

На правах рукописи



ХОТУЛЕВА Анастасия Григорьевна

**БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ
НОЗОЛОГИЧЕСКОЙ СИНТРОПИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА**

14.02.04 - медицина труда

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Кузьмина Людмила Павловна

Официальные оппоненты: **Рушкевич Оксана Петровна**
доктор медицинских наук, профессор /
Институт общей и профессиональной
патологии ФБУН «Федеральный научный
центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана»
Роспотребнадзора, главный научный сотрудник

Гришина Татьяна Васильевна
доктор медицинских наук, профессор /
ФГБОУ ВО «Московский государственный
медико-стоматологический университет имени
А.И. Евдокимова» Минздрава России, кафедра
клинической аллергологии и иммунологии,
заведующая учебной частью

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Новосибирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 25 декабря 2017 г. в 14:00 на заседании диссертационного совета Д 001.012.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова» по адресу: 105275, г. Москва, пр. Буденного, д. 31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФГБНУ «НИИ МТ» - www.niimt.ru

Автореферат разослан «___» _____ 201_ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор

Рубцова Нина Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. В настоящее время патология человека характеризуется преобладанием хронических заболеваний, генез которых имеет преимущественно мультифакториальный характер, а также коморбидностью, или сочетанием у одного человека нескольких патологий (Fortin M. et al., 2007; Valderas J.M. et al., 2009; Беялов Ф.И., 2011).

Распространенность коморбидных патологий среди пациентов в среднем составляет 78,6% (Верткин А.Л., 2013). Коморбидность утяжеляет состояние больного, ухудшает прогноз, приводит к полипрагмазии, увеличивает сроки госпитализации и расходы на лечение, способствует инвалидизации, препятствует проведению реабилитационных мероприятий (Boyd С.М., 2005; Беялов Ф.И., 2011; Урясьев О.М., 2013).

Одним из видов коморбидности является синтропия, или закономерно частое сочетание определенных болезней, связанных общими патогенетическими механизмами (Наумова Л.А., 2016). Нозологическая синтропия является важным вопросом научной и практической медицины, поскольку изучение проявлений сочетанной патологии может способствовать раскрытию механизмов формирования болезней и разработке патогенетически обоснованной терапии. Проблема коморбидности особенно актуальна по отношению к таким широко распространенным и социально значимым заболеваниям и состояниям, как бронхиальная астма (БА) и метаболический синдром (МС).

В настоящее время человечество находится под постоянным воздействием неблагоприятных природных и антропогенных факторов окружающей и производственной среды, что обуславливает рост аллергопатологии (Дрожжев Н.Е. и др., 2002). БА занимает одно из ведущих мест в ее структуре и представляет собой серьезную проблему здравоохранения во всем мире. Распространенность БА варьирует в различных популяциях от 5 до 18% (GINA, 2016). По данным ВОЗ от БА страдают около 300 млн человек.

Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что около 15% случаев БА обусловлены воздействием факторов производственной среды (Balme J. et al., 2003; Измеров Н.Ф., Чучалин А.Г. и др., 2015). От 8 до 21% лиц, занятых в различных видах производств, заболевают БА, связанной с экспозицией аллергенов, раздражающих и токсичных веществ на рабочем месте (Tarlo S.M. et al., 2008; Dykewicz M.S., 2009).

Профессиональная бронхиальная астма (ПБА) является актуальной проблемой здравоохранения, так как сопровождается значительной морбидностью, стойкой утратой трудоспособности и неблагоприятными социально-экономическими последствиями (Vandenplas O. et al., 2003; Измеров Н.Ф., Чучалин А.Г. и др., 2015), в связи с чем важна оптимизация профилактических мероприятий, позволяющих сохранить трудоспособность работников и предотвратить финансовые потери.

Высокие социально-экономические последствия имеет и проблема МС, который в настоящее время рассматривается как междисциплинарная медицинская проблема и признан экспертами ВОЗ пандемией XXI века (Беленков Ю.Н. и др., 2008). Выделение метаболического синдрома в отдельную патологию имеет большое клиническое значение, поскольку, с одной стороны, это состояние является обратимым (Панфилов Ю.А., 2008), с другой – наличие МС выступает в качестве основной причины высокого кардиометаболического риска (Гороховская Г.Н. и др., 2008).

Нозологическая синтропия ПБА и МС является одной из актуальных проблем здравоохранения из-за высокого уровня инвалидизации, летальности и бюджетной нагрузки. БА и МС связаны целым рядом патогенетических механизмов, которые приводят к формированию феномена взаимоотношения, ограничивающего достижение контролируемого течения бронхиальной астмы с одной стороны, и повышающего риск развития сахарного диабета, заболеваний сердечно-сосудистой системы с другой стороны (Чернявская Г.М., 2003; Яковлева О.Я. и др., 2008). Показано, что ожирение может модифицировать формирование иммунного ответа на воздействие производственных аллергенов

(Warwick G. Et al., 2013), в связи с чем его можно рассматривать как фактор риска развития ПБА. В то же время при прогрессировании БА в рамках системного воспаления нарастают проявления МС (Василькова Т. и др., 2008).

Наличие коморбидной патологии при БА значительно изменяет течение основного заболевания, характер и тяжесть осложнений, ухудшает качество жизни больного, ограничивает или затрудняет лечебно-диагностический процесс (Урясьев О.М., 2013). При синтропии БА и МС отмечается недостаточный ответ на медикаментозную терапию, что требует повышения дозы и кратности приема препаратов и препятствует ожидаемому снижению тяжести заболевания в процессе лечения (Saint-Pierre P. Et al., 2006).

В связи с формированием нозологической синтропии ПБА и МС, являющейся не просто суммой патологий, а особым патологическим процессом, представляется актуальным изучение молекулярных особенностей данной коморбидности с целью уточнения патогенетических механизмов, повышения эффективности ранней диагностики, научно обоснованной профилактики и терапии сочетания патологий. Определение факторов риска развития нозологической синтропии ПБА и МС на генетическом уровне позволит учитывать индивидуальные особенности организма при проведении лечебно-профилактических мероприятий и подойти к основам персонифицированной медицины.

Цель работы: поиск информативных биохимических и молекулярно-генетических маркеров для оценки риска развития и прогноза течения нозологической синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома для оптимизации лечебно-профилактических мероприятий.

Задачи:

1. Определить частоту встречаемости метаболического синдрома и его компонентов у больных профессиональной бронхиальной астмой.
2. Изучить клинико-лабораторные особенности метаболического синдрома у больных профессиональной бронхиальной астмой в зависимости от

специфики воздействующих производственных факторов, вызывающих профессиональную бронхиальную астму.

