

На правах рукописи

Чистова Надежда Павловна

**БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ
ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ
У ЛИЦ С ВИБРАЦИОННОЙ БОЛЕЗНЬЮ
И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ**

3.2.4. Медицина труда

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ангарск – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (г. Ангарск).

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Кудаева Ирина Валерьевна

Официальные оппоненты:

Герасименко Оксана Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой факультетской терапии имени профессора Г.Д. Залесского

Малютина Наталья Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой факультетской терапии № 2, профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова» (105275, г. Москва, просп. Буденного, д. 31).

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2024 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 24.1.003.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» по адресу: 665827, Иркутская область, г. Ангарск, 12 «А» мкр-н, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБНУ ВСИМЭИ и на официальном сайте <http://vsimei.ru>.

Автореферат разослан: «19» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



Ефимова Наталья Васильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Среди профессиональных заболеваний доля патологии, обусловленной производственными физическими факторами, в Российской Федерации, в 2022 г. составила 47,1 %, при этом вибрационная болезнь (ВБ) занимала второе место после заболеваний, связанных с работой в условиях шума (Государственный доклад, 2022). Вибрационная болезнь может быть вызвана локальной или общей вибрацией, а также их комбинированным воздействием. По данным отечественных и зарубежных ученых, основу ВБ составляют системные васкулопатии, проявляющиеся в виде нарушения микрогемодинамики; также для данной патологии характерны мембранопатии, гипоксия, воспаление, оксидативный стресс, нейрогуморальные и гормональные сдвиги, формирование синдрома регенераторно-пластического дефицита (Шпагина Л.А. и др., 2007, 2014; Чачибая З.К., 2013; Бодиенкова Г.М., 2018; Панков В.А. и др., 2019; Русанова Д.В. и др., 2019; Racurari M. et al., 2019; Krajnak K. et al., 2020). Основной вклад в патогенез васкулопатий, в том числе при ВБ, вносит эндотелиальная дисфункция – патологическое состояние, сопровождающееся нарушением секреции эндотелием биологически активных веществ. Показано, что уже на доклинических и ранних стадиях ВБ отмечаются проявления дисфункции эндотелия (ДЭ) в виде повышения уровня фактора Виллебранда, агрегации тромбоцитов, снижения концентрации NO (Потеряева Е.Л., 2004), роста выработки цитокинов Т-хелперов 1-го типа направленности – интерлейкина-1-бета, интерлейкина-4, повышения содержания фактора некроза опухоли (Абраматец Е.А., 2005, 2007).

В ряде исследований показано изменение уровня биомаркеров ДЭ у лиц, экспонированных разными видами вибрации. Так, при действии общей вибрации регистрируется увеличение концентрации моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (Бабанов С.А., 2018), при локальной – повышение уровней тромбоцитарного фактора роста, фибронектина, увеличивается содержание криопротеинов (Curry B.D. et al., 2005; Ginter K., 2021), при этом увеличение содержания эндотелина-1, трансформирующего ростового фактора бета, фактора роста эндотелия сосудов А характерно как для действия локальной, так и общей вибрации (Бабанов С.А., 2018). Существуют работы, посвященные изучению некоторых показателей, косвенно отражающих состояние эндотелия при комбинированном воздействии локальной и общей вибрации (Кукс А.Н. и др., 2019). Однако систематизированные исследования особенностей проявлений ДЭ при ВБ, обусловленной воздействующей вибрацией данного вида, отсутствуют.

К причинам, вызывающим эндотелиальную дисфункцию, и, в дальнейшем, развитие сердечно-сосудистых заболеваний, относится, в том числе, метаболический синдром (МС), для которого в последние годы характерно пандемическое распространение (Богданова О.Г., 2020; Fahed G. et al., 2022). Диагностическими критериями данного состояния являются абдоминальное ожирение, повышение кровяного давления, нарушение липидного и углеводного обмена (Клинические рекомендации..., 2013). При метаболическом синдроме отмечаются нарушения таких функций эндотелия, как модулирование активности лейкоцитов и тромбоцитов, поддержание непроницаемости сосудистого барьера для клеток крови и белков плазмы (Трещинская М.А., 2012). Для данной патологии характерны гипергомоцистеинемия, снижение концентрации метаболитов азота и повышение содержания эндотелина-1 (Лындина М.Л., 2018; Кузнецова Л.А., 2021). В то же время, актуальной задачей является изучение проявлений МС у лиц с ВБ и вопрос его производственной обусловленности.

