

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 613.32

DOI: 10.21668/health.risk/2018.3.08

Читать
онлайн



ИНДИКАТОРЫ ЭФФЕКТА ПРИ ОЦЕНКЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА НИТРАТОВ И N-НИТРОЗОДИМЕТИЛАМИНА ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ

Т.В. Нурисламова^{1,3}, О.О. Сеницына², О.А. Мальцева³

¹Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Россия, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

²Всероссийский научно-исследовательский институт железнодорожной гигиены, Россия, 125438, г. Москва, Пакгаузное шоссе, 1, корп. 1

³Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Россия, 614990, г. Пермь, Комсомольский проспект, 29

Представлены результаты сравнительной оценки содержания N-нитрозодиметиламина (N-НДМА) в пробах крови групп детей, потребляющих питьевую воду с повышенным содержанием нитратов и N-НДМА, относительно группы детей, которые использовали для питьевых целей воду, соответствующую гигиеническим нормативам. Установлены достоверные различия ($p < 0,005$) по содержанию N-НДМА в образцах крови детей группы наблюдения ($0,0045 \pm \pm 0,0009$ мг/дм³) и сравнения ($0,003 \pm 0,0006$ мг/дм³). Установлена активизация процессов свободнорадикального окисления у детей группы наблюдения, подвергающихся экспозиции N-НДМА. Доказано повышение (в 1,6 раза) содержания гидроперекиси липидов в сыворотке крови детей группы наблюдения относительно детей группы сравнения. При наличии в крови N-НДМА у детей группы наблюдения риск повреждения клеточных мембран увеличивается в 1,73 раза.

Оценка состояния антиоксидантной защиты выявила снижение активности глутатион-S-трансферазы, уровня витамина В₁₂ и увеличение уровня глутатионпероксидазы у детей группы наблюдения относительно группы сравнения в 1,2–1,7 раза ($p = 0,000–0,030$). Риск повышения уровня глутатионпероксидазы увеличивается в 2,91 раза.

Выявлена достоверная причинно-следственная связь возрастания IgG к N-НДМА при увеличении концентрации N-НДМА в крови ($R^2 = 0,958$ при $p = 0,001$). Риск изменения данного показателя гуморального иммунитета увеличивается в 1,30 раза.

По результатам экспериментальных исследований установлено повышение уровней фетальных белков (СА 199, КЭА), зафиксированных в сыворотке крови у детей группы наблюдения относительно группы сравнения в 3,9 и в 2,7 раза соответственно ($p = 0,010–0,023$), что может отражать динамику процессов, характеризующих состояние пролиферации тканей и явиться одним из механизмов развития неконтролируемой клеточной пролиферации.

На основании выполненных исследований обоснованы и установлены биомаркеры эффектов: повышение уровня IgG к N-НДМА и глутатионпероксидазы, активность АСАТ и уровня билирубина общего, которые могут быть использованы для оценки риска и обоснования допустимых уровней данных токсических соединений в крови.

Ключевые слова: нитраты, N-нитрозодиметиламин, питьевая вода, индикатор экспозиции, индикатор эффекта, отношение шансов, специфическая сенсibilизация.

Среди химических факторов, формирующих риски для здоровья населения Российской Федерации вследствие загрязнения воды источников питьевого водоснабжения, особое значение имеют неор-

ганические соединения. Так, опасность потребления воды с высоким содержанием нитратов, содержание которых стремится к постоянному увеличению¹ [1], заключается в том, что из них при попадании в ор-

© Нурисламова Т.В., Сеницына О.О., Мальцева О.А., 2018

Нурисламова Татьяна Валентиновна – доктор биологических наук, заведующий лабораторией газовой хроматографии, профессор кафедры охраны окружающей среды (e-mail: nurtat@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 233-10-37).

Сеницына Оксана Олеговна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, советник директора по развитию инновационных исследований (e-mail: sinitsynaoo@vniijg.ru; тел.: 8 (985) 304-34-44).

Мальцева Ольга Андреевна – химик лаборатории методов газовой хроматографии (e-mail: malceva@fcrisk.ru; тел.: 8 (902) 648-65-22).

¹ Логинова Е.В., Лопух П.С. Гидроэкология: курс лекций. – Минск: БГУ, 2011. – 300 с.

ганизм в результате эндогенного синтеза образуются высокотоксичные N-нитрозоамины² [2]. Питьевая вода является одним из основных источников поступления N-нитрозоаминов в организм человека³.

Выявление связи между воздействием загрязнений питьевой воды и последующим биологическим эффектом является важным аспектом гигиенической оценки [3–5]. Для индикации эффектов вредного воздействия химических факторов питьевой воды на здоровье человека применяются эпидемиологические, инструментальные (лабораторные) и клинические методы, позволяющие оценить экспозицию химических факторов. Одним из основных инструментов для выявления устойчивых причинно-следственных связей нарушений состояния здоровья с воздействием внешнесредовых химических факторов является установление биомаркеров эффекта [6]. Патогенетические механизмы негативного воздействия азотсодержащих веществ (нитратов и нитрозоаминов), поступающих с питьевой водой, до настоящего времени остаются одной из нерешенных задач современной гигиены и экологии человека.

Цель исследования – обоснование индикаторов негативных эффектов у детей в условиях хронической экспозиции нитратами и N-нитрозодиметиламином (N-НДМА), которые поступают в организм с питьевой водой, на основании моделирования и оценки зависимости «индикатор экспозиции – индикатор эффекта».

