

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco139655>

Иммунологический и генетический профиль детского населения нитратной геохимической провинции

О.В. Долгих, Д.Г. Дианова, О.А. Казакова

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Пермь, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Значительное загрязнение подземных вод нитратами обуславливает негативное влияние на здоровье разных групп населения.

Цель исследования. Изучить особенности иммунного статуса и генетического профиля детского населения нитратной геохимической провинции (на примере Пермского края).

Материал и методы. Обследовано 78 детей дошкольного возраста, проживающих на территориях с различным содержанием нитратов в питьевой воде из подземных источников питьевого водоснабжения. Группа сравнения — 43 ребёнка, потребляющие питьевую воду удовлетворительного качества по содержанию нитратов; группа наблюдения — 35 детей, потребляющие питьевую воду с повышенным содержанием нитратов. Выполнена оценка уровня нитратов в воде хозяйственно-питьевого назначения, идентификация в биосредах (кровь, моча) детей концентрации N-нитрозаминов, нитрат-ионов. Технологией проточной цитометрии и иммуноферментного анализа выполнена оценка показателей иммунорегуляции, методом ПЦР — полиморфизма генов.

Результаты. Установлено, что содержание нитратов в питьевой воде на территории наблюдения статистически значимо ($p < 0,05$) в 2,8 раза превышает значения, выявленные на территории сравнения. Обнаружено, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p < 0,05$) повышено в 2,3 раза содержание N-нитрозодиэтиламина в крови, в 1,6 раза нитрат-иона в моче относительно значений, выявленных у детей группы сравнения. У детей группы наблюдения выявлено статистически значимое ($p < 0,05$) снижение количества NKT, повышение уровня CD3⁺CD25⁺, CD3⁺CD95⁺-клеток, $\alpha\alpha$, IL-17, Annexin V-FITC⁺PI⁻ и Annexin V-FITC⁺PI⁺-лимфоцитов по сравнению с результатами, зафиксированными у детей группы сравнения. Выявлен полиморфизм кандидатных генов, контролирующих опухолетворение (CYP1A1 (rs1048943), MMP9 (rs17576), PPAR α (rs2016520), BRCA1 G/A (rs3950989)).

Заключение. Установлено, что у детей в условиях хронической низкоуровневой экспозиции нитратами (на уровне 1,2 ПДК) с питьевой водой из подземных источников отмечается избыточное содержание в крови N-нитрозодиэтиламина и нитрат-иона в моче, что на фоне генетического профиля генов, контролирующих опухолетворение, обуславливает особенности иммунного ответа.

Ключевые слова: нитратная геохимическая провинция; иммунный статус; генетический профиль; дети.

Как цитировать:

Долгих О.В., Дианова Д.Г., Казакова О.А. Иммунологический и генетический профиль детского населения нитратной геохимической провинции // Экология человека. 2023. Т. 30. № 8. С. 611–621. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco139655>

Рукопись получена: 27.01.2023

Рукопись одобрена: 23.11.2023

Опубликована online: 05.12.2023

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco139655>

Immunological and genetic profile of the pediatric population in the nitrate geochemical province

Oleg V. Dolgikh, Dina G. Dianova, Olga A. Kazakova

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

ABSTRACT

BACKGROUND: Contamination of groundwater with nitrates may result in substantial adverse effects on the health of various population groups.

AIM: To study the immune status and genetic profile of children residing in the nitrate geochemical province in the Perm Region.

MATERIAL AND METHODS: We conducted a study on a total of 78 preschool children residing in areas with varying levels of nitrate in the underground drinking water sources. The children were divided into two groups for comparison purposes. The first group consisted of 43 children who consumed drinking water that met the acceptable standards for nitrate content. The second group comprised 35 children who consumed drinking water with elevated levels of nitrates. To assess the impact of nitrate content on the children's health, several measurements were taken. Firstly, the level of nitrates in the household drinking water was analyzed. Additionally, the concentration of N-nitrosamines and nitrate ions in the children's urine, was determined. To evaluate the immunoregulation parameters, the technology of flow cytometry and enzyme immunoassay were employed, along with PCR to examine genetic polymorphisms.

RESULTS: A statistically significant difference ($p < 0.001$) was observed in the nitrate content of drinking water between the observation area and the comparison area, with the former showing levels 2.8 times higher. Furthermore, children in the observation group exhibited a significant increase ($p < 0.05$) of 2.3 times in N-nitrosodiethylamine content and 1.6 times in nitrate ion concentration in their urine compared to children in the comparison group. In addition, the observation group displayed a significant decrease ($p < 0.05$) in the number of NKT cells and an increase in the levels of CD3⁺CD25⁺-, CD3⁺CD95⁺-cells, bax, IL-17, Annexin V-FITC⁺PI⁻-, and Annexin V-FITC⁺PI⁺-lymphocytes, when compared to the results obtained from the comparison group. Moreover, the presence of polymorphisms in candidate genes associated with tumor formation (*CYP1A1* (rs1048943), *MMP9* (rs17576), *PPARD* (rs2016520), *BRCA1* G/A (rs3950989)) was also identified.

CONCLUSION: Our results suggest that children who are exposed to chronic low-levels of nitrates (at a concentration of 1.2 MPC) through drinking water from underground sources exhibit an excessive presence of N-nitrosodiethylamine and nitrate ions in their urine. These findings, in conjunction with the genetic profile of genes responsible for tumor formation, influences the characteristics of the immune response.

Keywords: nitrate geochemical province; immune status; genetic profile; children.

