A.V., <https://orcid.org/0000-0002-0932-3063>

Contribution: Kazakova O.A. – the concept and design of the study, the collection and processing of the material, writing text, editing, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article; Yaroma A.V. – the collection and processing of the material, writing text; Dolgikh O.V. – writing text, editing, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

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

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: September 6, 2022 / Accepted: October 3, 2022 / Published: November 30, 2022

Введение

Проблема загрязнения питьевой воды веществами, содержащими нитратную группу, связана с широким использованием данных соединений в производстве, сельском хозяйстве или при очистке сточных вод. Нитратные соли легко вымываются из почв и в результате взаимодействия с низкомолекулярными аминами образуют *N*-нитрозамины, которые поступают в подземные источники, используемые для питьевого водоснабжения [1–3].

Питьевая вода из подземных вод может содержать до 200 мг/л нитратов. Жители городов потребляют порядка 20 мг/л нитратов, жители сельских местностей – 20–80 мг/л [4].

Особенность поступления нитратов в организм с водой или пищей обусловлена биокинетикой данных веществ, например, их поступление с водой характеризуется более выраженным негативным воздействием на здоровье [5].

Нитрозамины не улетучиваются, не поддаются биоразложению, не удаляются активированным углём из воды, при этом являются вредными в очень малых концентрациях [6].

По данным научной литературы известно, что большая часть нитрозаминов (свыше 99%) метаболизируется в кишечнике и печени [7].

Метаболизм *N*-нитрозаминов микросомальной системой окисления с помощью цитохрома P-450 приводит к образованию иона метилдиазония (прямой канцероген), который способен метилировать ДНК клеток, индуцируя возникновение злокачественных опухолей желудка, пищевода, печени, лёгких и почек [8].

При попадании нитрозосоединений в организм возникают необратимые патологические процессы в органах-

мишенях*. Нитрозодиметиламин (НДМА) оказывает действие при хроническом пероральном поступлении в дозе 800 Е–06 мг/кг, канцерогенный эффект по критерию Sfo (фактор канцерогенного риска при пероральном воздействии) – в дозе 51 (мг/(кг • сут))⁻¹. Нитрозодиэтиламин (НДЭА) характеризуется формированием перорального канцерогенного риска в дозе 150 (мг/(кг • сут))⁻¹.

Для хронического отравления нитрозаминами характерны симптомы прогрессирующей недостаточности печени (нарушения белкового, углеводного, пигментного обмена) и в меньшей степени почек, а также снижение ряда гематологических показателей. Морфологически наблюдается хронический гепатит, завершающийся циррозом, хронический нефрозонефрит, иногда мембранозный гломерулонефрит [9].

Нитрозамины приводят к метилированию в ДНК остатков гуанина в 6-м и 7-м положениях. Это нарушает свойства генетического кода и инициирует процесс канцерогенеза [10].

В результате биотрансформации НДМА, происходящей преимущественно в печени, образуются активные формы кислорода (АФК), в том числе гидроксильные радикалы. Таким образом, НДМА – прооксидант, который повреждает ядерную ДНК гепатоцитов вследствие окислительного стресса [11].

* Р 2.1.10.1920–04. 2.1.9. Состояние здоровья населения в связи с состоянием окружающей природной среды и условиями проживания населения. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. Утверждено и введено в действие первым заместителем министра здравоохранения Российской Федерации, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 5 марта 2004 г.

Одним из признаков предонкологического процесса является диспепсия, которая может вызываться и нитрозаминами. Диспепсия как комплекс симптомов прослеживается у детей чаще всего в дошкольном и младшем школьном возрасте [12], при этом нарушается работа верхних отделов пищеварительной системы (пищевода, желудка, части тонкого кишечника). Диспепсию, вызванную окислительным стрессом, часто связывают с нитратным отравлением [13–15].

На сегодняшний день дети, проживающие в условиях нитратных провинций, страдают диспепсией [16], в связи с чем актуальным является поиск иммунных и генетических маркеров ранней диагностики патологии желудочно-кишечного тракта, обусловленной поступлением N-нитрозаминов пероральным путём.