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели использован комплекс санитарно-гигиенических, эпидемиологических, статистических методов. Гигиеническая оценка качества питьевой воды на исследуемых территориях проведена по материалам мониторинговых наблюдений ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», Пермского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды и по данным исследований ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». Оценку результатов исследований проб воды на содержание нитратов⁴

и N-НДМА⁵ на территории наблюдения и сравнения выполняли по отношению к предельно допустимой концентрации в соответствии с ГН 2.1.5.1315-03⁶.

Для обоснования индикаторов эффекта выполнено углубленное обследование двух групп детей, проживающих в одном регионе с одинаковой социально-экономической и геохимической характеристикой: в группу наблюдения вошли дети, подвергшиеся экспозиции нитратами и N-НДМА с питьевой водой; в группу сравнения – дети, находившиеся вне экспозиции. Обследование детей выполнено в соответствии с обязательным соблюдением этических норм, изложенных в Хельсинкской декларации 1975 г. с дополнениями 1983 г.

Исследования биологических сред детей включали определение N-НДМА в крови, а нитратов – в моче. В качестве критериев оценки содержания нитратов в моче и N-НДМА в крови использовали показатели группы сравнения. Углубленным обследованием охвачено 153 ребенка из детских организованных коллективов в возрасте 4–10 лет (девочек – 53 %, мальчиков – 47 %), проживающих на территориях с повышенным содержанием нитратов в питьевой воде – до 1,2 ПДК ($66,9 \pm 12,92$ мг/дм³, группа наблюдения). Для проведения сравнительного анализа обследована группа детей в количестве 100 человек аналогичного возраста (группа сравнения), потребляющих питьевую воду, в которой отсутствуют превышения нормативов по этому показателю – в среднем $0,2$ ПДК ($10,9 \pm 2,7$ мг/дм³).

Анализ образцов крови выполняли методом капиллярной газовой хроматографии на газовом хроматографе с применением специфического к N-нитрозоаминам термоионного детектора и аналитической колонки серии DB-624-30m×0,32mm×1,8μm [7]. При подготовке образцов крови использовали автоматическую систему твердофазной экстракции (ТФЭ) для концентрирования и выделения аналита (N-НДМА) из матрицы биосреды [8, 9]. Исследования образцов мочи на содержание нитратов выполняли с применением системы капиллярного электрофореза⁷.

²Руководство по обеспечению качества питьевой воды [Электронный ресурс] // Всемирная организация здравоохранения. – 2004. – Т. 1. – URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/ru/ (дата обращения: 01.06.2018).

³Арустамов Э.А., Баркалова Н.В., Левакова И.В. Экологические основы природопользования. – 5-е изд., перераб. и доп. – М., 2008. – 320 с.

⁴ГОСТ 31867-2012. Вода питьевая. Определение содержания анионов методом хроматографии и капиллярного электрофореза [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200097406> (дата обращения: 26.08.2018).

⁵МУК 4.1.1871-04. Газохроматографическое определение N-нитрозодиметиламина (НДМА) в питьевой воде и воде водоемов [Электронный ресурс] // GOSTRF.COM. – URL: <http://www.gostrf.com/normadata/1/4293855/4293855338.htm> (дата обращения: 26.08.2018).

⁶ГН 2.1.5.1315-03. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/901862249> (дата обращения: 26.08.2018).

⁷СТО М 26-2017. Методика измерений массовой концентрации нитрат-ионов в моче методом капиллярного электрофореза: свидетельство об аттестации методики (метода) измерений №88-16207-030-RA.RU.310657-2018. – М., 2018.

Результатом хронического поступления в организм нитратов и N-НДМА с питьевой водой является повышенная концентрация N-НДМА в крови. Для критериальной оценки эффектов выполнены углубленные исследования и оценка ответных реакций организма: отклонений биохимических и иммунологических показателей. Лабораторные исследования биологических сред детского населения включали следующие показатели:

1. *Биохимические исследования* (гидроперекиси липидов, супероксиддисмутазы (СОД), оксид азота в сыворотке крови; 8-гидрокси-2-деоксигуанозин в крови и моче, аланинаминотрансфераза (АЛАТ), аспартатаминотрансфераза (АСАТ), альбумин, холестерин, билирубин прямой, билирубин общий, малоновый диальдегид (МДА), АОА (антиоксидантная активность) в плазме крови, белок общий, глюкоза, креатинин, мочевины, щелочная фосфатаза, гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), кальций, фосфор, железо, отношение аполипопротеина А₁ к В₁₀₀ (Апо А₁/Апо В₁₀₀); метгемоглобин в цельной крови; В₁₂).

2. *Общеклинические исследования* (эритроциты, гемоглобин, тромбоциты, лейкоциты, лимфоциты, ретикулоциты, эозинофилы, нейтрофилы, цветной показатель).

3. *Иммунологические исследования* (IgG к нитрозоаминам, раковый антиген 199 (СА 199) и карциноэмбриональный антиген (КЭА) в сыворотке крови).

Иммунологические и биохимические показатели исследованы унифицированными методами в отделе иммунобиологических методов диагностики (зав. д-р мед. наук О.В. Долгих) и в отделе биохимических и цитогенетических методов диагностики (зав. д-р мед. наук М.А. Землянова) ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»⁸ [10–12].

Лабораторные исследования выполнены с помощью автоматического гематологического анализатора, биохимического автоматического анализатора, иммуноферментного анализатора, фотометра фотоэлектрического, цитофлуориметра проточного.