To cite this article:

Dolgikh OV, Dianova DG, Kazakova OA. Immunological and genetic profile of the pediatric population in the nitrate geochemical province. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2023;30(8):611–621. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco139655>

Received: 27.01.2023

Accepted: 23.11.2023

Published online: 05.12.2023

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия отмечается избыточное загрязнение подземных водных объектов нитратами в результате антропогенного воздействия (интенсивное использование почв для земледелия и животноводства, применение азотсодержащих удобрений и пестицидов, использование навоза в качестве органического удобрения, утечки из коммунальных сетей) и естественных природных процессов, формирующих химический состав воды (изменение уровня грунтовых вод, атмосферные осадки, внутриводоемные процессы нитрификации). Установлено, что именно с питьевой водой в организм поступает большая часть нитратов, формирующих нитратную нагрузку [1, 2]. Негативное влияние на показатели здоровья оказывают также N-нитрозамины, предшественниками которых являются нитриты и нитраты. Показано, что содержание нитратов в воде хозяйственно-питьевого назначения на уровне регламентируемого (по данным NO_3^- , 50 мг/дм³ по NO_3^-) способствует образованию N-нитрозаминов, которые даже в низкой концентрации формируют вероятность возникновения неблагоприятных последствий для здоровья [3]. При поступлении в организм через желудочно-кишечный тракт до 90% нитратов всасывается в системный кровоток [4]. Путём построения экспериментальной модели и математического моделирования подтверждена прямая зависимость между концентрацией нитратов в питьевой воде и уровнем нитрат-иона в моче, концентрацией нитратов в питьевой воде и содержанием N-нитрозаминов в крови [5, 6]. Результаты экспериментальных и клинических исследований продемонстрировали, что избыточное поступление нитратов с питьевой водой способствует развитию метгемоглобинемии, опосредует дисбаланс ферментативной системы печени и соотношение окислительно-восстановительных реакций в клетке, обуславливает нарушение функции сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта [2, 5, 7]. Постоянное потребление воды с повышенным содержанием нитратов оказывает наиболее выраженное негативное влияние на показатели здоровья детей в связи с их возрастными анатомо-физиологическими особенностями (несформированная восстанавливающая ферментная система, незрелая детоксикационная функция печени, особенности формирования и состава микробиоты и др.), при этом дошкольный возраст является критическим периодом становления иммунной системы [7]. Дети в период интенсивного роста и развития особенно восприимчивы к токсическому действию ксенобиотиков, при этом ответ организма контролируется индивидуальной генетической программой. Ряд исследователей утверждают, что N-нитрозамины обладают тератогенной, мутагенной и канцерогенной активностью [1, 2, 4, 6, 7]. Ген семейства цитохрома *CYP1A1* и родственные ему изоформы катализируют биоактивацию нитрозаминов в реакционноспособные электрофильные промежуточные

соединения, которые образуют аддукты ДНК, приводящие к канцерогенезу [8]. Матриксная металлопротеиназа 9 (желатиназа В) участвует в ремоделировании тканей, формировании многочисленных соматических заболеваний, в том числе центральной нервной системы, выполняет важную роль в ангиогенезе, метастазировании и прогрессировании рака, обладает как проапоптотической, так и антиапоптотической активностью [9, 10]. Проапоптотическая активность MMP9 обусловлена её способностью изменять состав внеклеточного матрикса. И наоборот, антиапоптотическая активность обусловлена расщеплением FAS-лиганда, активацией протеинкиназы В. Ядерный рецептор активатора пролиферации пероксисом PPAR α характеризуется способностью связываться со множеством лигандов, оказывает влияние на различные физиологические процессы в организме. Так, PPAR α , активируя сигнальные пути MAPK (mitogen-activated protein kinase, митоген-активируемая протеинкиназа), участвует в регуляции апоптоза и клеточной дифференцировке, играет важную роль в энергетическом обмене, метаболизме и клеточном воспалении [11].

На сегодняшний день накоплены обширные сведения с различной доказательной базой о высоком риске нарушения здоровья от избыточного воздействия нитратов, поступающих в организм с питьевой водой. Вместе с тем остаются нерешёнными задачи по своевременному выявлению и предупреждению нарушений здоровья у детского населения геохимической провинции с повышенным содержанием нитратов. Очевидно, на современном этапе в области медико-биологических наук требуются дополнительные сведения об особенностях иммунного ответа и генетического профиля у детей в условиях нитратной геохимической провинции, что обуславливает актуальность настоящего исследования.

Цель исследования. Изучить особенности иммунного статуса и генетического профиля детского населения нитратной геохимической провинции (на примере Пермского края).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Выполнено одномоментное (поперечное) исследование с соблюдением этических требований Хельсинкской декларации ВМА (Всемирная медицинская ассоциация). До начала исследовательской работы получено одобрение локального этического комитета федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН») Роспотребнадзора. Проведено углублённое обследование 78 детей дошкольного возраста, проживающих на территориях с различным содержанием нитратов в питьевой воде и посещающих детские дошкольные учреждения (ДДУ), расположенные на данных территориях. В группу сравнения включены 43 ребёнка (средний возраст

5,6±0,2 лет), потребляющие питьевую воду удовлетворительного качества по содержанию нитратов из подземных источников. Группу наблюдения составили 35 детей (средний возраст 5,4±0,3 лет), потребляющие питьевую воду из подземных источников питьевого водоснабжения с повышенным содержанием нитратов. Критерии включения в исследование: возраст 5–7 лет, принадлежность к группе здоровья I и II, отсутствие указаний о приёме иммунотропных препаратов за последние 6 месяцев, подписанная форма информационного согласия законных представителей детей на участие в исследовании. Критерии исключения: принадлежность к группе здоровья III и IV, участие детей в другом исследовании. Обследуемые дети группы наблюдения и группы сравнения проживали в условиях, соответствующих гигиеническим требованиям.

Исследования водопроводной воды на территории наблюдения и территории сравнения включали определение нитратов в соответствии ПНД Ф (природоохранные нормативные документы федеративные) 14.1:2:4.157-99 (с применением системы капиллярного электрофореза «Капель», Россия). В биосредах (кровь, моча) детей определяли массовые концентрации N-нитрозаминов и нитрат-ионов согласно МУК (методические указания) 4.1.3479-17, ПНД Ф 14.1:2:4.157-99 (газовый хроматограф Agilent 7890A, USA, система капиллярного электрофореза «Капель», Россия).

Технологией проточной цитометрии выполнена оценка показателей, характеризующих иммунный статус: субпопуляции лимфоцитов – CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (CD, cluster of differentiation, кластер дифференцировки; natural killer T cells, натуральные киллерные Т-клетки, NKT), CD3⁺CD25⁺, CD4⁺CD25⁺CD127⁻ (regulatory cells, регуляторные клетки, Treg), CD3⁺CD95⁺ (FAS), внутриклеточные белки — p53, bax, bcl-2, показатели апоптоза — Annexin V-FITC*PI⁻ (ранний апоптоз) (Annexin V-fluorescein isothiocyanate (FITC)/propidium iodide (PI); Аннексин V-флуоресцеин-изотиоцианат/пропидий йодид), Annexin V-FITC*PI⁺ (поздний апоптоз и/или некроз) (прибор FACSCalibur «Becton Dickinson», USA; реагенты «Becton Dickinson», USA). В качестве биоматериала использована суспензия мононуклеарных клеток периферической крови, выделенных путём центрифугирования в градиенте плотности фикол-верографин. Уровень интерлейкина-17 (IL-17) в сыворотке крови изучен методом иммуноферментного анализа (прибор Sunrise «Tecan», Austria; тест-системы «Вектор-Бест», Россия).