3. Изучить влияние метаболического синдрома и отдельных его компонентов на тяжесть клинического течения профессиональной бронхиальной астмы и на биохимические и иммунологические показатели, характеризующие активность системного воспаления и состояние гуморального иммунитета.

4. Изучить особенности адипокинового статуса у больных ПБА и оценить роль адипокинов в развитии нозологической синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома.

5. Оценить роль полиморфизмов генов цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- α), белков, участвующих в развитии воспалительного процесса (СРБ, рецептор лептина, АПФ) и β 2-адренергического рецептора в патогенезе нозологической синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома и проанализировать их взаимосвязь с тяжестью клинического течения астмы и с клинико-лабораторными показателями.

6. Определить наиболее информативные биохимические и молекулярно-генетические маркеры для оценки риска развития и прогноза клинического течения синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома.

Научная новизна. Впервые у больных ПБА проведено комплексное исследование метаболических нарушений, маркеров системного воспаления, адипокинов, показателей гуморального иммунитета и полиморфизмов генов, характеризующих воспалительные и иммунные реакции (интерлейкины-4, 6, 10, ФНО- α , рецептор лептина, СРБ), и генов, характеризующих активность ренин-ангиотензин-альдостероновой (ангиотензинпревращающий фермент) и симпатической нервной систем (β 2-адренергические рецепторы).

Показана взаимосвязь компонентов изученных систем и их роль в патогенетических механизмах развития нозологической синтропии ПБА и МС. Определены особенности изменения биохимических и иммунологических

показателей, характеризующих активность системного воспаления, адипокиновый статус и состояние гуморального иммунитета, при развитии нозологической синтропии ПБА и МС.

Выявлены информативные биохимические и молекулярно-генетические маркеры индивидуального риска развития и прогноза течения синтропии ПБА и МС, которые могут быть использованы в системе лечебно-профилактических мероприятий.

Практическая значимость. Выявленный комплекс биохимических маркеров (СРБ, фибриноген, гаптоглобин, мочевая кислота, лептин) может использоваться для прогноза развития метаболических нарушений при ПБА и прогноза тяжести течения ПБА при динамическом наблюдении. Выявленный комплекс молекулярно-генетических маркеров (полиморфизмы генов интерлейкинов-4, 6, СРБ, рецептора лептина, ангиотензинпревращающего фермента, β 2-адренергических рецепторов) может использоваться для оценки индивидуального риска развития нозологической синтропии ПБА и МС у работающих на аллергоопасных производствах и для прогноза клинического течения ПБА и оценки риска присоединения метаболических нарушений.

Использование предложенных маркеров позволит оптимизировать профилактику развития синтропии ПБА и МС как у работающих в контакте с веществами сенсibiliзирующего и раздражающего действия, так и у лиц с уже диагностированной ПБА. Определение факторов риска развития нозологической синтропии ПБА и МС на генетическом уровне позволит учитывать индивидуальные особенности организма при проведении лечебно-профилактических мероприятий и подойти к основам персонафицированной медицины.

Диссертационная работа выполнена в рамках тем научно-исследовательских работ ФГБНУ «НИИ МТ» № 0527-2014-0014 «Изучение патогенетических механизмов формирования производственно-обусловленной патологии с использованием инновационных технологий у работников, занятых в различных видах экономической деятельности», № 0527-2016-0005

«Разработка клинико-лабораторных (молекулярно-генетических, биохимических, иммунологических, гематологических) критериев для выявления ранних признаков, оценки риска развития и прогноза профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний».

Основные формы внедрений:

- Патент РФ на изобретение № 2600442 «Способ определения риска развития артериальной гипертензии» от 13.11.2015 г.
- Заявка на патент на изобретение в Евразийское патентное ведомство «Способ прогнозирования риска развития и тяжести течения синтропии бронхиальной астмы и метаболического синдрома» (приоритет от 14.08.2017г.).
- На основании результатов диссертационной работы разработано 9 медицинских технологий, утвержденных Ученым советом ФГБНУ «НИИ МТ» в 2015-2016 гг., и на их основе подготовлено 5 методических рекомендаций, утвержденных Пленумом Научного совета по медико-экологическим проблемам здоровья работающих: «Оценка риска развития нозологической синтропии ПБА и МС молекулярно-генетическими методами», «Лабораторные показатели системного воспаления у больных ПБА в сочетании с МС для прогнозирования тяжести клинического течения астмы», «Определение уровня адипокинов у больных ПБА для оценки тяжести клинического течения и персонализированного подбора терапии», «Способ диагностики риска развития инсулинорезистентности у больных ПБА с использованием молекулярных технологий», «Биомаркеры повышенного риска развития сахарного диабета 2 типа у больных ПБА», «Гиперурикемия как показатель метаболических нарушений у больных ПБА», «Полиморфизм гена β 2-адренорецепторов как маркер предрасположенности к развитию профессиональных заболеваний органов дыхания», «Молекулярно-генетические маркеры для прогнозирования нарушений липидного обмена у больных ПБА», «Адипокины как маркеры метаболических нарушений у больных ПБА». Технологии внедрены в ФГБНУ «НИИ МТ» и в ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России.

Основные результаты исследований включены в курс лекций и практических занятий на кафедре медицины труда ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту:

1. Профессиональная бронхиальная астма и метаболический синдром связаны целым рядом патогенетических механизмов, среди которых развитие системного воспалительного процесса, изменение адипокинового статуса, активизация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и нарушение функции β 2-адренергических рецепторов, что обуславливает развитие нозологической синтропии ПБА и МС и необходимость разработки комплексной профилактики данного сочетания.

2. Нозологическая синтропия профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома, в состав которого входят абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, нарушения липидного и углеводного обменов, сопровождается более тяжелым течением астмы, более высоким уровнем системного воспаления и более выраженными изменениями гуморального иммунитета.

3. Сформирован комплекс биохимических (С-реактивный белок, фибриноген, гаптоглобин, мочевиная кислота, лептин) и молекулярно-генетических (полиморфизмы генов интерлейкинов-4, 6, С-реактивного белка, рецептора лептина, ангиотензинпревращающего фермента, β 2-адренергических рецепторов) маркеров, позволяющий выявлять группы высокого риска развития и тяжелого течения нозологической синтропии ПБА и МС и оптимизировать лечебно-профилактические мероприятия с учетом индивидуальных особенностей организма.