Обоснование индикаторов эффектов выполнялось по расчету критерия отношения шансов (OR),

характеризующего связь между концентрацией N-НДМА в крови и биохимическими показателями ответа. Критерием наличия связи принято условие $OR > 1$ [13].

Установление параметров зависимости показателя отношения шансов от концентрации N-НДМА в крови осуществляли методом построения регрессионной модели в виде экспоненциальной функции $OR = e^{a_0 - a_1 x}$, где OR – показатель отношения шансов; x – концентрация N-НДМА в крови, мг/дм³; a_0 , a_1 – параметры модели, определяемые методом регрессионного анализа.

Достоверность полученной модели оценивали на основе однофакторного дисперсионного анализа по критерию Фишера ($F > 3,63$). Различия результатов считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Обработку информации по результатам исследований и оценку параметров моделей осуществляли с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 и специальных программных продуктов [14].

Результаты и их обсуждение. Результаты выполненных исследований по определению количественного содержания нитратов и N-НДМА в воде территории наблюдения позволили установить превышение содержания нитратов и N-НДМА в 4,7 и в 2,5 раза соответственно по отношению к группе сравнения (табл. 1).

В процессе исследований установлено, что длительная экспозиция нитратами и N-НДМА с питьевой водой формирует повышенную (в 1,5 раза) концентрацию N-НДМА в крови детей группы наблюдения относительно данных группы сравнения ($p \leq 0,005$). Проведенные химико-аналитические исследования позволили выявить и превышение концентрации нитратов в моче детей группы наблюдения в 1,5 раза.

Повышенные концентрации N-НДМА в крови дают обоснование индикаторов негативных эффектов организма. Следующим этапом исследований в изучении причинно-следственной зависимости стал сравнительный анализ биохимических и имму-

Таблица 1

Содержание нитратов в воде и моче, N-НДМА в крови обследованных детей

Питьевая вода, мг/дм ³ ($p \leq 0,005$)			
Концентрация нитратов		Концентрация N-НДМА	
группа сравнения	группа наблюдения	группа сравнения	группа наблюдения
10,9 ± 2,7	66,9 ± 12,9	0,0065 ± 0,0013	0,016 ± 0,003
Биологические среды, мг/дм ³			
Концентрация нитратов в моче		Концентрация N-НДМА в крови	
группа сравнения (n=100)	группа наблюдения (n = 153)	группа сравнения (n = 100)	группа наблюдения (n = 153)
43,7 ± 8,74	78,3 ± 15,66	0,003 ± 0,0006	0,0045 ± 0,0009

⁸ Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДПресс-информ, 2004. – 920 с.; Ткачук В.А. Клиническая биохимия / под ред. акад. В.А. Ткачук. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 462 с.

Сравнительный анализ биохимических и иммунологических показателей ($p < 0,05$) обследованных детей

Показатель	Группа наблюдения			Группа сравнения			Межгрупповое различие по средним (p)
	$M \pm m$	частота регистрации проб с отклонением от физ. нормы, %		$M \pm m$	частота регистрации проб с отклонением от физ. нормы, %		
		выше	ниже		выше	ниже	
Гидроперекиси липидов, мкмоль/дм ³	259,8 ± 51,3	68,8	6,2	163,8 ± 39,1	0,0	73,7	0,010
В ₁₂ , пмоль/ дм ³	116,6 ± 12,4	8,3	75,7	139,0 ± 12,5	38,6	12,6	0,030
Глутатион-S-трансфераза, нг/мл	103,7 ± 22,5	0,0	85,7	170,7 ± 28,8	81,0	9,5	0,000
Глутатионпероксидаза, нг/мл	43,4 ± 3,8	50,0	25,7	40,2 ± 2,4	0,0	46,7	0,010
АСАТ, Е/дм ³	29,9 ± 1,5	50,9	35,7	27,3 ± 0,87	23,1	57,5	0,002
Щелочная фосфатаза, Е/дм ³	447,0 ± 41,4	50,0	25,0	382,5 ± 23,2	10,7	57,3	0,010
Билирубин общий, мкмоль/дм ³	11,4 ± 1,2	41,1	47,3	9,7 ± 0,7	22,4	60,8	0,005
IgG к N-НДМА, г/дм ³	0,29 ± 0,09	51,7	41,4	0,16 ± 0,03	12,1	67,3	0,010
КЭА, нг/см ³	1,2 ± 0,5	11,0	32,0	0,5 ± 0,04	0,0	30,2	0,010
СА-199, ед./мл	15,3 ± 5,2	38,9	33,3	8,2 ± 3,5	3,0	85,1	0,023

нологических показателей у детей обеих групп. Результаты представлены в табл. 2.

Известно, что об активации окислительных процессов на уровне клеточной мембраны свидетельствует повышенное содержание в плазме крови гидроперекиси липидов. Выполненные исследования показывают, что у детей группы наблюдения уровень гидроперекиси липидов в сыворотке крови ($259,8 \pm 51,3$ мкмоль/дм³) достоверно повышен в 1,6 раза относительно группы сравнения ($p = 0,01$). Частота регистрации проб с повышенным уровнем гидроперекиси липидов в группе наблюдения составила 68,8 %. В группе сравнения такие пробы отсутствовали ($p = 0,01$).