Полиморфизм генов кандидатов оценивался методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с оценкой аллельной дискриминации, биоматериалом являлся буккальный эпителий (прибор BioRAD CFX96, USA; реагенты ООО «Синтол», Россия). Исследованы особенности вариаций однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов: *CYP1A1* (rs1048943) (цитохром P450), *MMP9* (rs17576) (матриксная металлопротеиназа), *PPARD* (rs2016520) (рецептор D активатора пролиферации

пероксисом). Статистический анализ генов кандидатов выполнен при помощи мультипликативной, общей, доминантной и рецессивной моделей наследования, с расчётом показателей хи-квадрат (χ^2), *OR* — оценка шансов, *CI* — доверительный интервал в программе SNPstats.

Процедуры статистического анализа данных осуществляли с использованием пакета STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA). Для проверки статистических гипотез о виде распределения был применен критерий Колмогорова–Смирнова. Во всех случаях распределение признаков соответствовало закону нормального распределения. Для проверки нулевых гипотез о равенстве средних значений между двумя независимыми группами применялся *t*-критерий Стьюдента. При описании данных использовали среднее арифметическое значение, стандартную ошибку средней арифметической ($M \pm m$) и 95%-ный доверительный интервал для среднего (95% ДИ). Для установления вероятностной причинно-следственной связи «химический фактор в крови–показатель иммунного статуса» использован простой логистический регрессионный анализ. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. Если значение *p* было меньше 0,001, то *p* указывали в формате *p* < 0,001.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке качества хозяйственно-питьевого водоснабжения обнаружены превышения ПДК (предельно-допустимая концентрация) по нитратам в пробах, отобранных на территории наблюдения. Доля нестандартных проб по содержанию нитратов составила 33,3%. Максимальная концентрация нитратов в питьевой воде составила 54,1 мг/дм³ (1,2 ПДК). Установлено, что на территории наблюдения среднее содержание нитратов в питьевой воде (31,17±3,12 мг/дм³) статистически значимо (*t*=6,09, *p* < 0,001) в 2,8 раза превышает значения, выявленные на территории сравнения (11,03±1,10 мг/дм³). Установлено, что у детей с территории, характеризующейся повышенным содержанием нитратов в воде централизованной системы хозяйственно-питьевого водоснабжения, в крови статистически значимо (*p* < 0,05) в 2,3 раза повышено содержание N-нитрозодидетиламина, а в моче в 1,6 раза содержание нитрат-иона относительно значений, выявленных у детей, проживающих на территории, характеризующейся удовлетворительным качеством питьевой воды по содержанию нитратов (табл. 1). Данные химико-аналитического исследования свидетельствуют об идентификации в моче детей группы наблюдения N-нитрозодиметиламина (0,01±0,002 мкг/мл) и N-нитрозодидетиламина (0,0005±0,00013 мкг/мл), которые в норме не должны обнаруживаться.

У детей, проживающих в условиях нитратной геохимической провинции, статистически значимо (*p* < 0,05) в 1,3 раза снижено количество NKT-лимфоцитов

Таблица 1. Содержание химических соединений в биосредах у детского населения, $M \pm m$ **Table 1.** Concentrations of chemical compounds in biological fluids in the pediatric population, $M \pm m$

Контаминант Contaminant	Группа сравнения Comparison group	Группа наблюдения Observation group	t	p
Контаминант в крови, мкг/мл Blood contaminant, µg /ml				
N-нитрозодиметиламин N-nitrosodimethylamine	0,00014±0,00007	0,00018±0,00004	0,50	0,983
N-нитрозодиэтиламин N-nitrosodiethylamine	0,0008±0,0003	0,0018±0,0004	2,00	0,049
Контаминант в моче, мкг/мл Contaminant in urine, µg /ml				
Нитрат-ион Nitrate ion	16,68±2,23	26,11±4,61	2,05	0,044

Примечание: M — среднее арифметическое значение; m — стандартная ошибка средней арифметической.

Note: M — arithmetic mean; m — standard error of the arithmetic mean.

по сравнению с результатами, полученными у детей, проживающих на территории с удовлетворительным качеством питьевой воды по содержанию нитратов (табл. 2). Установлено, что у детей, потребляющих некачественную питьевую воду, статистически значимо ($p < 0,05$) в среднем в 1,3 раза повышается абсолютное число $CD3^+CD25^+$ -лимфоцитов, содержание $CD3^+CD95^+$ -лимфоцитов (по

относительной и абсолютной величинам) по сравнению со значениями, выявленными у детей, потребляющих качественную питьевую воду. Оценка показателей иммунного статуса по результатам наших исследований продемонстрировала статистически значимое ($p < 0,05$) повышение (в 6,7 раза) концентрации IL-17 и в 2 раза содержание $\alpha\alpha$ у детей группы наблюдения по отношению

Таблица 2. Сравнительный анализ изменений показателей иммунного статуса у детей нитратной геохимической провинции**Table 2.** Comparative analysis of changes in the parameters of the immune status in children from the nitrate geochemical province