Цель работы — изучить особенности иммунного статуса детей 6–12 лет с диспепсией в условиях контаминации био-сред N-нитрозаминами и изменённого полиморфизма генов-кандидатов.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 52 ребёнка (мальчики и девочки) в возрасте 6–12 лет, проживающие постоянно на территории Пермского края в условиях перорального поступления нитрозодиметиламина и нитрозодиэтиламина с питьевой водой. Группа наблюдения включала 30 детей (14 девочек, 16 мальчиков) в возрасте $9,3 \pm 5,3$ года с патологией пищеварительной системы. В группу сравнения вошли 22 условно здоровых ребёнка (12 девочек, 10 мальчиков) в возрасте $8,4 \pm 5,3$ года. Группы сопоставимы по возрасту, материальному статусу и этнической принадлежности.

Питьевое водоснабжение, осуществляемое из подземных источников нитратной геохимической провинции территории наблюдения, по результатам проведённых замеров качества питьевой воды характеризуется низкоуровневым содержанием N-нитрозаминов, не превышающим 1,2 ПДК.

Все исследования проводились на базе ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора с соблюдением этических норм, изложенных в Хельсинкской декларации ВМА.

Анализ образцов крови выполняли методом капиллярной газовой хроматографии на газовом хроматографе с применением специфического к N-нитрозаминам термоионного детектора и аналитической колонки серии DB-624, $30 \text{ m} \times 0,32 \text{ mm} \times 1,8 \text{ }\mu\text{m}$ в соответствии со стандартом организации СТО М 17–2015 «Измерение массовых концентраций N-нитрозаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в крови методом капиллярной газовой хроматографии». При подготовке образцов крови использовали автоматическую систему твердофазной экстракции (ТФЭ) для концентрирования и выделения аналита (N-НДМА) из матрицы биосреды.

Маркером экспозиции к нитратам и N-НДМА, НДЭА в питьевой воде является повышенная концентрация N-НДМА и НДЭА в крови.

Исследование уровня кортизола, цитокина ИЛ-10, онкомаркера СА 72-4, специфического IgG к НДМА в сыворотке крови осуществлялось унифицированным методом ИФА на приборе BioTek ELx808 (США) с использованием набора реагентов компании «Хема-Медика» (Москва) и «Вектор-Бест» (Новосибирск). Определение сывороточных иммуноглобулинов М, G осуществлялось методом радиальной иммунодиффузии по Манчини на плашках Петри.

Определение субпопуляций лимфоцитов $\text{CD3}^+\text{CD95}^+$ и внутриклеточного регулятора апоптоза Bcl-2 проводили методом мембранной иммунофлуоресценции на проточном цитометре FACSCalibur с использованием панели меченых моноклональных антител к мембранным CD-рецепторам (Becton Dickinson, США).

Полиморфизм гена-кандидата оценивали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе Bio-Rad CFX96 с оценкой аллельной дискримина-

ции. Исследованы особенности полиморфизма гена первой фазы детоксикации *CYP1A1_3* rs4646421. Статистический анализ гена-кандидата оценён при помощи мультипликативной, общей, доминантной и рецессивной моделей наследования с оценкой следующих показателей: χ^2 -критерий (хи-квадрат), OR — оценка шансов, CI — доверительный интервал, p — уровень значимости. Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Дизайн исследования включал анализ содержания в биопробах кортизола, цитокина ИЛ-10, $\text{CD3}^+\text{CD95}^+$, онкомаркера СА72-4, а также определение сывороточных иммуноглобулинов М, G, внутриклеточного регулятора апоптоза Bcl-2, полиморфного участка гена *CYP1A1_3* rs4646421. Использование данных показателей в качестве ожидаемых маркеров эффекта и чувствительности базировалось на известных данных научной литературы [17–21], а также на предполагаемых механизмах этиопатогенеза формирования диспепсии в условиях контаминации нитрозаминами. Выполняли определение сывороточных иммуноглобулинов (IgM, IgG) как факторов острого и хронического воспалительного процесса в слизи; согласно протоколу идентификации диспепсии (дополнительное диагностическое обследование); $\text{CD3}^+\text{CD95}^+$ как сигнального мембранного фактора и Bcl-2 как проводящего цитоплазматического фактора нарушенной клеточной дифференцировки и клеточной гибели; основного противовоспалительного цитокина ИЛ-10 — фактора ингибирования синтеза цитокинов человека; кортизола как участника развития и супрессии стрессовых реакций, дезадаптации и воспаления; фетального протеина СА72-4 как специфического маркера воспалительных процессов в желудке; IgG, специфического к НДМА, отражающего иммунный ответ на изучаемый гаптен; полиморфизма гена цитохрома р450 *CYP1A1_3* rs4646421, характеризующего особенности метаболизма нитрозаминов и ответа организма на их персистирование.