Оценка состояния антиоксидатной защиты у детей группы наблюдения выявила снижение активности глутатион-S-трансферазы (в 1,2 раза) и уровня витамина В₁₂ (в 1,7 раза) относительно данной группы сравнения ($p = 0,000-0,030$). При этом выявлено, что количество случаев регистрации пониженного уровня глутатион-S-трансферазы и витамина В₁₂ составило 75 и 85 % соответственно относительно количества проб в группе сравнения (12,6 и 9,5 %). У детей группы наблюдения выявлено увеличение уровня глутатионпероксидазы в 1,2 раза относительно группы сравнения. Частота регистрации проб с повышенной концентрацией глутатионпероксидазы в плазме крови у детей группы наблюдения составила 50 %, таковые пробы в группе сравнения отсутствовали ($p = 0,01$).

Усиление процессов свободнорадикального окисления приводит к нарушениям проницаемости и функциональных свойств клеточных мембран, в частности гепатоцитов [6]. Подтверждением этого является повышение активности АСАТ и щелочной фосфатазы в сыворотке крови детей группы наблюдения (до 1,2 раза относительно группы сравнения, $p = 0,002-0,01$). Проб с повышенной активностью данных ферментов – 51 %, что в 2,21 раза выше относительно таковых в группе сравнения (23 %) ($p = 0,002-0,01$).

При оценке состояния выделительной функции желчевыводящих путей установлено повышение (в 1,2 раза) уровня общего билирубина в сыворотке крови у детей группы наблюдения относительно аналогичного показателя в группе сравнения ($p = 0,005$).

В результате изучения показателей состояния иммунной регуляции установлено достоверное возрастание (в 1,8 раза) уровня специфического IgG к N-НДМА по отношению к данным группы сравнения ($p = 0,01$). Частота регистрации проб с повышенным уровнем IgG к N-НДМА у детей группы наблюдения составила 51 % и превысила в 4,2 раза показатель группы сравнения (12 %, $p = 0,01$).

Повышенный уровень КЭА зафиксирован в сыворотке крови у 11 % детей группы наблюдения. Установлены достоверные отклонения уровней фетальных белков от показателей группы сравнения: уровень КЭА выше показателя группы сравнения в 2,4 раза ($p = 0,01$); СА-199 – в 1,9 раза ($p = 0,023$).

Установленные причинно-следственные связи в системе «концентрация N-НДМА в крови – уровень иммунологических и биохимических показателей» позволили определить закономерности изменений в крови иммунологических и биохимических показателей, подтверждающих специфическое и неспецифическое действие токсиканта на иммунную и пищеварительную системы [15]. Модели и параметры, описывающие зависимость «концентрация N-НДМА в крови – концентрация IgG к N-НДМА в крови», представлены в табл. 3.

Оценка зависимости специфической сенсибилизации к N-НДМА по критерию IgG показала, что повышение концентрации N-НДМА в крови детей группы наблюдения приводит к повышению уровня иммуноглобулина G к N-НДМА и имеет линейную зависимость (рис. 1).

При увеличении среднегрупповой концентрации N-НДМА в крови обследуемых группы наблюдения отмечено достоверное ($p = 0,001$) повышение

Таблица 3

Параметры и критерии модели зависимости «концентрация N-НДМА в крови – концентрация IgG к N-НДМА»

Уравнение модели	Параметры модели		Критерий Фишера, F	Достоверность модели, p	Коэффициент детерминации, R^2
	b_0	b_1			
$y = 0,0094 + 10,76x$	0,00944	10,76	1202,19	0,001	0,958

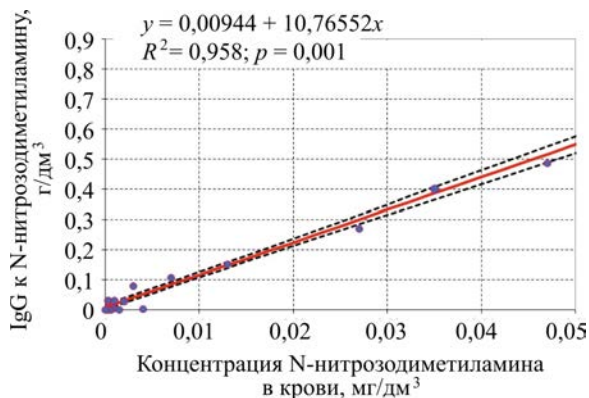


Рис. 1. Модель линейной зависимости «концентрация N-НДМА в крови – концентрация IgG к N-НДМА в крови»

концентрации IgG специфического к N-НДМА, что подтверждено полученной моделью линейной зависимости «концентрация N-НДМА в крови – концентрация IgG к N-НДМА в крови», описываемой уравнением вида $y = 0,0094 + 10,76x$ (см. табл. 3, рис 1).

Доля объясненной дисперсии отклонений концентрации IgG специфического к N-нитрозодиметиламину в крови от среднего значения связана с факторным показателем концентрацией N-НДМА и составляет 96 %.

Модели и параметры, описывающие зависимости «концентрация N-НДМА в крови – концентрация СА-199» и «концентрация N-НДМА в крови – КЭА в крови», представлены в табл. 4.

В процессе математического моделирования получены достоверные зависимости «концентрация N-НДМА в крови – концентрация СА-199, КЭА в крови», описываемые уравнениями вида: $y = 0,611 + 3,09x$ и $y = 1,072 + 34,92x$ соответственно ($p = 0,0001 - 0,0008$). Установленные линейные зависимости показывают, что увеличение среднегрупповой концентрации фетальных белков (СА-199, КЭА) в крови обследуемых детей группы наблюдения связано с содержанием N-НДМА в крови (рис. 2, 3).