Показатели Indicators	Группа сравнения Comparison group		Группа наблюдения Observation group		t	p
	$M \pm m$	95% ДИ 95% CI	$M \pm m$	95% ДИ 95% CI		
NKT, %	15,00±1,21	13,63–16,79	11,26±0,72	9,98–12,42	2,66	0,009
NKT, $10^9/\text{дм}^3$ NKT, $10^9/\text{дм}^3$	0,45±0,04	0,39–0,51	0,34±0,03	0,29–0,39	2,20	0,030
Treg, %	2,04±0,66	1,50–2,28	1,43±0,02	1,12–1,73	0,88	0,379
$CD3^+CD25^+$, %	5,89±0,35	5,43–6,35	7,08±0,63	6,05–8,11	1,62	0,105
$CD3^+CD25^+$, $10^9/\text{дм}^3$ $CD3^+CD25^+$, $10^9/\text{дм}^3$	0,17±0,01	0,15–0,18	0,20±0,01	0,18–0,23	2,12	0,039
$CD3^+CD95^+$, %	9,58±0,84	8,49–10,67	12,2±0,78	11,94–12,46	2,29	0,025
$CD3^+CD95^+$, $10^9/\text{дм}^3$ $CD3^+CD95^+$, $10^9/\text{дм}^3$	0,25±0,01	0,23–0,27	0,36±0,02	0,32–0,40	4,92	<0,001
p53, %	0,38±0,09	0,30–0,46	0,49±0,08	0,46–0,52	0,78	0,437
$\alpha\alpha$, %	5,48±0,46	4,69–6,27	10,94±3,20	8,38–13,50	2,95	0,005
IL17, $\text{пг}/\text{см}^3$ IL17, $\text{пг}/\text{см}^3$	1,52±0,14	1,46–1,58	9,85±2,68	7,94–11,76	3,10	0,002
Annexin V-FITC+PI ⁻ , %	0,28±0,07	0,19–0,37	1,20±0,12	1,02–1,38	5,89	<0,001
Annexin V-FITC+PI ⁺ , %	3,48±0,60	2,79–4,17	9,97±0,63	9,03–10,91	7,22	<0,001

Примечание: M — среднее арифметическое значение; m — стандартная ошибка средней арифметической; ДИ — доверительный интервал; NKT — натуральные киллерные Т-клетки; Treg — регуляторные клетки.

Note: M — arithmetic mean; m — standard error of the arithmetic mean; CI — confidence interval; NKT — natural killer T cells; Treg — regulatory cells.

к результатам, зафиксированным у детей группы сравнения. Среднегрупповое содержание bcl-2, идентифицированное у детей группы наблюдения (0,59 (0,41;0,76), %), не имело достоверных различий ($p > 0,05$) с результатами, зафиксированными у обследуемых группы сравнения (2,08 (0,56;3,50), %). Обнаружено, что у детей, потребляющих питьевую воду с избыточным содержанием нитратов, статистически значимо ($p < 0,001$) в 4,3 раза повышено процентное содержание Annexin V-FITC⁺PI⁻-лимфоцитов и в 2,9 Annexin V-FITC⁺PI⁺-лимфоцитов относительно аналогичных показателей у детей, потребляющих питьевую воду, соответствующую гигиеническим нормативам по содержанию нитратов. Таким образом, у детей группы наблюдения отмечается выраженная инициация FAS-зависимых и митохондриальных апоптотических событий, а также активация клеточной гибели по пути некроза.

По результатам оценки вероятностной причинно-следственной связи установлена зависимость повышения абсолютного числа CD3⁺CD25⁺-лимфоцитов ($b_0 = -2,85$; $b_1 = 899,28$; $F = 109,74$; $R^2 = 0,46$; $p < 0,001$) от содержания в крови N-нитрозодиметиламина, выявлена статистически значимая вероятность снижения содержания регуляторных клеток ($b_0 = -2,32$; $b_1 = 1515,55$; $F = 81,35$; $R^2 = 0,38$; $p < 0,001$) и уровня bcl-2 ($b_0 = 1,56$; $b_1 = 2410,7$; $F = 172,98$; $R^2 = 0,57$; $p < 0,001$) при контаминации биосред N-нитрозодиметиламинами. Установлена статистически значимая зависимость, указывающая на повышение концентрации IL-17 ($b_0 = -2,05$; $b_1 = 205,48$; $F = 385,79$; $R^2 = 0,74$; $p < 0,001$) в присутствии в крови N-нитрозодиэтиламина. Оценка вероятностных причинно-следственных связей подтверждает процессы избыточной ранней клеточной

активации, дисрегуляцию митохондриальной функции, нарушение иммунорегуляторных процессов в условиях экспозиции нитратами.

Дети, проживающие на территории нитратной геохимической провинции и употребляющие воду с избыточным содержанием нитратов, характеризуются наличием достоверного риска развития генетически опосредованных метаболомных нарушений, ассоциированных с полиморфизмом генов (табл. 3–5).

Полученные результаты и их статистическая обработка позволила выделить ключевые полиморфизмы кандидатных генов: дельта рецептора *PPARD* (rs2016520) A/G, активируемого пролифераторами пероксисом, синтезируемого в печени, способствующего ангиогенезу опухоли (типичная гомозигота, мультипликативная модель: $OR = 2,70$; 95% ДИ=1,44–5,04, $p = 0,001$); гена детоксикации первой фазы цитохрома р450 *CYP1A1* (rs1048943) (типичная гомозигота, мультипликативная модель: $OR = 3,08$; 95% ДИ=1,28–7,43, $p = 0,009$), гена матриксной металлопротеиназы *MMP9* (rs17576), генетические варианты которого связаны с коллагенопатиями, пролиферативными процессами в печени и поджелудочной железе (гетерозигота AG, общая модель: $OR = 2,14$; 95% ДИ=1,14–4,01, $p = 0,015$); транскрипционного фактора *BRCA1* G/A (rs3950989) (гетерозигота, $OR = 2,02$; 95% ДИ=0,96–4,25, $p = 0,043$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что в условиях избыточного поступления нитратов с питьевой водой формируются предпосылки

Таблица 3. Результаты генетического обследования детей, проживающих на территории нитратной геохимической провинции

Table 3. Results of the genetic examination of children living in the territory of the nitrate geochemical province

Ген Gene		<i>BRCA1</i>	<i>CYP1A1</i>	<i>PPARD</i>	<i>MMP9</i>	
rs		3950989	1048943	2016520	17576	
Гомозигота 1 Homozygote 1		G/G	A/A	A/A	A/A	
Гетерозигота Heterozygote		G/A	A/G	A/G	A/G	
Гомозигота 2 Homozygote 2		A/A	G/G	G/G	G/G	
Группа наблюдения Observation group	Гомозигота 1, % Homozygote 1, %	27,9	90,9	81,8	33,8	
	Гетерозигота, % Heterozygote, %	58,1	9,1	15,6	57,1	
	Гомозигота 2, % Homozygote 2, %	14,0	0,0	2,6	9,1	
	Аллель 1, % Allele 1, %	57,0	95,5	89,6	62,3	
Группа сравнения Comparison group	Аллель 2, % Allele 2, %	43,0	4,6	10,4	37,7	
	Гомозигота 1, % Homozygote 1, %	45,4	75,6	58,1	50,0	
	Гетерозигота, % Heterozygote, %	40,7	23,3	36,1	38,4	
	Гомозигота 2, % Homozygote 2, %	14,0	1,2	5,8	11,6	
		Аллель 1, % Allele 1, %	65,7	87,2	76,2	69,2
		Аллель 2, % Allele 2, %	34,3	12,8	23,8	30,8