На развитие эндотелиальной дисфункции и метаболического синдрома может оказывать влияние и генетическая предрасположенность. Показано, что в развитии МС определенную роль играют гены лептина (LEP), его рецептора (LEPR), переносчика жирных кислот (FABP2), коактиватора рецептора пролифератора пероксисом (PPARGC1A) и др. (Han T.K., 2019; Clement K. et al., 2020; Schillemans T., 2022; Aller R. et al., 2023). Известно, что полиморфизмы в гене эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) ассоциированы с ишемической

болезнью сердца, а однонуклеотидные замены в гене эндотелина-1 (END) – с артериальной гипертензией, связь полиморфных вариантов гена ангиотензиногена (ANG) с риском развития сердечно-сосудистых событий неоднозначна. (Морозова Н.И., 2022; ElAlfy M.S., 2019; Shi J. et al., 2021; Shahid M., 2022; Tran N., 2022). В исследовании, проведенном Шпагиной Л.А. с соавт., показано значительное увеличение частоты встречаемости патологических полиморфных вариантов гена eNOS (rs1799983) у лиц с ВБ в сочетании с АГ (Шпагина Л.А., 2015), однако роль генетического фактора в формировании ДЭ и метаболических нарушений при ВБ все еще остается малоизученной.

Таким образом, актуальность исследования обусловлена высокой распространенностью вибрационной болезни и метаболического синдрома, наличием особенностей в изменении уровней маркеров эндотелиальной дисфункции и метаболических нарушений в зависимости от вида воздействующей вибрации, а также малоизученностью вклада генетического фактора в развитие сердечно-сосудистой патологии и изменений метаболического профиля у лиц с вибрационной болезнью.

Степень разработанности темы. Несмотря на перечисленные факты, практически отсутствуют работы, направленные на изучение маркеров эндотелиальной дисфункции и метаболических нарушений у лиц с ВБ, обусловленной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, а также у пациентов с ВБ в сочетании с МС. Недостаточность литературных данных о вкладе генетических факторов в развитие дисфункции эндотелия и метаболических нарушений при сопутствующем влиянии вибрации обуславливает актуальность этих исследований.

Цель исследования

Обосновать критериально значимые биохимические и молекулярно-генетические маркеры метаболических нарушений и эндотелиальной дисфункции у лиц с вибрационной болезнью при метаболическом синдроме.

Задачи исследования:

1. Выявить особенности изменения уровней биохимических маркеров метаболических нарушений и эндотелиальной дисфункции при коморбидном течении метаболического синдрома у пациентов с вибрационной болезнью, обусловленной воздействием локальной вибрации и комбинированным воздействием локальной и общей вибрации.

2. Изучить производственную обусловленность метаболического синдрома и дислипидемии при вибрационной болезни.

3. Выявить ассоциации генов-кандидатов развития эндотелиальной дисфункции и метаболических нарушений с концентрациями кодируемых ими продуктов у лиц с вибрационной болезнью.

4. Оценить ассоциацию метаболического синдрома и маркеров эндотелиальной дисфункции с клиническими проявлениями вибрационной болезни.

Научная новизна

Доказано, что для лиц с вибрационной болезнью, независимо от вида вибрации и наличия метаболического синдрома, общей закономерностью является изменение показателей, характеризующих проявления эндотелиальной дисфункции в виде дисрегуляции сосудистого тонуса (повышение ангиотензина-I, уменьшение концентрации метаболитов NO), активации синтеза аутоантител к фосфолипидным компонентам мембран (ауто-АТ к бета2-гликопротеину-1) и снижение агрегационной функции тромбоцитов.

Установлена высокая степень производственной обусловленности метаболического синдрома и низкого уровня ХС ЛПВП, а также связь уровней вибрации и продолжительности стажа с концентрациями маркеров эндотелиальной дисфункции (ангиотензина-I, аутоантител к бета2-гликопротеину-1, коллагену, плазмину) и метаболических нарушений (адипонектина).

Доказано, что для лиц с вибрационной болезнью характерно изменение уровней маркеров метаболических нарушений: независимо от вида вибрации – высокое содержание резистина и окисленных ЛПНП; при воздействии локальной вибрации, независимо от наличия метаболического синдрома – уровня лептина; в сочетании с метаболическим синдромом -

титра аутоантител к окисленным липопротеинам и рецептору инсулина, при вибрационной болезни, вызванной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, в сочетании с метаболическим синдромом – концентраций адипонектина и аутоантител к инсулину.

Установлены новые факты, касающиеся механизмов нарушения агрегационной функции тромбоцитов на начальной, обратимой и необратимой стадиях у лиц с вибрационной болезнью, обусловленной воздействием локальной вибрации в отсутствие коморбидной патологии (повышение аутоантител к плазмину) и при ее наличии (повышение аутоантител к eNOS).