Доли объясненной дисперсии отклонений концентрации СА-199, КЭА в крови от средних значе-

ний связаны с факторным показателем N-НДМА и составляют 14 и 20 % соответственно, при этом коэффициент детерминации достоверен.

На основании полученных закономерностей установлено, что при увеличении содержания N-НДМА в крови на 1 мг происходит увеличение содержания СА-199 и КЭА в среднем на 0,2 ед./мл и 0,002 ед./мл соответственно. Такая взаимосвязь может рассматриваться в качестве сигнального показателя наличия процесса пролиферации при данном уровне нагрузки нитратов и N-НДМА в питьевой воде. При увеличении концентрации нитратов и N-НДМА в питьевой воде содержание фетальных белков в крови также будет возрастать.

Индикаторы эффекта и параметры моделей зависимостей отклонений биохимических показателей в крови от концентрации N-НДМА в крови, характеризующие развитие негативных эффектов у детей, представлены в табл. 5.

Оценка показателей, характеризующих активность окислительных процессов, свидетельствует об интенсификации свободнорадикального повреждения клеточных мембран. Доказательством активизации процессов свободнорадикального окисления, связанного с содержанием N-НДМА в крови, явилась достоверная связь между повышенным уровнем гидроперекиси липидов в сыворотке крови ($R^2 = 0,73$; $F = 27,97$; $p = 0,000$).

В процессе исследований установлено, что при повышении концентрации N-НДМА в крови детей достоверно повышается ($p = 0,000$) активность внутриклеточного фермента глутатионпероксидазы ($R^2 = 0,93$; $F = 39,99$).

О напряжении антиоксидантной защиты организма в ответ на усиление свободнорадикальных процессов свидетельствуют статистически достоверные причинно-следственные связи между понижением уровня глутатиона-S-трансферазы ($R^2 = 0,49$; $F = 88,99$; $p = 0,000$) и повышением концентрации N-НДМА в крови. Повышение активности ферментов печени АСАТ и щелочной фосфатазы, возможно, связано с лизирующим воздействием высокоток-

Таблица 4

Параметры и критерии моделей зависимости «концентрация N-НДМА в крови – концентрация СА-199, КЭА в крови»

Уравнение модели	Параметры модели		Критерий Фишера, F	Достоверность модели, p	Коэффициент детерминации, R^2
	b_0	b_1			
$y = 1,072 + 34,92x$	0,611	3,090	12,170	0,0008	0,135
$y = 0,611 + 3,09x$	1,072	34,915	21,137	0,0001	0,203

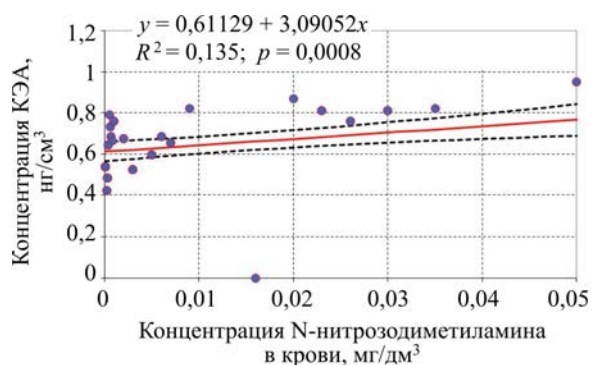


Рис. 2. Модель линейной зависимости «концентрация N-НДМА в крови – концентрация КЭА в крови»

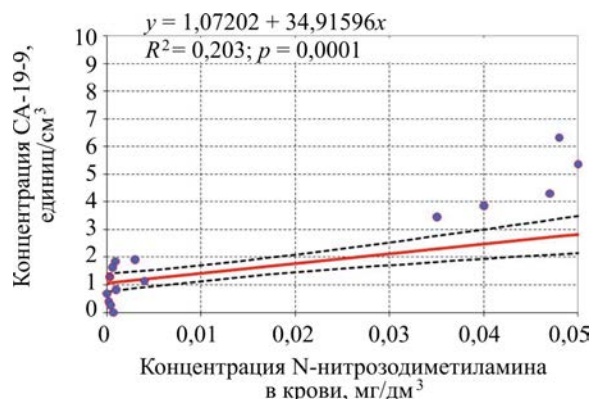


Рис. 3. Модель линейной зависимости «концентрация N-НДМА в крови – концентрация СА-199 в крови»

Таблица 5

Параметры и критерии моделей зависимости «концентрация N-НДМА в крови – биохимические показатели в крови»

Индикатор эффекта	Направление изменения показателя	Параметры модели		Критерий Фишера (F)	Достоверность (p<0,05)	Коэфф. детерминации (R²)
		a ₀	a ₁			
Гидроперекиси липидов	Повышение	-1,80	8089,90	27,96	0,000	0,73
Глутатион-S-трансфераза	Понижение	0,28	4138,70	88,99	0,000	0,49
Глутатионпероксидаза	Повышение	-1,21	7927,64	39,99	0,000	0,93
АСАТ	Повышение	-0,38	81,89	85,66	0,000	0,81
Щелочная фосфатаза	Повышение	-1,39	1610,25	28,98	0,000	0,58
Билирубин общий	Повышение	-0,15	136,649	38,433	0,000	0,84
IgG к N-НДМА	Повышение	-0,832	-24,497	85,465	0	0,95

сичного N-НДМА на мембраны гепатоцитов, что может привести к риску формирования синдрома цитолиза. Это положение подтверждается установленной статистически достоверной зависимостью повышения активности ферментов АСАТ и щелочной фосфатазы в сыворотке крови от повышенного уровня N-НДМА в крови ($R^2 = 0,58-0,81$; $28,98 \leq F \leq 85,66$; $p = 0,000$).