Таблица 4. Мультипликативная модель наследования генов кандидатов**Table 4.** Multiplicative model of inheritance of candidate genes

Показатели Indicators	Ген Gene			
	<i>BRCA1</i>	<i>CYP1A1</i>	<i>PPARD</i>	<i>MMP9</i>
rs	3950989	1048943	2016520	17576
χ^2	1,87	6,81	10,18	1,70
<i>p</i>	0,1719	0,0090	0,0014	0,1927
<i>OR</i> Аллель 1 <i>OR</i> Allele 1	0,69	3,08	2,70	0,74
<i>CI</i> 95-	0,41	1,28	1,44	0,47
<i>CI</i> 95+	1,18	7,43	5,04	1,17
<i>OR</i> Аллель 2 <i>OR</i> Allele 2	1,45	0,32	0,37	1,36
<i>CI</i> 95-	0,85	0,13	0,20	0,86
<i>CI</i> 95+	2,46	0,78	0,69	2,15

Примечание: χ^2 — критерий хи-квадрат; *OR* — отношение шансов; *CI* — доверительный интервал.

Note: χ^2 — chi-squared test value; *OR* — odds ratio; *CI* — confidence interval.

Таблица 5. Общая модель наследования генов кандидатов**Table 5.** General model of inheritance of candidate genes

Показатели Indicators	Ген Gene			
	<i>BRCA1</i>	<i>CYP1A1</i>	<i>PPARD</i>	<i>MMP9</i>
rs	3950989	1048943	2016520	17576
χ^2	4,08	6,97	10,71	5,81
<i>p</i>	0,0434	0,0083	0,0011	0,0159
<i>OR</i> Гомозигота 1 <i>OR</i> Homozygote 1	0,47	3,23	3,24	0,51
<i>CI</i> 95-	0,21	1,29	1,58	0,27
<i>CI</i> 95+	1,03	8,10	6,66	0,96
<i>OR</i> Гетерозигота <i>OR</i> Heterozygote	2,02	0,33	0,33	2,14
<i>CI</i> 95-	0,96	0,13	0,15	1,14
<i>CI</i> 95+	4,25	0,83	0,70	4,01
<i>OR</i> Гомозигота 2 <i>OR</i> Homozygote 2	1,00	–	0,43	0,76
<i>CI</i> 95-	0,35	–	0,08	0,27
<i>CI</i> 95+	2,88	–	2,29	2,11

Примечание: χ^2 — критерий хи-квадрат; *OR* — отношение шансов; *CI* — доверительный интервал.

Note: χ^2 — chi-squared test value; *OR* — odds ratio; *CI* — confidence interval.

иммунной дисфункции, одним из проявлений которой может быть нарушение апоптоза [12, 13]. Апоптоз — это физиологический процесс, необходимый для поддержания гомеостатического баланса между пролиферацией клеток и их гибелью. Дерегуляция иммунного ответа, характеризующаяся либо ингибированием, либо активацией клеточной гибели, часто является причиной развития иммунопролиферативных заболеваний или иммунодефицитных состояний. Летальная программа клетки строго

регулируется взаимозависимыми внутриклеточными сигнальными каскадами, энергетическим потенциалом митохондрии, балансом апоптотических и антиапоптотических стимулов, особенностями микроокружения клетки и её генома.

Субпопуляции НКТ-лимфоцитов и Трег-лимфоцитов в значительной мере определяют вариабельность противоопухолевого иммунитета, а их иммунорегуляторные функции модулируются их микроокружением. НКТ-клетки

способны изменять направленность иммунного ответа за счёт возможности секретировать Th1 (Т-хелпер 1 типа), Th2, Th17 или Treg ассоциированные цитокины. Однако механизмы такого переключения, в том числе под действием химических факторов, не установлены и продолжают активно изучаться. Антигенспецифическая цитотоксичность NKT-клеток осуществляется с помощью сигналов, полученных при взаимодействии с системой FAS/FASL [14]. CD95-опосредованные сигналы приводят к активации инициаторной каспазы-8, которая участвует в запуске рецепторопосредованного (внешнего) и митохондриального (внутреннего) пути апоптоза. FAS-рецептор и каспаза-8 отвечают за формирование сигнального комплекса DISC (death inducing signalling complex, сигнальный комплекс, индуцирующий гибель), опосредующего экстернализацию фосфатидилсерина. Полученные нами результаты демонстрируют, что в ответ на апоптотические стимулы происходит повышение количества Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD95. В дальнейшем FAS-индуцированная активация каспазы-8 значительно усиливает апоптоз, что позволяет предположить, что избыток нитратов в организме повышает чувствительность клетки к рецепторопосредованному апоптозу. Гибель клеток, опосредованная рецептором смерти, является формой апоптоза, при которой активация каспазного каскада возможна без участия митохондрии. Между тем существуют доказательства взаимодействия и перекрёстного регулирования различных механизмов клеточной гибели. Так, на уровне каспазы-8 внешний и внутренний пути апоптоза могут пересекаться [15]. Не имея ферментативной активности FAS между тем способен запускать разные внутриклеточные каскады, в том числе NF-κB-путь (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, ядерный фактор κB) или MAPK-киназные механизмы регуляции клеточной гибели, вызывая некроз или апоптоз. Показана роль арилуговодородного рецептора (AhR) в активации ферментов цитохрома P450 (изоформа *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*), регуляции FAS-зависимого и p53-контролируемого апоптоза [1]. В зависимости от химической природы лиганда AhR принимает участие в активации либо Treg, либо Th17, что в ряде случаев обуславливает нарушение соотношения Treg/Th17 [16]. Т-хелперы 17-го типа являются основными продуцентами IL-17, именно через данный цитокин лимфоциты проявляют свои эффекторные функции [17, 18]. Полагают, что концентрация интерлейкина-17 в значительной мере отражает количественное содержание Th17, характеризуя дисбаланс в системе Treg/Th17 [19]. Результаты математического моделирования, представленные в данной работе, подтверждают нарушения взаимоотношения реципрокного характера регуляторных клеток и Т-хелперов 17, проявляющиеся формирующейся тенденцией снижения процентного содержания Treg и дальнейшим увеличением секреции IL-17 в условиях экспозиции нитрозамином. Согласно литературным данным, производные нитратов (N-нитрозодиметиламина)