Обработку данных осуществляли с помощью программ Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США) и Microsoft Excel 2013. Определяли среднее значение ($\bar{X}$) и его стандартную ошибку (SE). Нормальность распределения оценивали критерием Шапиро–Уилка. При уровне значимости более 95% ($p < 0,05$) отличия считали достоверными.

Результаты

По результатам химического исследования крови у детей группы наблюдения уровень N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина находился в пределах референтного показателя и превышал аналогичный в группе сравнения в 3,8 раза (процент проб с показателем выше нормы — 13,%, против 0% соответственно) и 3,4 раза (процент проб с показателем выше нормы — 10% против 3,1% соответственно) (табл. 1).

По результатам выполненных исследований установлено, что группа наблюдения характеризовалась достоверным относительно группы сравнения снижением абсолютного и относительного уровня экспрессии маркера активации апоптоза ($\text{CD3}^+\text{CD95}^+$) в 1,8 раза. Установлен повышенный по отношению к норме и группе сравнения уровень содержания специфических антител к N-нитрозодиметиламину (IgG к НДМА) в 1,2 раза (количество проб с показателем выше нормы составило в группе наблюдения около 45). Отмечен достоверный по отношению к группе сравнения дисбаланс маркеров гуморальной регуляции, входящих в перечень скрининговых исследований состояний иммунной системы при диспепсии (дополнительное диагностическое обследование): снижение уровня IgG на 11% (число проб с показателем ниже нормы 73,3% против 45,5% соответственно) и повышение IgM на 13% (процент проб с показателем выше нормы 40% против 9,1% соответственно).

Выявлено снижение экспрессии внутриклеточного регулятора апоптоза Bcl-2 относительно нормы в 2,2 раза и относительно группы сравнения в 1,3 раза (число проб с показателем

Таблица 1 / Table 1

Результаты изучения контаминации крови N-нитрозаминами детей обследуемых групп
Results of the study of blood contamination with N-nitrosamines in children of the studied groups

Вещество Substance	Фоновый уровень Background level	Наблюдение Observation	Сравнение Comparison	Уровень значимости Significance level <i>p</i>
НДМА, мкг/см ³ (NDMA, µg/cm ³)	0.00015–0.00107	0.00015 ± 9E-5	0.00004 ± 0.00000	0.04
НДЭА, мкг/см ³ (NDEA, µg/cm ³)	0.00050–0.00109	0.00093 ± 0.00121	0.00027 ± 0.00039	0.30

Таблица 2 / Table 2

Особенности иммунного профиля детей, биосреды которых контаминированы N-нитрозаминами
Features of the immune profile in children with biomedica contaminated with N-nitrosamines