При оценке состояния выделительной функции желчевыводящих путей достоверно доказана зависимость повышенного уровня общего билирубина

от повышенной концентрации N-НДМА в крови ($R^2 = 0,84$; $F = 38,43$, $p = 0,000$).

Результаты исследований причинно-следственных связей по показателю отношения шансов (OR)⁹ представлены в табл. 6.

В результате исследований верифицирована связь между концентрацией N-НДМА в крови и уровнем глутатионпероксидазы ($OR = 8,92$, $DI = 3,28-4,25$). Риск повышения уровня напряжения функционального состояния системы антиоксидантной защиты организма увеличивается в 2,91 раза.

Таблица 6

Результаты исследований причинно-следственных связей между повышенным содержанием в крови N-НДМА и биохимическими показателями крови

Индикатор	Ответ на воздействие	Количество детей		OR	95 % DI	Риск (R)	Отношение рисков
		Наличие факторов риска	Отсутствие факторов риска				
Повышение активности глутатионпероксидазы	Есть	18	13	8,92	3,28–24,25	0,49	2,91
	Нет	9	58				
Повышение активности АСАТ	Есть	70	43	4,67	2,67–8,19	0,50	1,78
	Нет	30	86				
Повышение уровня билирубина общего	Есть	93	58	11,55	5,52–24,16	0,59	1,65
	Нет	10	72				
Повышение уровня IgG к N-НДМА	Есть	44	12	5,36	2,38–12,05	0,63	1,30
	Нет	26	38				

⁹ Четыркин Е.М. Статистические методы прогнозирования. – М.: Статистика, 1977. – 356 с.

Доказана связь повышенной проницаемости мембраны клеток печени (повышение активности АСАТ в сыворотке крови) и повышенного уровня в крови N-НДМА ($OR = 4,67$, DI от 2,67 до 10,97). Риск повышения уровня печеночных ферментов увеличивается в 1,78 раза соответственно.

При оценке состояния выделительно-концентрационной функции желчевыводящих путей установлена достоверная причинно-следственная связь повышенного уровня общего билирубина в сыворотке крови с повышенным содержанием N-НДМА в крови ($OR = 11,55$, DI от 5,52 до 24,16) (табл. 6). Риск снижения экскреторной функции печени увеличивается в 1,65 раза.

Доказана зависимость между концентрацией N-НДМА в крови и уровнем IgG к N-НДМА ($OR = 5,36$, DI от 2,38 до 12,05). Риск изменения показателя гуморального иммунитета увеличивается в 1,30 раза.

Выводы. Таким образом, в результате гигиенической индикации и критериальной оценки эффектов при хронической экспозиции нитратов

и N-НДМА, содержащихся в питьевой воде, доказана зависимость изменения ряда показателей биорегуляции (биохимических, иммунологических) от повышенного содержания N-НДМА в крови. На основании расчета показателя OR и установления причинно-следственных зависимостей между концентрацией N-НДМА в крови и индикаторами ответных реакций обоснованы индикаторы эффекта нитратов и N-НДМА при их поступлении с питьевой водой: повышение активности глутатионпероксидазы, АСАТ, уровня IgG к N-НДМА и уровня билирубина общего. Эти индикаторы эффекта могут быть использованы для оценки риска воздействия на здоровье человека неорганических азотсодержащих соединений, поступающих с питьевой водой, и разработки профилактических мероприятий.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Рахманин Ю.А., Стехин А.А., Яковлева Г.В. Структурно-энергетические изменения воды и ее биологическая активность // Гигиена и санитария. – 2007. – № 5. – С. 34–36.
2. Бахраков С.И., Николаев А.П. Оценка риска качества питьевой воды для здоровья населения // Санитарный врач. – 2013. – № 3. – С. 9–10.
3. Impact of nitrate intake in drinking water on the thyroid gland activity in male rat / A. Zaki, A. Ait Chaoui, A. Talibi, A.F. Derouiche, T. Aboussaouira, K. Zarrouck, A. Chait, T. Himmi // Toxicol. Lett. – 2004. – Vol. 147, № 1. – P. 27–33.
4. Evaluation of the oral toxicity of potassium nitrite in a 13-week drinking-water study in rats / H.P. Til, H.E. Falke, C.F. Kuper, M.I. Willems // Food Chem. Toxicol. – 1988. – Vol. 26, № 10. – P. 851–859.
5. Biomarkers and human biomonitoring. Children's Health and the Environment WHO Training Package for the Health Sector [Электронный ресурс] // World Health Organization. – 2011. – URL: www.who.int/ceh (дата обращения: 19.03.2018).
6. Онищенко Г.Г., Зайцева Н.В., Землянова М.А. Гигиеническая индикация последствий для здоровья при внешнесредовой экспозиции химических факторов / под ред. Г.Г. Онищенко. – Пермь: Книжный формат, 2011. – 532 с.
7. Современные аналитические технологии при определении высокотоксичных N-нитрозоаминов в крови / Т.В. Нурисламова, Т.С. Уланова, Н.А. Попова, О.А. Мальцева // Гигиена и санитария. – 2017. – Т. 96, № 1. – С. 84–89.
8. Ярошенко Д.В., Карцова Л.А. Матричный эффект и способы его устранения в биоаналитических методиках, использующих хромато-масс-спектрометрию // Журнал аналитической химии. – 2014. – Т. 69, № 4. – С. 351.
9. Применение твердофазной экстракции при исследовании производных бензодиазепина в биологических объектах на примере феназепам / Н.А. Крупина, А.В. Гущенко, Р.Н. Пашовкина, Р.Р. Краснова, Н.И. Калетина // Перспективы развития и совершенствования судебно-медицинской науки и практики: материалы VI Всероссийского съезда судебных медиков. – М.–Тюмень, 2005. – С. 175–178.
10. Гланц С. Медико-биологическая статистика / под ред. Н.Е. Бузикашвили и соавт. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
11. Диагностика сенсебилизации к формальдегиду / Н.В. Зайцева, О.В. Долгих, Т.И. Тырыкина, М.А. Землянова // Гигиена и санитария. – 2000. – № 6. – С. 44–46.
12. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при воздействии органических растворителей в производстве / Р.Ф. Камиллов, Т.В. Ханов, В.П. Кудрявцев, Д.Ф. Шакиров // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 1. – С. 9–13.
13. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. – М.: Медиа Сфера, 1998. – 352 с.
14. Oxidant and antioxidant parameters in the treatment of meningitis / A. Aycicek, A. Iscan, O. Erel, M. Akcali, A.R. Ocak // Pediatr. Neurol. – 2007. – Vol. 37, № 2. – P. 117–120.
15. The Ethical aspects of Nanomedicine, Proc. of Roundtable Debate. – Brussels: EGE, 2006. – 118 p.