и N-нитрозодиэтиламина) способны вызывать гиперпродукцию IL-17 и повышать экспрессию *bax*, тем самым индуцируя каскад апоптотических и некротических событий [20]. Оценка данных, полученных в настоящем исследовании, указывающих на модифицирующее воздействие нитратов на цитокиновый профиль и митохондриальную активность, в значительной степени согласуется с результатами других исследователей. Члены семейства белков *bcl-2* обладают как про-, так и антиапоптотической активностью, доказана их роль в контроле клеточной гибели. Прямое связывание *bcl-2* с белком *bax* ингибирует проапоптотический эффект последнего. Однако дисбаланс в семействе *bcl-2* повышает вероятность активации митохондриальных апоптотических событий и/или падение митохондриального потенциала, опосредуя гибель клетки по пути некроза. Согласно данным последнего десятилетия, митохондрии — это не только источник энергообеспечения клетки, но триггерный, сигнальный и регуляторный центр. Установлено, что транскрипционный фактор p53 вызывает гиперэкспрессию *bax* и угнетение активности *bcl-2*, а также повышает экспонирование рецептора FAS на клеточной мембране, таким образом, создавая условия для развития p53-независимого апоптоза [21, 22]. В настоящем исследовании не обнаружены достоверные межгрупповые различия по уровню p53 и *bcl-2*, что объясняется взаиморегулирующими связями между данными белками [23]. Однако установленная зависимость снижения уровня антиапоптотического белка от концентрации N-нитрозодиметиламина в крови свидетельствует о нарушении запрограммированной процедуры клеточной гибели в присутствии токсиканта в организме. Идентифицированное в данном исследовании у детей группы наблюдения повышение уровня маркера апоптоза *bax* на 53% относительно значений, идентифицированных у детей группы сравнения, свидетельствует об интенсификации клеточной гибели в условиях избыточного содержания нитратов в биосредах. Установлено, что в условиях экспозиции нитрозосоединениями наблюдаются нарушения энергетического обеспечения клетки, запуск апоптоза и включение альтернативного пути гибели клетки — некроза. Решающее значение для запуска и реализации каскадных нарушений апоптоза в условиях экспозиции нитратами играют индивидуальные особенности нуклеотидных замов в кандидатных генах. Наблюдаемая комбинация полиморфизмов ключевых генов формирует патологический сценарий замедления клеточной гибели: так гетерозигота AG гена матричной металлопротеиназы *MMP9* (rs17576) частично отменяет ремоделинг структур внеклеточного матрикса фермента желатиназы B, участвующей в тканевом обновлении; гетерозигота GA транскрипционного фактора *BRCA1* G/A (rs3950989), ассоциированная с опухолеобразованием; типичная гомозигота AA D-рецептора *PPARD* A/G, активируемого пролифераторами пероксисом, ассоциирована с повышенной интенсивностью обменных процессов, истощением, опухолевым ангиогенезом;

типичная гомозигота AA гена детоксикации первой фазы цитохрома р450 *CYP1A1* (rs1048943) сопряжена со слабой экспрессией фермента и неэффективностью метаболизма стабильных органических ядов, в том числе нитрозаминов. Нарушения клеточной гибели, ассоциированные с нитратным загрязнением питьевой воды и полиморфизмом кандидатных генов, могут служить причиной развития иммуноопосредованных состояний, в том числе онкопролиферативных, среди детского населения, длительно потребляющего такую воду.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что хроническая низкоуровневая экспозиция нитратами с питьевой водой формирует избыточное содержание в крови N-нитрозодиэтиламина, нитрат-иона и N-нитрозоаминов в моче, что обуславливает особенности иммунного ответа: угнетение процессов иммунорегуляции (дефицит NKT-лимфоцитов, нарушение соотношения Treg/Th17), дисбаланс в системе белков bcl-2, контролирующей митохондриальный апоптоз (гиперпродукция bax), повышение пролиферативного потенциала и высокая готовность лимфоцитов к вступлению в апоптоз, усиление передачи апоптогенного сигнала с участием мембранных рецепторов (гиперэкспрессия CD25⁺ и FAS), интенсификация клеточной гибели (увеличение содержания Annexin V-FITC⁺PI⁻-лимфоцитов и Annexin V-FITC⁺PI⁺-лимфоцитов), что на фоне полиморфизма кандидатных генов, отвечающих за детоксикацию первой фазы (метаболизм *CYP1A1* (rs1048943), пролиферацию и апоптоз (*MMP9* (rs17576); *BRCA1* (rs3950989)), дифференцировку клеток (*PPARD* (rs2016520)), повышает в 2,02–3,08 (OR) раза риск возникновения нарушений здоровья детского населения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ward M.H., Jones R.R., Brender J.D., et al. Drinking water nitrate and human health: an updated review // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018. Vol. 15, N 7. P. 1557. doi: 10.3390/ijerph15071557
2. Buller I.D., Patel D.M., Weyer P.J., et al. Ingestion of nitrate and nitrite and risk of stomach and other digestive system cancers in the Iowa women's health study // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021. Vol. 18, N 13. P. 6822. doi: 10.3390/ijerph18136822
3. Бывалец О.А., Зуборева Е.Ю. Метаболизм нитратов в организме человека // *Известия Юго-Западного государственного университета. Серия: физика и химия*. 2013. № 2. С. 82–87.
4. Garcia-Torres E., Perez-Morales R., Gonzalez-Zamora A., Calleros-Rincón E.Y. Subclinical hypothyroidism in families due to chronic consumption of nitrate-contaminated water in rural areas with intensive livestock and agricultural practices in Durango, Mexico // *Water*. 2022. Vol. 14, N 3. P. 282. doi: 10.3390/w14030282
5. van Breda S.G., Mathijs K., Sági-Kiss V., et al. Impact of high drinking water nitrate levels on the endogenous formation of