Апробация работы. Материалы исследований, отражающие основные результаты и положения диссертационной работы, докладывались и обсуждались на XXI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство», г. Москва, 7 – 11 апреля 2014 г.; на Всероссийской научно-практической конференции «Здоровье работающих: демографические,

медицинские и социальные аспекты», г. Новосибирск, 9-11 июня 2014 г.; на заседании Ученого совета ФГБНУ «НИИ МТ», г. Москва, 18 мая 2015 г.; на XIII Всероссийском Конгрессе с международным участием «Профессия и здоровье», г. Иркутск – г. Новосибирск, 17-26 сентября 2015 г. (диплом за III место в конкурсе научных работ молодых ученых и специалистов); на симпозиуме «Легкие и профессии» XXV Национального Конгресса по болезням органов дыхания, г. Москва, 13-16 октября 2015 г.; на 1-ом Международном Молодежном Форуме «Профессия и здоровье», г. Москва, 31 мая – 3 июня 2016 г.; на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Совершенствование профпатологической помощи в современных условиях», г. Шахты, 14-16 сентября 2016 г.

Апробация работы проведена на заседании специалистов клинического отдела профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний ФГБНУ «НИИ МТ» 29 сентября 2016 г.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 17 работ, 7 из них – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 194 страницах машинописного текста, иллюстрирована 45 таблицами и 34 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных наблюдений, обсуждения результатов, выводов и списка сокращений. Библиографический список содержит 338 источников, из них 91 отечественный и 247 зарубежных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На базе клиники ФГБНУ «НИИ МТ» было проведено общее клиническое обследование 155 человек (109 женщин и 46 мужчин) в возрасте $56,7 \pm 8,8$ лет (от 32 до 69 лет) с диагнозом «ПБА», который устанавливался на основании профессионального маршрута, санитарно-гигиенических характеристик

условий труда, данных анамнеза, клинико-функционального обследования и результатов аллергологических и иммунологических исследований.

На основании результатов осмотра терапевта, антропометрических исследований (окружность талии, индекс массы тела) и исследования показателей липидного и углеводного обменов у больных ПБА диагностировали наличие или отсутствие МС согласно критериям Международной федерации диабета (IDF, 2005 г.). При этом больные ПБА с МС были разделены на 3 подгруппы в зависимости от клинической формы МС, также выделены группы в зависимости от степени тяжести ПБА и применения системных глюкокортикостероидов (ГКС) для терапии ПБА (таблица 1).

Таблица 1 – Типы деления пациентов с ПБА на группы

Больные ПБА (n=155)			
1. По наличию и форме МС			
ПБА без МС (n=64)	ПБА с МС (n=91)		
	ПБА с МС (АО+АГ+ДЛП) (n=25)	ПБА с МС (АО+АГ+НУО) (n=29)	ПБА с МС (АО+АГ+ДЛП+НУО) (n=37)
2. По специфике вредных производственных факторов, вызывающих ПБА			
Биологический фактор (n=34)	Металлы-аллергены (n=45)	Химический фактор (n=38)	Комплекс факторов (n=38)
3. По степени тяжести ПБА			
ПБА легкой степени (n=14)	ПБА средней тяжести (n=101)	ПБА тяжелой степени (n=40)	
4. По типу терапии			
Без СГКС (n=111)		СГКС (n=44)	

Примечание: АО – абдоминальное ожирение, АГ – артериальная гипертензия, ДЛП – дислипидемия, НУО – нарушения углеводного обмена, СГКС – системные глюкокортикостероиды

Обследованные больные ПБА представлены различными профессиональными группами, 75,4% обследованных имели стаж работы в контакте с вредными производственными факторами 15 и более лет. Выделены 4 группы в зависимости от специфики вредного производственного фактора, вызывающего ПБА: 1 - контактировавшие с высокомолекулярными аллергенами биологического происхождения (работающие в легкой, пищевой промышленности, в животноводстве, сельском хозяйстве) и контактировавшие с низкомолекулярными аллергенами и веществами раздражающего действия, среди них: 2 - контактировавшие с металлами-аллергенами (сварщики и работники металлургической промышленности), 3 - с низкомолекулярными

химическими аллергенами (медицинские и фармацевтические работники, работники электротехнической промышленности и работники других профессий, имевшие контакт с формальдегидом, фенолом, хлорсодержащими веществами и др.) и 4 - с комплексом веществ сенсibilизирующего, раздражающего, цитотоксического и фиброгенного действия (цементная пыль, металлы-аллергены, краски, органические растворители) - работники строительных профессий (таблица 1).

Для сопоставления результатов лабораторных исследований были дополнительно выделены группы сравнения: лица с МС без бронхолегочной патологии – 30 человек, практически здоровые лица (контрольная группа) – 30 человек.

Все исследования проведены с информированного согласия пациентов, работа выполнена с соблюдением этических стандартов Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964-2013 гг.). Проведение исследования одобрено заключением локального комитета по этике ФГБНУ «НИИ МТ» (протокол заседания этического комитета № 4 от 25.12.2013 г.).

Лабораторные исследования включали исследование состояния углеводного (глюкоза, инсулин, расчет индекса инсулинорезистентности НОМА-IR), липидного (общий холестерин, триглицериды, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП) и пуринового (мочевая кислота) обменов, нарушения которых являются компонентами МС, исследование воспалительных маркеров (С-реактивный белок, фибриноген, гаптоглобин, количество лейкоцитов, СОЭ) и адипокинов (лептин, адипонектин) для оценки активности системного воспаления, в том числе связанного с жировой тканью, и исследование показателей гуморального иммунитета (общий IgE, циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК)) для оценки ассоциации изменения этих маркеров с компонентами МС. С целью выявления факторов индивидуального риска развития и тяжелого течения синдрома ПБА и МС с помощью метода ПЦР проведено исследование полиморфизмов генов с плеiotропными эффектами, которые могут определять генетическую предрасположенность как к развитию ПБА, так и МС (таблица 2).