Индикаторы эффекта при оценке воздействия на организм человека нитратов и N-нитрозодиметиламина при поступлении с питьевой водой / Т.В. Нурисламова, О.О. Сеницына, О.А. Мальцева // Анализ риска здоровью. – 2018. – № 3. – С. 76–84. DOI: 10.21668/health.risk/2018.3.08

INDICATORS WHICH ARE APPLIED WHEN ASSESSING EFFECTS ON A BODY EXERTED BY NITRATES AND N-Nitrosodimethylamine INTRODUCED WITH DRINKING WATER**T.V. Nurislamova^{1,3}, O.O. Sinitsyna², O.A. Mal'tseva³**¹ Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya Str., Perm, 614045, Russian Federation² All-Russian Research Institute of Railway Hygiene, Bldg. 1, 1Pakgauznoe Shosse Str., Moscow, 125438, Russian Federation³ Perm National Research Polytechnic University, 29 Komsomolskiy avenue, Perm, 614990, Russian Federation

The authors comparatively assessed N-Nitrosodimethylamine (N-NDMA) contents in blood samples taken from children who consumed drinking water with increased nitrates and N-NDMA concentrations and in blood samples taken from children who consumed drinking water which fully corresponded to the existing hygienic standards; the article dwells on the results of this comparative assessment. We detected authentic discrepancies ($p < 0.005$) in N-NDMA contents between blood samples taken from children from the focus group ($0.0045 \pm 0.0009 \text{ mg/dm}^3$) and the reference one ($0.003 \pm 0.0006 \text{ mg/dm}^3$). We revealed that free-radical oxidation mechanisms were activated in children from the focus group who were exposed to N-NDMA. Lipids hydroperoxidation content in blood serum was proved to be 1.6 times higher in children from the focus group than in those from the reference one. When N-NDMA was detected in blood of children from the focus group, they ran 1.73 times higher risks of damages to their cells membranes.

Our assessment of antioxidant protection revealed that glutathione-S-transferase became less active, B12 vitamin content went down, and glutathione peroxidase increased in children from the focus group against those from the reference group; all these parameters were 1.2–1.7 times different between the groups ($p = 0.000–0.030$). The children from the focus group also ran 2.91 times higher risks of an increase in glutathione peroxidase content.

We detected an authentic cause-and effect relation between an increase in IgG to N-NDMA and growing N-NDMA concentrations in blood ($R^2 = 0.958$, at $p = 0.001$). Risk of changes occurring in this parameter of humoral immunity was 1.3 times higher in the focus group.

The results of the experimental research allowed us to reveal an increase in fetal proteins (S-CEA and CA 199) contents detected in blood serum of children from the focus group against those from the reference one; the contents were 2.7 and 3.9 times higher correspondingly ($p = 0.010–0.023$). This increase could be a sign of ongoing processes which characterized tissue proliferation; it could also become a mechanism of uncontrolled cellular proliferation.

The performed research allowed us to substantiate and fix the following biological markers of the effects: an increase in IgG to N-NDMA and in glutathione peroxidase, ASAT activity, and total bilirubin level which can be applied in risk assessment and in giving grounds for permissible concentrations of these toxic compounds in blood.

Key words: nitrates, N-nitrosodimethylamine, drinking water, exposure indicator, indicator of an effect, odds ratio, specific sensitization.

References

1. Rakhmanin Yu.A., Stekhin A.A., Yakovleva G.V. Strukturno-energeticheskie izmeneniya vody i ee biologicheskaya aktivnost' [Structural and energy changes in water and its biological activity]. *Gigiena i sanitariya*, 2007, no. 5, pp. 34–36 (in Russian).
2. Bastrakov S.I., Nikolaev A.P. Otsenka riska kachestva pit'evoy vody dlya zdorov'ya naseleniya [Assessment of population health risks related to drinking water quality]. *Sanitarnyi vrach*, 2013, no. 3, pp. 9–10.
3. Zaki A., Ait Chaoui A., Talibi A., Derouiche A.F., Aboussaouira T., Zarrouck K., Chait A., Himmi T. Impact of nitrate intake in drinking water on the thyroid gland activity in male rat. *Toxicol Lett.*, 2004, vol. 147, no 1, pp. 27–33.