Таким образом, у детей, потребляющих питьевую воду из подземных источников питьевого водоснабжения с повышенным содержанием нитратов (1,2 ПДК), выявлены ранние признаки дисбаланса показателей иммунорегуляции, ассоциированные с контаминацией биосред нитратами и полиморфизмом кандидатных генов, что обуславливает риск формирования пролиферативных процессов на фоне дисбаланса программированной клеточной гибели и нарушенного контроллинга генов за опухолеобразованием.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. О.В. Долгих внёс существенный вклад в концепцию исследования и интерпретацию данных, окончательно утвердил присланную в редакцию рукопись; Д.Г. Дианова внесла существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретацию данных, подготовила первый вариант статьи; О.А. Казакова выполнила статистический анализ полученных результатов, внесла существенный вклад в анализ данных.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Конфликт интересов отсутствует.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. O.V. Dolgikh made a significant contribution to the concept of research and interpretation of data, approved the final version of the manuscript submitted to the editorial office; D.G. Dianova made a significant contribution to the concept and design of the study, analysis and interpretation of data, prepared the first draft of the article; O.A. Kazakova performed a statistical analysis of the results, made a significant contribution to data analysis.

Funding sources. The authors declare no external funding.

Competing interests. No conflict of interest.

- apparent N-nitroso compounds in combination with meat intake in healthy volunteers // *Environmental Health*. 2019. Vol. 18. P. 87. doi: 10.1186/s12940-019-0525-z
6. Essien E.E., Abasse K.S., Cote A., et al. Drinking-water nitrate and cancer risk: A systematic review and meta-analysis // *Archives of Environmental & Occupational Health*. 2022. Vol. 77, N 1. P. 51–67. doi: 10.1080/19338244.2020.1842313
7. Stayner L.T., Schullehner J., Semark B.D., et al. Exposure to nitrate from drinking water and the risk of childhood cancer in Denmark // *Environment International*. 2021. Vol. 155. P. 106613. doi:10.1016/j.envint.2021.106613
8. Sharma V., Singh R. A review on mechanism of nitrosamine formation, metabolism and toxicity in *In Vivo* // *International Journal of Toxicological and pharmacological research*. 2014. Vol. 6, N 4. P. 86–96.
9. St-Pierre Y., van Themsche C., Esteve P.O. Emerging Features in the Regulation of MMP-9 Gene Expression for the Development of Novel Molecular Targets and Therapeutic Strategies // *Current Drug Targets — Inflammation & Allergy*. 2003. Vol. 2, N 3. P. 206–215. doi: 10.2174/1568010033484133

10. Rybakowski J.K. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP9) – A Mediating Enzyme in Cardiovascular Disease, Cancer, and Neuropsychiatric Disorders. Hypothesis // *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*. 2009. Vol. 2009. P. 904836. doi: 10.1155/2009/904836
11. Martin-Martin N., Zabala-Letona A., Fernandez-Ruiz S., et al. PPAR δ Elicits Ligand-Independent Repression of Trefoil Factor Family to Limit Prostate Cancer Growth // *Cancer Research*. 2018. Vol. 78, N 2. P. 399–409. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0908
12. Picetti R., Deeney M., Pastorino S., et al. Nitrate and nitrite contamination in drinking water and cancer risk: A systematic review with meta-analysis // *Environmental Research*. 2022. Vol. 210. P. 112988. doi: 10.1016/j.envres.2022.112988
13. Chambers T., Douwes J., Manette A., et al. Nitrate in drinking water and cancer risk: the biological mechanism, epidemiological evidence and future research // *Australian and New Zealand Journal of Public Health*. 2022. Vol. 46, N 2. P. 105–108. doi: 10.1111/1753-6405.13222
14. Krijgsman D., Hokland M., Kuppen P.J.K. The role of natural killer t cells in cancer—a phenotypical and functional approach // *Frontiers in Immunology*. 2018. Vol. 9. P. 367. doi: 10.3389/FIMMU.2018.00367
15. Онищенко Н.А., Гоникова З.З., Никольская А.О., и др. Программируемая гибель клеток и заболевания печени // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022. Т. 24, № 1. С. 72–88. doi: 10.15825/1995-1191-2022-1-72-88
16. Cannon A.S., Nagarkatti P.S., Nagarkatti M. Targeting AhR as a novel therapeutic modality against inflammatory diseases // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, N 1. P. 288. doi: 10.3390/ijms23010288
17. Bremilla N.C., Boehncke W.-H. Revisiting the interleukin 17 family of cytokines in psoriasis: pathogenesis and potential targets for innovative therapies // *Frontiers in Immunology*. 2023. Vol. 14. P. 1186455. doi: 10.3389/fimmu.2023.1186455
18. Oliveira A., Augustin S., Benlloch S., et al. The Essential Role of IL-17 as the Pathogenetic Link between Psoriasis and Metabolic-Associated Fatty Liver Disease // *Life*. 2023. Vol. 13, N 2. P. 419. doi: 10.3390/life13020419
19. Ge Y., Huang M., Yao Y.M. Biology of Interleukin-17 and Its Pathophysiological Significance in Sepsis // *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. P. 1558. doi: 10.3389/fimmu.2020.01558
20. Fishbein A., Hammock B.D., Serhan C.N., Panigrahy D. Carcinogenesis: Failure of resolution of inflammation? // *Pharmacology & Therapeutics*. 2021. Vol. 218. P. 107670. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107670
21. Zhang L., Gao W., Keohavong P. Analysis of mutations in K-ras and p53 genes in sputum and plasma samples // *Methods in Molecular Biology*. 2020. Vol. 2102. P. 373–394. doi: 10.1007/978-1-0716-0223-2_22
22. Qian S., Wei Z., Yang W., et al. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy // *Frontiers in Oncology*. 2022. Vol. 12. P. 985363. doi: 10.3389/fonc.2022.985363
23. Yakubu O.F., Metibemu D.S., Adelani I.B. et al. *Annona senegalensis* extract demonstrates anticancer properties in N-diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in male Wistar rats // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020. Vol. 131. P. 110786. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110786