Показатель Indicator	Норма Standart	Наблюдение Observation	Сравнение Comparison	Уровень значимости Significance level <i>p</i>
CD3 ⁺ CD95 ⁺ -лимфоциты, абс., 10 ⁹ /л CD3 ⁺ CD95 ⁺ -lymphocytes, abs., 10 ⁹ /l)	0.4–0.7	0.16 ± 0.03	0.29 ± 0.05	0.00
CD3 ⁺ CD95 ⁺ -лимфоциты, отн., % CD3 ⁺ CD95 ⁺ -lymphocytes, rel., %)	15–25	6.85 ± 1.099	12.53 ± 2.57	0.00
IgG специфический к НДМА, г/дм ³ IgG specific to NDMA, g/dm ³)	0–0.1	0.15 ± 0.03	0.07 ± 0.02	0.04
IgM, г/дм ³ IgM, g/dm ³)	1.26–1.56	1.53 ± 0.14	1.36 ± 0.11	0.05
Bcl-2, %	1–1.5	0.46 ± 0.09	0.58 ± 0.05	0.59
Интерлейкин-10, пг/мл Interleukin-10, pg/ml)	0–20	1.46 ± 0.496	3.30 ± 1.52	0.02
Кортизол, нмоль/см ³ Cortisol, nmol/cm ³)	140–600	515.99 ± 44.44	406.03 ± 62.30	0.01
СА 72-4, единиц/мл CA 72-4, units/ml)	0–6	2.02 ± 1.5	0.81 ± 0.34	0.13

Примечание: отн. — относительный уровень; абс. — абсолютный уровень.

Note: rel. — relative level; abs. — absolute level.

Таблица 3 / Table 3

Результаты изучения полиморфизма гена семейства цитохрома CYP1A1_3 rs4646421 у детей, биосреды которых контаминированы N-нитрозаминами
Results of studying the polymorphism of the cytochrome CYP1A1_3 rs4646421 gene family in children with biomedica contaminated with N-nitrosamines

Генотип Алель Genotype Allele	Наблюдение, % Observation, %	Сравнение, % Comparison, %	χ^2 (критерий хи-квадрат Пирсона / Pearson's chi-square criterion)	p (уровень значимости / significance level)	OR (оценка шансов / Odds Ratio)	Доверительный интервал Confidence interval	
						CI95 ⁻	CI95 ⁺
Общая модель / General model							
C/C	86.66	59.09	6.66	0.009	4.50	1.16	17.40
C/T	13.34	27.27			0.41	0.1	1.68
T/T	0	13.64			0	0	—
Мультипликативная модель / Multiplicative model							
C	93.33	72.72	8.28	0.004	5.25	1.56	17.63
T	6.67	27.28			0.19	0.06	0.64

ниже нормы 100% против 71,4% в группе сравнения). Показано значимое снижение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в 2,3 раза, а также достоверное повышение уровня гормона стресса кортизола в 1,3 раза (количество проб с показателем выше нормы у 26,7% в группе наблюдения против 9,1% в группе сравнения). Отмечается избыточная экспрессия фетального протеина СА 72-4 в группе наблюдения (в 2,5 раза по отношению к группе сравнения) (табл. 2).

Установлено, что страдающие диспепсией дети, биосреды которых контаминированы N-нитрозаминами, отличаются снижением экспрессии апоптотических Т-лимфоцитов и внутриклеточного белка — регулятора апоптоза, гиперэкспрессией специфических реактивов (IgG, специфический к НДМА), снижением противовоспалительной активности цитокинов, а также повышением уровня гормона стресса кортизола и желудочного онкомаркера.

По результатам оценки полиморфизма кандидатных генов установлено, что группа наблюдения характеризовалась повышенной частотой дикого аллеля С (OR = 5,25; CI: 1,56–17,63; $p < 0,01$) и гомозиготного генотипа СС (OR = 4,50; CI: 1,16–17,40; $p < 0,01$) гена первой фазы детоксикации — гена цитохрома *CYP1A1_3* rs4646421 на 17 и 42% соответственно (табл. 3).

Установлено, что группа наблюдения характеризовалась полиморфизмом гена первой фазы детоксикации семейства цитохрома, где СС дикий генотип ассоциирован с развитием диспепсии у детей, биосреды которых контаминированы N-нитрозаминами.