Таблица 2 – Проведенные молекулярно-генетические исследования

Ген	Полиморфизм	Влияние на ПБА	Влияние на МС
Интерлейкин 4 (ИЛ-4)	C589T	Регуляция иммунного и воспалительного ответа	Регуляция иммунного и воспалительного ответа
Интерлейкин 6 (ИЛ-6)	C174G		
Интерлейкин 10 (ИЛ-10)	G1082A		
Фактор некроза опухоли альфа (TNF- α)	G308A		
C-реактивный белок (СРБ)	C3872T	Регуляция воспалительного процесса	Регуляция воспалительного процесса
Рецептор лептина (LEPR)	Gln223Arg	Провоспалительное действие	Ожирение, гиперинсулинемия
Ангиотензинпревращающий фермент (АСЕ)	I/D Alu-фрагмента	Гиперреактивность бронхов, провоспалительное действие	Вазоконстрикция, задержка жидкости
β 2-адренергический рецептор (ADRB2)	Gly16Arg Gln27Glu	Контроль тонуса дыхательных путей	Влияние на обмен веществ

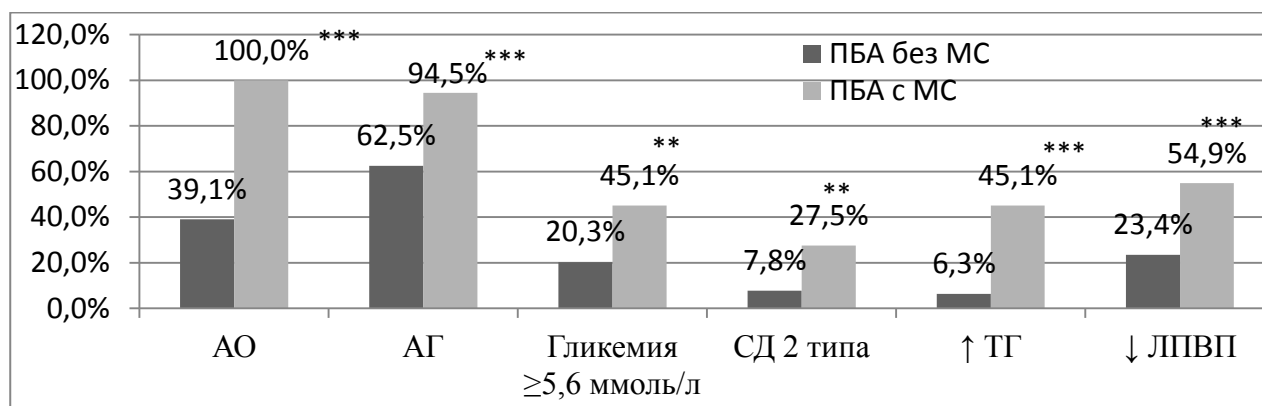
Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы STATISTICA 13.2. Результаты количественных данных при нормальном распределении показателя представлены в виде «среднее \pm стандартное отклонение», при распределении, отличном от нормального, – в виде «Медиана (25% процентиль; 75% процентиль)». Применялись параметрические (t-критерий, однофакторный дисперсионный анализ, коэффициент корреляции Пирсона) и непараметрические (критерии Манна-Уитни, Крускалла-Уоллиса, коэффициент корреляции Спирмена) методы статистической обработки. Анализ различий между группами по качественным признакам проводился с использованием критерия хи-квадрат, связь между фактором риска и исходом оценивалась по показателю отношения шансов (OR), рассчитанному с 95% доверительным интервалом (CI).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты клинико-лабораторных исследований

При анализе отдельных составляющих МС у обследованных больных ПБА показано, что все компоненты встречаются достоверно чаще у больных ПБА с МС (рисунок 1). При сравнении показателей липидного обмена у больных ПБА различных возрастных групп и в зависимости от длительности течения ПБА достоверных различий не выявлено, что может свидетельствовать о формировании нарушений липидного обмена до или одновременно с

развитием ПБА. Частота встречаемости нарушений углеводного обмена увеличивается с возрастом, вероятность развития СД 2 типа в 4,7 раза выше (OR=4,746, 95% CI=2,052-10,977) при применении СГКС для лечения ПБА.



Примечание: АО – абдоминальное ожирение, АГ – артериальная гипертензия, ТГ – триглицериды, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ по сравнению с группой ПБА без МС

Рисунок 1 - Частота встречаемости компонентов МС у больных ПБА

При сравнении тяжести клинического течения ПБА в зависимости от наличия МС показано, что при синтропии ПБА и МС тяжелое течение ПБА диагностируется в 2,25 раза чаще (OR=2,254, 95% CI=1,028-4,941) (рисунок 2), осложнения в виде дыхательной недостаточности 2-3 степени встречается в 2,6 раза чаще (OR=2,640, 95% CI=1,348-5,171) по сравнению с больными ПБА без МС. При этом наиболее низкие значения показателя ОФВ1, характеризующего функцию внешнего дыхания, выявлены у больных ПБА с МС, в состав которого входят нарушения углеводного обмена.

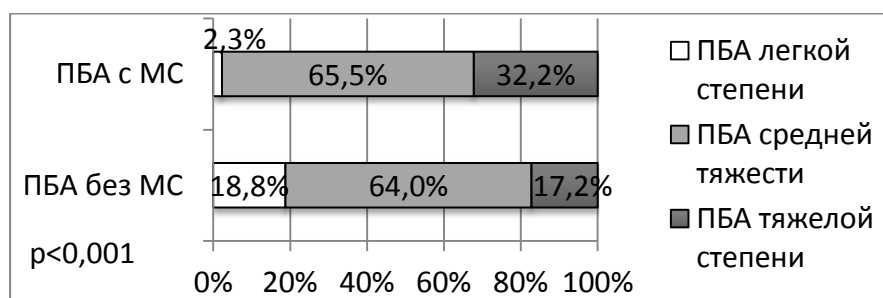


Рисунок 2 - Тяжесть течения ПБА в зависимости от наличия МС

При сравнении распространенности МС при ПБА в зависимости от специфики вредных производственных факторов показано, что МС диагностирован достоверно ($p < 0,01$) чаще (в 81,6%) в группе больных ПБА строительных профессий, тогда как наиболее редко (в 42,1%) – у

контактировавших с низкомолекулярными химическими аллергенами. Это может свидетельствовать о влиянии вредных производственных факторов строительной отрасли на развитие МС.

При сравнении белков острой фазы воспаления (СРБ, фибриноген, гаптоглобин) у обследованных групп (таблица 3) показано, что системный воспалительный процесс имеется как при ПБА, так и при МС и наиболее выражен при синтропии ПБА и МС, что отражает изменение уровня СРБ – наиболее чувствительного маркера воспаления.