© Nurislamova T.V., Sinitsyna O.O., Mal'tseva O.A., 2018

Tatyana V. Nurislamova – Doctor of Biological Sciences, Head of Laboratory for Gas Chromatography; Professor at the Environmental Protection Department (e-mail: nurtat@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 233-10-37).

Oksana O. Sinitsyna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Advisor to the director responsible for innovative research development (e-mail: sinitsynaoo@vniijg.ru; tel.: +7 (985) 304-34-44).

OI'ga A. Mal'tseva – Chemist at Laboratory for Gas Chromatography (e-mail: malceva@fcrisk.ru; tel.: +7 (902) 648-65-22).

4. Til H.P., Falke H.E., Kuper C.F., Willems M.I. Evaluation of the oral toxicity of potassium nitrite in a 13-week drinking-water study in rats. *Food Chem Toxicol.*, 1988, vol. 26, no. 10, pp. 851–859.
5. Biomarkers and human biomonitoring. Children's Health and the Environment WHO Training Package for the Health Sector. *World Health Organization*, 2011. Available at: www.who.int/ceh (19.03.2018).
6. Onishchenko G.G., Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A. Gigienicheskaya indikatsiya posledstviy dlya zdorov'ya pri vneshnesredovoi ekspozitsii khimicheskikh faktorov [Indication and Assessment of Health Effects Caused by Environmental Chemical Exposure]. In: G.G. Onishchenko ed. Perm', Knizhnyi format Publ., 2011, 532 p. (in Russian).
7. Nurislamova T.V., Ulanova T.S., Popova N.A., Mal'tseva O.A. Sovremennye analiticheskie tekhnologii pri opredelenii vysokotoksichnykh N-nitrosoaminov v krovi [Modern analytical techniques in the determination of highly n-nitrosamines in biological fluids (blood)]. *Gigiena i sanitariya*, 2017, vol. 96, no. 1, pp. 84–89 (in Russian).
8. Yaroshenko D.V., Kartsova L.A. Matrichnyi effekt i sposoby ego ustraneniya v bioanaliticheskikh metodikakh, ispol'zuyushchikh khromato-mass-spektrometriyu [Matrix effect and methods for its elimination in bioanalytical methods using chromatography-mass spectrometry]. *Zhurnal analiticheskoi khimii*, 2014, vol. 69, no. 4, pp. 351 (in Russian).
9. Krupina N.A., Gushchenko A.V., R Pashovkina.N., Krasnova R.R., Kaletina N.I. Primenenie tverdogaznoi ekstraktsii pri issledovanii proizvodnykh benzodiazepina v biologicheskikh ob"ektakh na primere fenazepamam [Application of solid phase extraction in research performed on benzodiazepine derivatives in biological objects (on the example of phenazepam)]. *Perspektivy razvitiya i sovershenstvovaniya sudebno- meditsinskoj nauki i praktiki: Materialy VI Vserossiiskogo s"ezda sudebnykh medikov [Development prospects of forensic theory and practice: Materials collected at the 6th Russian conference of forensic pathologists]*. Moscow, Tyumen', 2005, pp. 175–178 (in Russian).
10. Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika / pod red. N.E. Buzikashvili i soavt [Medical-biological statistics]. Moscow, Praktika Publ., 1998, 459 p. (in Russian).
11. Zaitseva N.V., Dolgikh O.V., Tyrykina T.I., M.A. Zemlyanova Diagnostika sensebilizatsii k formal'degidu [Diagnostics of sensitization to formaldehyde]. *Gigiena i sanitariya*, 2000, no. 6, pp. 44–46 (in Russian).
12. Kamilov R.F., Khanov T.V., Kudryavtsev V.P., Shakirov D.F. Svobodnoradikal'noe okislenie i antioksidantnaya zashchita pri vozdeistvii organicheskikh rastvoritelei v proizvodstve [Free radical oxidation and antioxidant defense upon exposure to organic solvents during production]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2009, no. 1, pp. 9–13 (in Russian).
13. Fletcher R., Fletcher S., Vagner E. Klinicheskaya epidemiologiya. Osnovy dokazatel'noi meditsiny [Clinical epidemiology. Basics of evidence-based medicine]. Moscow, Media Sfera Publ., 1998, 352 p. (in Russian).
14. Aycicek A., Iscan A., Erel O., Akcali M., Ocak A.R. Oxidant and antioxidant parameters in the treatment of meningitis. *Pediatr. Neurol.*, 2007, vol. 37, no. 2, pp. 117–120.
15. The Ethical aspects of Nanomedicine, Proc. of Roundtable Debate. Brussels, EGE Publ., 2006, 118 p.

Nurislamova T.V., Sinitsyna O.O., Mal'tseva O.A. Indicators which are applied when assessing effects on a body exerted by nitrates and N-nitrosodimethylamine introduced with drinking water. Health Risk Analysis, 2018, no. 3, pp. 76–84. DOI: 10.21668/health.risk/2018.3.08.eng

Получена: 26.07.2018

Принята: 07.09.2018

Опубликована: 30.09.2018