Обсуждение

Маркер CD95⁺ экспрессируется на всех клетках иммунной системы и отражает готовность клеток к апоптозу. Контаминация нитрозаминами (НДМА) приводит к нарушению процессов метилирования ДНК, замедляет процедуру выбраковки дефектных клеток организма, угнетая программную клеточную гибель, опосредованную дефицитом рецептора клеточной смерти (CD3⁺CD95⁺), что ведёт к хронизации воспалительных процессов, в том числе в ЖКТ, развитию аутоиммунных реакций, вероятности опухолевой трансформации [10, 11].

Повышение уровня специфических антител к НДМА указывает на способность данного вещества к конъюгации с эндогенными протеинами и проявление антигенных свойств.

Маркер Bcl-2 относится к регуляторам клеточной гибели, контролирует проницаемость митохондриальной мембраны, а также развитие окислительного стресса, формирование которого ассоциировано с воздействием нитрозаминов (НДМА) [11].

Снижение экспрессии ИЛ-10 связано, вероятно, с иммуноотпорностью нитрозаминов, блокирующих экспрессию цитокинов, предотвращающих избыточное воспаление и повреждение здоровых клеток и тканей.

Уровень экспрессии кортизола отражает компенсаторные антистрессорные процессы глюконеогенеза в клетках печени, в том числе в условиях повышенной контаминации нитрозаминами [17].

Избыточная экспрессия фетального протеина СА 72-4 указывает на наличие воспалительного процесса в эпителиальных клетках ЖКТ, а именно в слизистой желудка (СА 72-4 — онкомаркер рака желудка) (см. табл. 2).

Наблюдаемые в настоящем исследовании изменения согласуются с известными в научной литературе данными о понижении уровня экспрессии CD3⁺CD95⁺-лимфоцитов и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в условиях контаминации крови N-нитрозаминами [17–19], а также об избыточной экспрессии гормона стресса кортизола [20] и IgM при хронических заболеваниях желудочно-кишечного тракта [21].

На ограниченном количестве исследований было показано, что поступающие с водой избыточные концентрации нитратов, метаболизируясь до N-нитроаминов, формируют

избыточную контаминацию биосред и на фоне изменённого генетического полиморфизма гена детоксикации цитохрома запускают иммуноопосредованный механизм пролиферативных сдвигов в гомеостазе, которые характеризуются дисбалансом мембранных и транскрипционных факторов апоптоза [22].

Заключение

Известно, что клинические признаки диспепсии можно определить и без проведения сложных дорогостоящих исследований. Однако выявление модификаций проявлений диспепсии в условиях экспозиции нитрозаминами на фоне полиморфизма кандидатных генов не может быть в полной мере обеспечено стандартными диагностическими исследованиями, поскольку диспепсия — мультифакториальное заболевание с неспецифическими клиническими проявлениями, зачастую маскирующимися под очень тяжёлые клинические сценарии, причину, механизм, особенности течения и исход которых нельзя объяснить с помощью традиционных диагностических процедур. Необходимость консультативного обеспечения таких пациентов не подвергается сомнению, и лишь использование современных диагностических технологий позволит своевременно поставить правильный диагноз, назначить не симптоматическое, а этиопатогенетическое лечение.

Теоретическая значимость полученных результатов заключается в расширении знаний об особенностях иммунного профиля у детей 6–12 лет с диагнозом «диспепсия» в условиях хронического перорального поступления и контаминации биосред нитрозадиметиламидами. Представленные в настоящем исследовании результаты отражают особенности и механизм развития диспепсии в условиях полиморфизма гена первой фазы детоксикации семейства цитохрома *r450 CYP1A1_3* rs4646421, когда фенотипическая реализация генетически опосредованного сценария модифицирована контаминацией биосред N-нитрозаминами. Практическая значимость полученных результатов заключается в разработке и обосновании системы (перечня) иммунологических и генетических индикаторных показателей клеточной гибели, иммунной и метаболической дисрегуляции, специфической сенсibilизации как предикторов развития диспепсии, модифицированной контаминацией нитрозаминами.