Таблица 3 - Уровни маркеров воспаления в обследованных группах

Показатель	ПБА без МС	ПБА с МС	МС	Контроль
	1	2	3	4
С-реактивный белок, мг/л	3,5 # * (2,1; 6,8)	6,6 * & (2,6; 11,3)	4,3 (3,1; 6,4)	1,9 & (0,9; 3,2)
Фибриноген, г/л	3,11±0,54 *	3,23±0,55 *	3,21±0,31 *	2,67±0,23
Гаптоглобин, г/л	1,14±0,47 #	1,44±0,46 *	1,32±0,37	1,12±0,2
Мочевая кислота, мкмоль/л	219,9±71,6 # ^	265,5±78,3 ^	322,2±105,5 *	248,4±72,3
Лептин, нг/мл	15,3 # (8,4; 35,2)	52,4 ^ * (22,8; 111,2)	34,6 * (22,4; 45,1)	15,4 (7,4; 19,6)
Адипонектин, мкг/мл	15,5±5,9 # ^ *	11,9±4,2 ^	7,0±4,2 *	10,1±4,2

Примечание: # - достоверные различия с группой 2; ^ - достоверные различия с группой 3; * - достоверные различия с группой 4; & - $p < 0,1$ по сравнению с группой 3

У обследованных больных ПБА только в 6% случаев уровень мочевой кислоты (МК) превышал референтные значения, более низкие уровни МК в группе «ПБА с МС» по сравнению с группой «МС» (таблица 3) можно объяснить применением при ПБА ГКС. Уровень МК коррелирует с воспалительными маркерами (с СРБ $r=0,205$, $p < 0,05$), что подтверждает данные о том, что уровень урикемии отражает активность системного воспалительного процесса.

Показано, что у лиц с ПБА без МС степень тяжести ПБА наиболее информативно отражают уровни СРБ и гаптоглобина, при сочетании ПБА с МС наиболее информативными показателями являются мочевая кислота и фибриноген (таблица 4), в связи с чем оценка маркеров системного воспаления у больных ПБА должна проводиться с учетом метаболических нарушений.

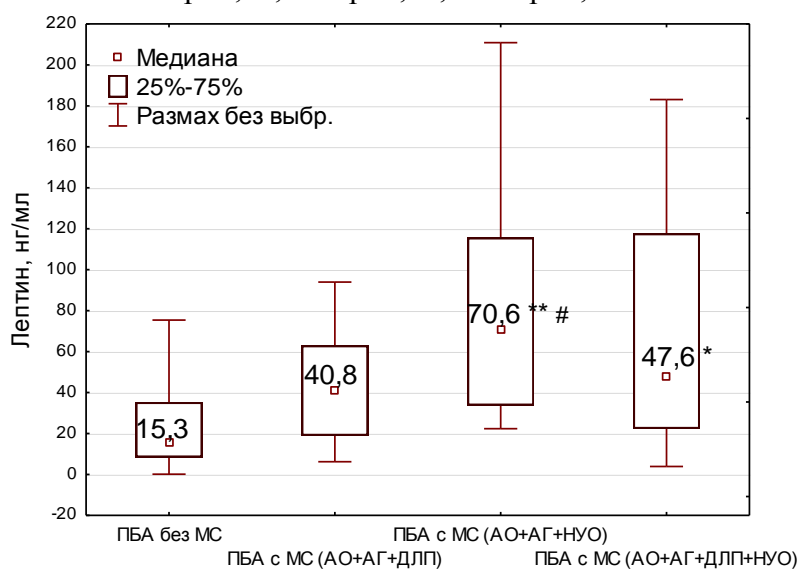
Согласно данным экспериментальных исследований гормоны жировой ткани лептин и адипонектин могут модулировать воспаление в бронхах и

бронхиальную гиперреактивность. Показано, что при ПБА наблюдается повышение уровня лептина (таблица 3), отражающего активность системного воспаления (корреляции с СРБ у мужчин $r=0,415$, у женщин $r=0,335$, $p<0,01$). При этом наиболее значительное повышение уровня лептина наблюдается при ПБА с МС, в состав которого входят нарушения углеводного обмена (рисунок 3), что соотносится с полученными данными о повышении воспалительных маркеров при гипергликемии. Показано, что уровень лептина коррелирует с индексом НОМА-IR ($r=0,623$, $p<0,001$) вне зависимости от массы тела, в связи с чем повышение уровня лептина является информативным показателем инсулинорезистентности. Также показано повышение уровня лептина у мужчин с более тяжелым течением ПБА независимо от наличия МС, что подтверждает значимость лептина в патогенезе ПБА.

Таблица 4 – Коэффициенты корреляции маркеров воспаления с показателями тяжести ПБА в зависимости от наличия МС

Показатели	Группы	СРБ	Фибриноген	Гаптоглобин	Мочевая кислота
ОФВ1	ПБА без МС	-0,256*	-0,074	-0,450**	-0,269*
	ПБА с МС	-0,111	-0,119	0,088	-0,375***
Степень тяжести ПБА	ПБА без МС	0,367**	0,171	0,361*	0,213
	ПБА с МС	0,140	0,269*	0,033	0,239*

Примечание: * - $p<0,05$, ** - $p<0,01$, *** - $p<0,001$



* - $p<0,05$, ** - $p<0,01$
по сравнению с группой ПБА без МС,
- $p<0,05$ по сравнению с группой ПБА с МС (АО+АГ+ДЛП)

Лептин, нг/мл: Кр-У Н(3;105) = 22,9105; $p = 0,00004$

Рисунок 3 - Уровень лептина в сыворотке крови у больных ПБА в зависимости от наличия и формы МС

Уровень противовоспалительного адипонектина у больных ПБА достоверно выше, чем в соответствующих группах сравнения (таблица 3), что

может свидетельствовать об активизации протективных механизмов при ПБА, при этом при МС уровень этого адипокина снижается.

При изучении взаимосвязей иммунологических показателей при ПБА с компонентами МС показано, что уровни IgE ($r=0,422$, $p<0,01$) и ЦИК ($r=0,520$, $p<0,001$) коррелируют с уровнем глюкозы, что может свидетельствовать об ассоциации активации антителообразования с развитием нарушений углеводного обмена. У лиц с ПБА, контактировавших с биологическими аллергенами, при наличии МС выше ($p<0,05$) уровень IgE – 200 (60; 350) МЕ/мл по сравнению с лицами без МС – 60 (30; 100) МЕ/мл, также выявлено наличие корреляции уровня ЦИК с индексом массы тела ($r=0,252$, $p<0,05$), что свидетельствует о более выраженных изменениях гуморального иммунитета при ПБА в сочетании с МС.

Результаты молекулярно-генетических исследований

На основании проведенных исследований показана значимость полиморфизма С589Т гена ИЛ-4 в патогенезе ПБА, т.к. выявлена ассоциация наличия аллели Т гена ИЛ-4 с активизацией аллергического ответа, с более тяжелым течением ПБА (в группе «ПБА без МС»). Также показано наличие ассоциации этого полиморфизма с гипергликемией и гиперхолестеринемией (таблица 5), что подтверждает участие ИЛ-4 в патогенезе МС.