REFERENCES

1. Ward MH, Jones RR, Brender JD, et al. Drinking water nitrate and human health: an updated review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018;15(7):1557. doi: 10.3390/ijerph15071557
2. Buller ID, Patel DM, Weyer PJ, et al. Ingestion of nitrate and nitrite and risk of stomach and other digestive system cancers in the Iowa women's health study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18(13):6822. doi: 10.3390/ijerph18136822.
3. Byvalets OA, Zuboreva EYu. Metabolism of nitrates in the human body. *Izvestija Jugo-Zapadnogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: fizika i himija*. 2013;(2):82–87. (In Russ).
4. Garcia-Torres E, Perez-Morales R, Gonzalez-Zamora A, Calleros-Rincón EY. Subclinical hypothyroidism in families due to chronic consumption of nitrate-contaminated water in rural areas with intensive livestock and agricultural practices in Durango, Mexico. *Water*. 2022;14(3):282. doi: 10.3390/w14030282
5. van Breda SG, Mathijs K, Sagi-Kiss V, et al. Impact of high drinking water nitrate levels on the endogenous formation of apparent N-nitroso compounds in combination with meat intake in healthy volunteers. *Environmental Health*. 2019;18:87. doi: 10.1186/s12940-019-0525-z
6. Essien EE, Abasse KS, Cote A, et al. Drinking-water nitrate and cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Archives of Environmental & Occupational Health*. 2022; 77(1):51–67. doi: 10.1080/19338244.2020.1842313
7. Stayner LT, Schullehner J, Semark BD, et al. Exposure to nitrate from drinking water and the risk of childhood cancer in Denmark. *Environment International*. 2021;155:106613. doi:10.1016/j.envint.2021.106613
8. Sharma V, Singh R. A review on mechanism of nitrosamine formation, metabolism and toxicity in *In Vivo*. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*. 2014;6(4):86–96.
9. St-Pierre Y, van Themsche C, Esteve PO. Emerging Features in the Regulation of MMP-9 Gene Expression for the Development of Novel Molecular Targets and Therapeutic Strategies. *Current Drug Targets — Inflammation & Allergy*. 2003;2(3): 206–215. doi: 10.2174/1568010033484133
10. Rybakowski JK. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP9) – A Mediating Enzyme in Cardiovascular Disease, Cancer, and Neuropsychiatric Disorders. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*. 2009;2009:904836. doi: 10.1155/2009/904836
11. Martin-Martin N, Zabala-Letona A, Fernandez-Ruiz S, et al. PPAR δ Elicits Ligand-Independent Repression of Trefoil Factor Family to Limit Prostate Cancer Growth. *Cancer Research*. 2018;78(2):399–409. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0908
12. Picetti R, Deeney M, Pastorino S, et al. Nitrate and nitrite contamination in drinking water and cancer risk: A systematic review with meta-analysis. *Environmental Research*. 2022;210:112988. doi: 10.1016/j.envres.2022.112988
13. Chambers T, Douwes J, Manette A, et al. Nitrate in drinking water and cancer risk: the biological mechanism, epidemiological

- evidence and future research. *Australian and New Zealand Journal of Public Health*. 2022;46(2):105–108. doi: 10.1111/1753-6405.13222
14. Krijgsman D, Hokland M, Kuppen PJK. The role of natural killer T cells in cancer — a phenotypical and functional approach. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:367. doi: 10.3389/FIMMU.2018.00367
15. Onishchenko NA, Gonikova ZZ, Nikolskaya AO, et al. Programmed cell death and liver diseases. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2022;24(1):72–88. (In Russ). doi: 10.15825/1995-1191-2022-1-72-88
16. Cannon AS, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. Targeting AhR as a novel therapeutic modality against inflammatory diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(1):288. doi: 10.3390/ijms23010288
17. Brembilla NC, Boehncke WH. Revisiting the interleukin 17 family of cytokines in psoriasis: pathogenesis and potential targets for innovative therapies. *Frontiers in Immunology*. 2023;14: 1186455. doi: 10.3389/fimmu.2023.1186455
18. Oliveira A, Augustin S, Benlloch S, et al. The Essential Role of IL-17 as the Pathogenetic Link between Psoriasis and Metabolic-Associated Fatty Liver Disease. *Life*. 2023;13(2):419. doi: 10.3390/life13020419
19. Ge Y, Huang M, Yao YM. Biology of Interleukin-17 and Its Pathophysiological Significance in Sepsis. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:1558. doi: 10.3389/fimmu.2020.01558
20. Fishbein A, Hammock BD, Serhan CN, Panigrahy D. Carcinogenesis: Failure of resolution of inflammation? *Pharmacology & Therapeutics*. 2021;218:107670. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107670
21. Zhang L, Gao W, Keohavong P. Analysis of mutations in K-ras and p53 genes in sputum and plasma samples. *Methods in Molecular Biology*. 2020;2102:373–394. doi: 10.1007/978-1-0716-0223-2_22
22. Qian S, Wei Z, Yang W, et al. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:985363. doi: 10.3389/fonc.2022.985363
23. Yakubu OF, Metibemu DS, Adelani IB, et al. Annona senegalensis extract demonstrates anticancer properties in N-diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in male Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;131:110786. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110786

ОБ АВТОРАХ

* **Долгих Олег Владимирович**, д-р мед. наук;
адрес: Российская Федерация, 614045, Пермь,
ул. Монастырская, д. 82;
ORCID: 0000-0003-4860-3145;
eLibrary SPIN: 8288-7995;
e-mail: oleg@fcrisk.ru

Дианова Дина Гумеровна, д-р мед. наук;
ORCID: 0000-0002-0170-1824;
eLibrary SPIN: 6494-1717;
e-mail: dianovadina@rambler.ru

Казакова Ольга Алексеевна;
ORCID: 0000-0002-0114-3930;
eLibrary SPIN: 5949-9235;
e-mail: chakina2011@yandex.ru

AUTHORS INFO

* **Oleg V. Dolgikh**, MD, Dr. Sci (Med.);
address: 82 Monastyrskaya st., 614045, Perm,
Russian Federation;
ORCID: 0000-0003-4860-3145;
eLibrary SPIN: 8288-7995;
e-mail: oleg@fcrisk.ru

Dina G. Dianova, MD, Dr. Sci (Med.);
ORCID: 0000-0002-0170-1824;
eLibrary SPIN: 6494-1717;
e-mail: dianovadina@rambler.ru

Olga A. Kazakova;
ORCID: 0000-0002-0114-3930;
eLibrary SPIN: 5949-9235;
e-mail: chakina2011@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author