Настоящим исследованием подтверждено, что низкоуровневая хроническая пероральная экспозиция N-нитрозаминами (до 1,2 ПДК), поступающими с питьевой водой, формирует контаминацию крови N-нитрозаминами у детей, вызывая негативные эффекты со стороны иммунной системы в виде угнетения экспрессии активированных Т-лимфоцитов, снижения уровня экспрессии апоптотического внутриклеточного фактора и противовоспалительного цитокина ИЛ-10, увеличения уровня специфических реактивов (IgG, специфический к НДМА), кортизола и желудочного онкомаркера СА 72-4, что сопровождается изменённым генетическим фоном в виде полиморфизма гена детоксикации первой фазы *CYP450* (увеличение частоты дикого гомозиготного генотипа СС гена *CYP1A1_3* rs4646421), тем самым формируя развитие диспепсии.

Условия, ассоциированные с полиморфизмом генов, играют ключевую роль в течении и исходах любой патологии, в том числе и диспепсии. Учёт особенностей генетической предрасположенности — современный адекватный персонализированный подход к диагностике и последующему лечению. Однонуклеотидный полиморфизм (SNP, single nucleotide polymorphism) в условиях экспозиции к нитрозамину модифицирует проявления диспепсии, и их диагностика не может ограничиваться стандартными исследованиями.

В условиях поступления с питьевой водой нитратов и их метаболитов, формирующих контаминацию крови N-нитрозаминами, выявленные иммунные и генетические маркеры рекомендуются к использованию как индикаторные в диагностике ранних нарушений пищеварительной системы в виде диспепсии у детей 6–12 лет.

Литература (п.п. 2, 8, 11, 12 см. References)

1. Бастратов С.И., Николаев А.П. Оценка качества питьевой воды для здоровья населения. В кн.: *Материалы XI Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей*. М.; 2012: 36–8.
3. Магомедова Ф.Э., Субботина Ю.М. Загрязнение водоёмов азотсодержащими веществами их действие на гидробионты. В кн.: *Материалы VIII Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум»*. Сочи; 2016. Доступно: <https://scienceforum.ru/2016/article/2016028494>
4. Официальный сайт Минский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья. Анискевич А.В. Нитраты и нитриты; 2013. Available at: <http://mccgeoz.by/stati/nitraty-i-nitrity/>
5. Зайцева Н.В., Уланова Т.С., Нурисламова Т.В., Попова Н.А., Мальцева О.А. Количественные показатели нитратов в моче и N-нитрозодиметиламина в крови как маркеры пероральной экспозиции нитратов, поступающих с питьевой водой. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(11): 1087–92. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-11-1087-92>
6. Осипенко Б.Г., Полякова Л.О. Нитрозодиметиламин (НДМА) – гепатотропный яд и канцероген: токсиколого-гигиенические аспекты его биологического действия (сообщение 1). *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2005; (4): 5–9.
7. Нурисламова Т.Н., Уланова Т.С., Попова Н.А., Мальцева О.А. Современные аналитические технологии при определении высокотоксичных N-нитрозамин в крови. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(1): 84–9. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-1-84-89>
9. Ергожин Е.Е., Соломин В.А., Ляпунов В.В. Химико-экологический мониторинг объектов окружающей среды – одно из основных направлений изучения экологических аспектов влияния космодрома «Байконур». *Вестник Карагандинского университета*. 2001; (1): 93–6.
10. Рабинович В.А., Хавин З.Я. *Краткий химический справочник*. Ленинград: Химия; 1997.
13. Вшивцева Н.Б., Репецкая М.Н., Торопова Е.А. Функциональная диспепсия у детей: клиника, диагностика, лечение. *Вятский медицинский вестник*. 2015; (2): 32–3.
14. Алексеев С.А., Крапивная О.В., Камалова О.К., Васяев В.Ю., Пырх А.В. Динамика клинической симптоматики, показателей качества жизни, состояния моторной функции пищевода и прямой кишки у больных с функциональной диспепсией и синдромом раздражённого кишечника после эрадикации НР. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2003; (4): 54–8.
15. Шипулин В.П., Кривиньш Е.Р. Проблемы коррекции железодефицитной анемии у беременных и пути их преодоления. *Тематичный номер «Гинекология, Акушерство, Репродуктология»*. 2015; (1).
16. Таран Н.Н. Диспепсии у детей грудного возраста. Современный взгляд на проблему. *Consilium Medicum. Педиатрия*. 2011; (Прил. 3): 24–9.
17. Белоусова О.Ю., Казарян Л.В. Функциональная диспепсия у детей. Проблемы и перспективы симптоматической терапии. *Здоровье ребенка*. 2019; 14(8): 475–8. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.14.8.2019.190841>
18. Старкова К.Г., Долгих О.В., Кривцов А.В., Бубнова О.А., Отавина Е.А., Безрученко Н.В. и др. Особенности изменения маркерных показателей иммунной регуляции у детей в условиях воздействия нитратов. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(1): 44–7. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-1-44-47>
19. Долгих О.В., Уланова Т.С., Аликина И.Н., Челакова Ю.А., Нурисламова Т.В. Особенности иммуногенетического статуса детского населения в условиях нитратной геохимической провинции. *Якутский медицинский журнал*. 2019; (4): 55–7. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2019.68.14>
20. Кунакбаева Е.Г., Вахрушев Я.М. Опыт лечения больных функциональной диспепсией в амбулаторно-поликлинических условиях. *Справочник врача общей практики*. 2016; (9): 39–43.
21. Новикова А.В., Шершевская А.Я. Некоторые этиопатогенетические особенности хронического гастродуоденита у детей. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 1996; 75(2): 12.
22. Лужецкий К.П., Чигвинцев В.М., Устинова О.Ю., Вековшинина С.А. Интегральная оценка тиреоидных нарушений у детей, потребляющих питьевую воду с повышенным содержанием нитратов. *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2016; (4): 384–90.