Таблица 5 - Клинико-лабораторные показатели у больных ПБА в зависимости от генотипа ИЛ-4

Группы	Показатель	Генотипы СС (С589Т) n=107	Генотипы СТ, ТТ (С589Т) n=47	Достоверность различий
ПБА	Глюкоза, ммоль/л	5,5 (5,0; 6,3)	6,0 (5,3; 7,1)	$p=0,048$
	Холестерин ммоль/л	5,5 (5,0; 6,5)	6,0 (5,3; 7,0)	$p=0,017$
ПБА без МС	ОФВ1, % от должн.	69,9±15,1	61,1±21,7	$p=0,035$
ПБА с МС		63,3±10,9	63,1±14,4	$p=0,971$
ПБА средней тяжести	IgE, МЕ/мл	90 (30; 220)	60 (17; 155)	$p=0,270$
	ЦИК, ЕД	9,6 (8,0; 10,8)	9,8 (6,0; 19,3)	$p=0,617$
ПБА тяжелой степени	IgE, МЕ/мл	80 (20; 170)	190 (42; 500)	$p=0,043$
	ЦИК, ЕД	8,9 (8,2; 11,5)	9,8 (9,1; 14,7)	$p=0,034$

Интерлейкин-6, являясь провоспалительным цитокином, способствует повышению активности воспалительного процесса, о чем свидетельствует более высокий уровень фибриногена у больных ПБА с генотипом СС (С174G)

по сравнению с лицами с генотипами GG, CG. Показано, что генотип CC гена ИЛ-6, выявленный у 20,6% обследованных лиц с ПБА, повышает риск развития МС в 2,5 раза (OR=2,507, 95% CI=1,045-6,017). При анализе наличия ассоциации полиморфизма C174G гена ИЛ-6 с нарушениями углеводного обмена у больных ПБА вне зависимости от применения СГКС было показано, что генотип CC гена ИЛ-6 повышает риск развития СД 2 типа в 8,2 раза (OR=8,190, 95% CI=2,833-23,679) (рисунок 4). Выявлено наличие ассоциации генотипа CC гена ИЛ-6 с более тяжелым течением ПБА (рисунок 5), что может быть связано как с более высокой распространенностью у этих лиц нарушений углеводного обмена, так и с участием ИЛ-6 в патогенезе ПБА.

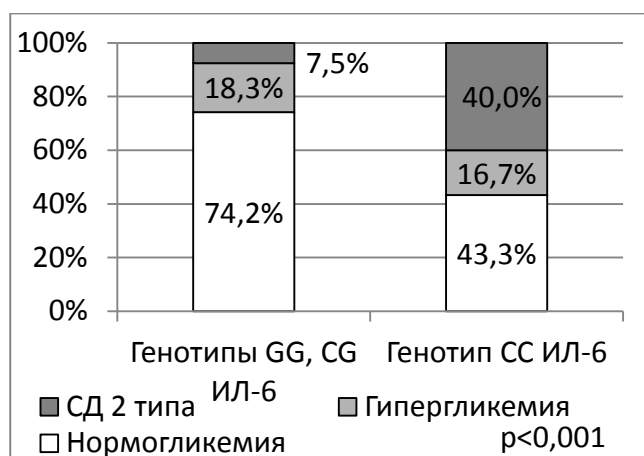


Рисунок 4 - Нарушения углеводного обмена у больных ПБА, не получающих терапию СГКС, в зависимости от генотипа ИЛ-6

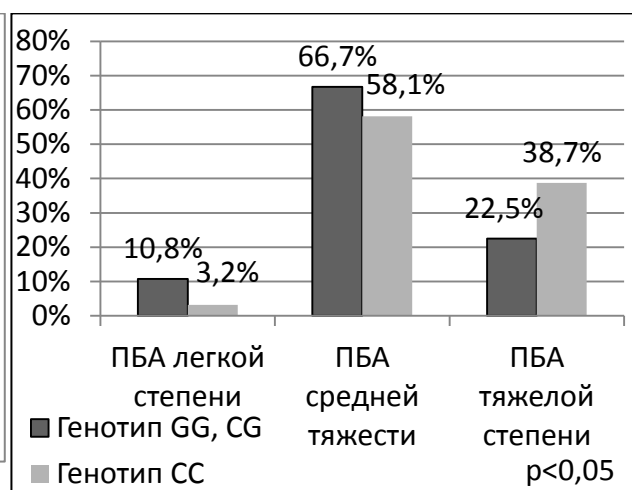


Рисунок 5 - Распределение больных ПБА по степени тяжести в зависимости от генотипа ИЛ-6

При исследовании полиморфизмов G1082A гена противовоспалительного цитокина IL-10 и G308A гена провоспалительного цитокина TNF- α выявлено наличие ассоциации этих полиморфизмов с более тяжелым течением ПБА, но не с компонентами МС.

Больные ПБА с генотипом TT (полиморфизм C3872T) СРБ имеют более высокий уровень данного белка – 4,7 (2,6; 10,6) мг/л по сравнению с пациентами с генотипами CC и CT – 4,0 (1,3; 6,2) мг/л, что свидетельствует о наличии провоспалительного фенотипа у носителей данного генотипа. При сравнении частоты встречаемости полиморфизма C3872T гена СРБ при ПБА и в европейской популяции показано, что носительство аллели Т гена СРБ

повышает риск развития ПБА в 1,3 раза (OR=1,330, 95% CI=1,019-1,735), что может быть связано с более выраженной активацией воспалительного процесса в дыхательных путях в ответ на воздействие производственных факторов.

Показано, что наличие генотипа Gln/Gln (Gln223Arg) гена рецептора лептина (LEPR), ассоциированного с нарушением функционирования данных рецепторов, повышает риск развития ожирения у женщин в 2,9 раза (OR=2,932, 95% CI=1,031-8,334) (рисунок 6), также выявлена ассоциация генотипа Gln/Gln с более высокой активностью воспалительного процесса, что играет важную роль как в формировании МС, так и в патогенезе ПБА.