References

1. Bastrakov S.I., Nikolaev A.P. Assessment of Drinking Water Quality for Public Health. In: *Proceedings of the XI All-Russian Congress of Hygienists and Sanitary Doctors [Materialy XI Vserossiyskogo s"ezda gigenistov i sanitarnykh vrachev]*. Moscow; 2012: 36–8. (in Russian)
2. Greenstock C.L. Free-radical processes in radiation and chemical carcinogenesis. *Adv. Radiat. Biol.* 1984; (11): 269–93. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-035411-5.50012-5>
3. Magomedova F.E., Subbotina Yu.M. Pollution of reservoirs with nitrogen-containing substances their effect on hydrobionts. *Materials of the VIII International Student Scientific Conference «Student Scientific Forum» [Materialy VIII Mezhdnarodnoy studencheskoy nauchnoy konferentsii «Studencheskiy nauchnyy forum»]*. Sochi; 2016. Available at: <https://scienceforum.ru/2016/article/2016028494> (in Russian)
4. Official website of the Minsk Regional Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health. Aniskevich A.V. Nitrates and nitrites; 2013. Available at: <https://mccgeoz.by/stati/nitraty-i-nitrity/> (in Russian)
5. Zaytseva N.V., Ulanova T.S., Nurislamova T.V., Popova N.A., Mal'tseva O.A. Quantitative parameters of nitrates in urine and n-nitrosodimethylamine in blood as markers of the oral exposure to nitrates introduced with drinking water. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2018; 97(11): 1087–92. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-11-1087-92> (in Russian)
6. Osipenko B.G., Polyakova L.O. Nitrosodimethylamine – hepatotropic toxin and carcinogene. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2005; (4): 5–9. (in Russian)
7. Nurislamova T.N., Ulanova T.S., Popova N.A., Mal'tseva O.A. Modern analytical techniques in the determination of highly n-nitrosamines in biological fluids (blood). *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2017; 96(1): 84–9. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-1-84-89> (in Russian)
8. Kamataki T., Fujita K., Nakayama K., Yamazaki Y., Miyamoto M., Ariyoshi N. Role of human cytochrome P450 (CYP) in the metabolic activation of nitrosamine derivatives: application of genetically engineered Salmonella expressing human CYP. *Drug Metab. Rev.* 2002; 34(3): 667–76. <https://doi.org/10.1081/dmr-120005668>
9. Ergozhin E.E., Solomin V.A., Lyapunov V.V. Chemical and environmental monitoring of environmental objects is one of the main directions of studying the environmental aspects of the influence of the Baikonur cosmodrome. *Vestnik Karagandinskogo universiteta*. 2001; (1): 93–6. (in Russian)
10. Rabinovich V.A., Khavin Z.Ya. *Brief Chemical Reference [Kratkiy khimicheskii spravochnik]*. Leningrad: Khimiya; 1997. (in Russian)
11. Arranz N., Haza A.I., Garcia A., Raffert J., Morales P. Protective effect of vitamin C towards N-nitrosamine-induced DNA damage in the single-cell gel electrophoresis (SCGE)/HepG2 assay. *Toxicol. In Vitro*. 2007; 21(7): 1311–7. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.03.015>
12. Chin W., Lee V.M., Archer M.C. Evidence that the hepatotoxicity of N-nitrosodimethylamine in the rat is unrelated to DNA methylation. *Chem. Res. Toxicol.* 1993; 6(3): 372–5. <https://doi.org/10.1021/tx00033a019>
13. Vshivtseva N.B., Repetskaya M.N., Toropova E.A. Functional dyspepsia in children: clinic, diagnosis, treatment. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*. 2015; (2): 32–3. (in Russian)
14. Alekseenko S.A., Krapivnaya O.V., Kamalova O.K., Vasyaev V.Yu., Pyrkh A.V. Dynamics of clinical symptoms, indices of life quality, and the state of the motor function of the esophagus and rectum in patients with functional dyspepsia and irritable bowel syndrome after the HP eradication. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2003; (4): 54–8. (in Russian)
15. Shipulin V.P., Krievn'sh E.R. Problems of correction of iron deficiency anemia in pregnant women and ways to overcome them. *Tematichnyi nomer «Ginekologiya, Akusherstvo, Reprodukologiya»*. 2015; (1). (in Russian)
16. Taran N.N. Dyspepsia in infants. A modern view of the problem. *Consilium Medicum. Peditriya*. 2011; (Suppl. 3): 24–9. (in Russian)
17. Belousova O.Yu., Kazaryan L.V. Functional dyspepsia in children. Problems and prospects of symptomatic therapy. *Zdorov'e rebenka*. 2019; 14(8): 475–8. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.14.8.2019.190841> (in Russian)
18. Starkova K.G., Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Bubnova O.A., Otavina E.A., Bezruchenko N.V., et al. Features of immunoregulatory markers and genetic polymorphism of children under the impact of nitrates. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2017; 96(1): 44–7. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-1-44-47> (in Russian)
19. Dolgikh O.V., Ulanova T.S., Alikina I.N., Chelakova Yu.A., Nurislamova T.V. Features of immunogenetic status in children residing in nitrate geochemical province. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal*. 2019; (4): 55–7. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2019.68.14> (in Russian)
20. Kunakbaeva E.G., Vakhruшев Ya.M. Experience in the treatment of patients with functional dyspepsia in out-patient conditions. *Spravochnik Spravochnik vracha obshchey praktiki*. 2016; (9): 39–43. (in Russian)
21. Novikova A.V., Shershevskaya A.Ya. The peculiarities of chronic gastroduodenitis in children. *Pediatrya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 1996; 75(2): 12. (in Russian)
22. Luzhetskiy K.P., Chigvintsev V.M., Ustinova O.Yu., Vekovshinina S.A. Integral assessment of thyroid disorders in children, consuming drinking water with elevated levels of nitrate. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya*. 2016; (4): 384–90. (in Russian)