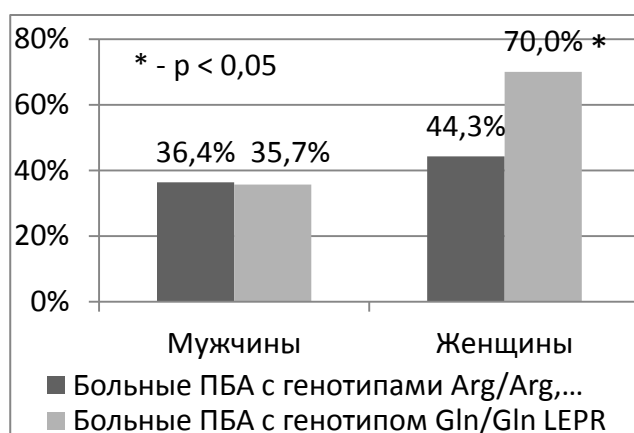


Рисунок 6 - Частота встречаемости ожирения у больных ПБА в зависимости от генотипа рецептора лептина

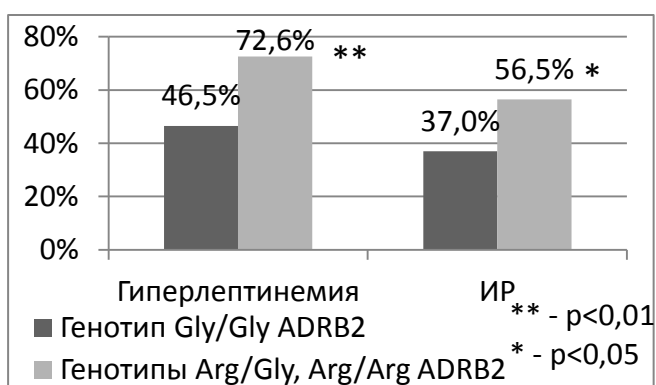


Рисунок 7 - Частота встречаемости гиперлептинемии и инсулинорезистентности (ИР) у больных ПБА в зависимости от полиморфизма Gly16Arg гена ADRB2

Одним из источников хронического воспаления и окислительного стресса является также ренин-ангиотензин-альдостероновая система, имеющая важное значение в патогенезе МС. Показано, что при контакте с металлами-аллергенами у носителей DD генотипа АПФ продолжительность латентного периода до развития ПБА короче – $9,8 \pm 4,4$ лет, чем при генотипах II, ID – $15,0 \pm 5,6$ лет ($p < 0,05$). Это может быть связано с генетически детерминированным повышенным уровнем АПФ, что способствует гиперреактивности бронхов и активации воспалительного процесса в ответ на воздействие веществ сенсibiliзирующего и раздражающего действия.

В развитии нозологической синтропии ПБА и МС могут играть роль также β_2 -адренергические рецепторы, обладающие плейотропными

функциями. Показано, что вероятность развития гиперлептинемии, являющейся фактором риска метаболических нарушений, у больных ПБА с аллелью Arg (Gly16Arg) гена ADRB2 в 3 раза выше, чем у лиц с генотипом Gly/Gly (OR=3,044, 95% CI=1,342-6,903), вероятность развития инсулинорезистентности выше в 2,2 раза (OR=2,210, 95% CI=1,109-4,403) (рисунок 7). Наличие генотипов Arg/Gly, Arg/Arg (Gly16Arg) гена ADRB2 ассоциировано с более коротким латентным периодом от начала контакта с низкомолекулярными химическими аллергенами до развития ПБА, что может свидетельствовать о роли генетически детерминированного нарушения функции β 2-адренорецепторов в патогенезе ПБА. Наличие данных генотипов также ассоциировано с более тяжелым течением ПБА у мужчин (таблица 6).

Таблица 6 - Степени тяжести профессиональной бронхиальной астмы в зависимости от пола и полиморфизма Gly16Arg гена ADRB2

Пол	Мужчины		Женщины	
Генотип	Gly/Gly ADRB2	Arg/Gly, Arg/Arg ADRB2	Gly/Gly ADRB2	Arg/Gly, Arg/Arg ADRB2
ПБА легкой степени	15,8%	3,8%	7,9%	10,3%
ПБА средней тяжести	73,7%	46,2%	63,2%	70,6%
ПБА тяжелой степени	10,5%	50,0%	28,9%	19,1%
Уровень значимости	p=0,016		p=0,500	

Для полиморфизма Gln27Glu гена β 2-адренергического рецептора не выявлено ассоциации ни с течением ПБА, ни с развитием МС.

ВЫВОДЫ

1. У обследованных больных ПБА выявлена высокая частота встречаемости метаболических нарушений, являющихся компонентами МС: ожирение выявлено у 45,2%, избыточная масса тела – у 37,4%, нарушения липидного обмена - у 74,2%, нарушения углеводного обмена - у 54,2% больных ПБА. При этом частота встречаемости нарушений липидного обмена одинакова в различных возрастных группах, а частота встречаемости нарушений углеводного обмена достоверно увеличивается с возрастом.

2. По критериям Международной федерации диабета МС диагностирован у 58,7% обследованных больных ПБА, при этом достоверно чаще (в 81,6%) МС встречается в группе больных ПБА строительных профессий, что может быть

обусловлено спецификой воздействующих факторов и свидетельствует о высоком риске развития нозологической синтропии ПБА и МС в данной профессиональной группе.

3. У обследованных с нозологической синтропией ПБА и МС, в состав которого входят все 4 компонента (абдоминальное ожирение, АГ, нарушения липидного и углеводного обменов), по сравнению с больными ПБА без МС выявлены достоверно более тяжелое течение ПБА, более значимые изменения маркеров системного воспаления и показателей гуморального иммунитета и достоверно более выраженные нарушения пуринового и адипокинового обменов.

4. На основании проведенных исследований показано, что маркеры системного воспаления (С-реактивный белок, фибриноген, гаптоглобин, мочевая кислота) отражают как степень тяжести астмы, так и степень метаболических нарушений, в связи с чем оценка результатов исследования данных маркеров воспаления при ПБА должна проводиться с учетом наличия или отсутствия компонентов МС.

5. У обследованных с нозологической синтропией ПБА и МС по сравнению с обследованными лицами с МС без бронхолегочной патологии выявлено повышение уровней лептина, свидетельствующего о выраженности воспалительного процесса при сочетанной патологии, и адипонектина, свидетельствующего об активизации протективных противовоспалительных механизмов. Уровень лептина коррелирует с индексом инсулинорезистентности НОМА-IR ($r=0,623$, $p<0,001$) вне зависимости от индекса массы тела, кроме того повышение уровня лептина ассоциировано с более тяжелым течением ПБА, что свидетельствует о патогенетической значимости лептина в развитии нозологической синтропии ПБА и МС и информативности его определения для оценки риска развития инсулинорезистентности и прогноза течения указанной синтропии. При этом гиперлептинемия достоверно ассоциирована с полиморфизмами генов СРБ С3872Т и β 2-адренергических рецепторов Gly16Arg.

6. Показана значимость генетических полиморфных систем (система регуляции воспалительного процесса: C589T ИЛ-4, C174G ИЛ-6, C3872T СРБ, Gln223Arg LEPR, I/D Alu-фрагмента АПФ; адренергическая система: Gly16Arg ADRB2) в развитии нозологической синтропии ПБА и МС и выявлены их достоверные ассоциации с клинико-лабораторными показателями. Полиморфизмы генов ИЛ-6, СРБ, рецептора лептина, АПФ ассоциированы с повышенной активностью воспалительного процесса, лежащего в основе нозологической синтропии ПБА и МС. Генотип СС (С174G) гена ИЛ-6 повышает риск развития СД 2 типа, отягощающего течение ПБА, в 8,2 раза (OR=8,190, 95% CI=2,833-23,679). Полиморфизм С589Т гена ИЛ-4 достоверно ассоциирован с активацией аллергического ответа при развитии ПБА и формированием нарушений углеводного и липидного обменов. Полиморфизм Gly16Arg гена β 2-адренергических рецепторов ассоциирован с достоверно более тяжелым течением ПБА и развитием нарушений углеводного и липидного обменов. Исследование генетических полиморфизмов G308A ФНО- α и G1082A ИЛ-10 можно использовать для прогнозирования тяжести течения ПБА, но не для оценки риска развития нозологической синтропии ПБА и МС.

7. На основании проведенных исследований показана общность патогенетических механизмов развития ПБА и МС, среди которых системный воспалительный процесс, изменение адипокинового статуса и наличие общих генетических детерминант, что определяет необходимость проведения комплексной профилактики для предупреждения развития как сочетания указанных нозологий, так и прогрессирования бронхолегочной патологии и развития осложнений МС в виде сердечно-сосудистых заболеваний и СД 2 типа.

8. Определены информативные биохимические (СРБ, фибриноген, гаптоглобин, мочевая кислота, лептин) маркеры, характеризующие выраженность системного воспаления, лежащего в основе развития метаболических нарушений, и молекулярно-генетические (генетические полиморфизмы С589Т интерлейкина-4, С174G интерлейкина-6, С3872Т С-

реактивного белка, Gln223Arg рецептора лептина, I/D Alu-фрагмента ангиотензинпревращающего фермента, Gly16Arg β 2-адренергических рецепторов) маркеры для оценки персонифицированного риска развития и прогноза клинического течения нозологической синтропии ПБА и МС.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г., Ненашева Р.А., Коляскина М.М., Лазарашвили Н.А. Полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы как критерий риска развития артериальной гипертензии // Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014». – Москва, 2014. – Т. II. – С. 225.

2. Кузьмина Л.П., Артемова Л.В., Соркина Н.С., Помыканова Ю.С., Хотулева А.Г., Коляскина М.М., Лазарашвили Н.А., Ненашева Р.А., Комарова С.Г., Румянцева О.И., Мокина М.Н., Стаценко Ю.В., Николаев И.М., Шевякова А.Ю. Молекулярно-генетические маркеры для прогноза тяжести клинического течения профессиональной бронхиальной астмы // Актуальные проблемы медицины труда: Сборник трудов Института / Под ред. академика РАН, проф. Н.Ф. Измерова, проф. И.В. Бухтиярова. – М.: ООО «Мелга», 2015. – С. 321-328.

3. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г. Полиморфизм гена рецептора лептина как критерий риска развития сочетания профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома // Профилактическая медицина. – 2015. – Том 18, № 2 (выпуск 2). – С. 59-61.

4. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г. Нозологическая синтропия профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома // Медицина труда и промышленная экология. – 2015. – № 9. – С. 81.

5. Хотулева А.Г. Патогенетическая значимость лептина у больных профессиональной бронхиальной астмой // Медицина труда и промышленная экология. – 2015. – № 9. – С. 150.

6. Хотулева А.Г. Роль полиморфизма C174G гена интерлейкина-6 в патогенезе синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома // Медицина труда и промышленная экология. – 2015. – № 9. – С. 150-151.

7. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г. Молекулярные механизмы нозологической синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома // Профессиональные заболевания органов дыхания: национальное руководство / под ред. Н.Ф. Измерова, А.Г. Чучалина (Серия «Национальные руководства») – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – С. 187-199.

8. Хотулева А.Г. Роль лептина в патогенезе нозологической синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома // Современные подходы к обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения России: Материалы научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 80-летию со дня рождения

академика РАМН, заслуженного деятеля науки РФ А. И. Потапова / Под редакцией академика РАН, профессора, заслуженного деятеля науки РФ В.Н. Ракитского. – М.: Издательско-торговая корпорация «Дашков и КО», 2015. – С. 267-271.

9. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г. Полиморфизм гена интерлейкина-6 как критерий риска развития метаболических нарушений у больных профессиональной бронхиальной астмой // Профилактическая медицина. – 2016. – Том 19, № 2 (выпуск 2). – С. 44.

10. Хотулева А.Г. Инсулинорезистентность у больных профессиональной бронхиальной астмой // Материалы 1-го Международного Молодежного Форума «Профессия и здоровье», 31 мая-3 июня 2016 г. – Москва: АМТ, ФГБНУ «НИИ МТ», 2016. – С. 137-140.

11. Хотулева А.Г., Кузьмина Л.П. Биомаркеры системного воспаления в патогенезе синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома // Медицина труда и промышленная экология. – 2016. – №7. – С. 39-43.

12. Хотулева А.Г. Лептин как маркер метаболических нарушений у больных профессиональной бронхиальной астмой // Совершенствование профпатологической помощи в современных условиях: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, г. Шахты, 14-16 сентября 2016 г. – Ростов н/Д: Изд-во Фонд науки и образования, 2016. – С. 227-229.

13. Хотулева А.Г. Общие молекулярно-генетические механизмы в патогенезе профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома // Медицинский академический журнал. – 2016. – Том 16. - № 4. – С. 137-138.

14. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г. Адипокины как маркеры метаболических нарушений при профессиональной бронхиальной астме // Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. - № 12 (54). – С. 100-102.

15. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г. Полиморфизмы генов цитокинов в патогенезе нозологической синтропии профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома. Молекулярная диагностика. Сб. трудов / под ред. В.И. Покровского. – Тамбов: ООО фирма «Юлис», 2017. – Т. 2. – С. 71-72.

16. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г. Генетические маркеры воспалительного процесса в развитии сочетания профессиональной бронхиальной астмы и метаболического синдрома // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы пульмонологии у работающего населения – инновации и перспективы», Новосибирск, 29-30 мая 2017 г. – Новосибирск, 2017. – С. 58-63.

17. Хотулева А.Г. Нарушения липидного обмена при профессиональной бронхиальной астме // Медицина труда и промышленная экология. – 2017. - № 9. – С. 207-208.