Получены данные, расширяющие представления о роли генетических факторов в формировании абдоминального ожирения (Gln223Arg гена LEPR, Gly482Ser гена PPARGC1A), метаболических нарушений (Gln223Arg гена LEPR, Ala54Thr гена FABP2) и эндотелиальной дисфункции (Glu298Asn гена eNOS, Thr174Met гена ANG) у лиц с вибрационной болезнью.

Установлена роль производственных и генетических факторов в развитии проатерогенных нарушений у пациентов с вибрационной болезнью – носителей минорных аллелей генов-кандидатов (Gly482Ser гена PPARGC1A, Gln223Arg гена LEPR, Ala54Thr гена FABP2).

Показано, что у лиц с периферическим ангиодистоническим синдромом, вызванным воздействием вибрации, носительство неблагоприятных аллелей полиморфизмов Glu298Asn гена eNOS и Met235Thr гена AGT способствует развитию нарушений агрегационной функции тромбоцитов.

Установлена ассоциация метаболического синдрома со степенью выраженности полиневропатии у лиц с вибрационной болезнью, вне зависимости от вида воздействующей вибрации.

Практическая и теоретическая значимость. На основе полученных результатов определены диагностические маркеры, направленные на выявление метаболических нарушений и эндотелиальной дисфункции у пациентов с ВБ, обусловленной как воздействием локальной вибрации, так и комбинированным воздействием локальной и общей вибрации.

Расширены научные представления о механизмах регуляции синтеза холестерина лептином при воздействии вибрации.

Практическое использование выявленных информативных биохимических и молекулярно-генетических маркеров повышает эффективность профилактических мероприятий и лечения вибрационной болезни, результаты исследования могут быть использованы для мониторинга за состоянием здоровья пациентов с целью предотвращения формирования сердечно-сосудистой патологии.

Разработан и защищен патентом (патент РФ 2783252 С1 от 10 ноября 2022г.) способ оценки риска развития абдоминального ожирения у лиц с вибрационной болезнью, в соответствии с ним составлены методические рекомендации по применению медицинской технологии «Прогнозирование риска развития абдоминального ожирения у лиц с вибрационной болезнью» (авторы Кудяева И.В., Чистова Н.П., Маснавиева Л.Б.), утвержденные Ученым Советом от 25.10.2023. Данные рекомендации включены в цикл лекций кафедры «Профпатология и гигиена» ФГБОУ ДПО ИГМАПО (акт внедрения от 05.12.2023), использованы в учебном процессе ФГБНУ ВСИМЭИ – в ординатуре по направлениям «Терапия» (дисциплина «Профпатология»), «Неврология», «Клиническая лабораторная диагностика», в аспирантуре по направлению «Медико-профилактическое дело» специализация «Медицина труда» (акт внедрения от 05.12.2023), применены в научно-образовательном процессе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова» (акт внедрения от 25.12.2023).

Выявленный комплекс молекулярно-генетических маркеров регуляции сосудистого тонуса (Glu298Asn гена eNOS, Thr174Met гена ANG), адипокинов и их рецепторов (Gln223Arg гена LEPR, Gly482Ser гена PPARGC1A, Ala54Thr гена FABP2) может использоваться для

дополнительной оценки индивидуального риска развития сосудистых и метаболических нарушений среди лиц, подвергающихся воздействию вибрации.

Связь с планом научно-исследовательских работ института. Диссертационная работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы ФГБНУ ВСИМЭИ №12201170028-1 «Изучение механизмов метаболических нарушений и их роли в качествеотягощающих факторов в формировании чувствительности к химическому и физическому воздействию». Обследование пациентов проводилось с соблюдением этических принципов Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации и при наличии подписанного информированного согласия на участие в исследовании. Получено заключение локального этического комитета №32 от 10.09.2019г.

Методология и методы исследования. Проведено одномоментное поперечное, основанное на первичной информации исследование в группах пациентов с вибрационной болезнью, часть из которых имела метаболический синдром. Используются общенаучные методы: общелогические (анализ, синтез, индукция и дедукция), гипотетический метод, формализация. В качестве специальных применены лабораторные методы (определение и оценка биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции и метаболических нарушений, изучение полиморфизмов генов-кандидатов) и основной теоретический метод исследования – математический анализ, включающий в себя дискриминантный анализ, расчет отношения шансов, относительного риска и этиологической доли, оценку генетических моделей с помощью программы SNPStats.

Положения, выносимые на защиту:

1. Информативными диагностическими критериями поражения эндотелия при вибрационной болезни, независимо от наличия коморбидной патологии в виде метаболического синдрома, являются высокие уровни ангиотензина I и аутоантител к бета2гликопротеину-1, низкий титр аутоантител к плазмину и нарушение агрегационной функции тромбоцитов.

2. Общей закономерностью метаболических нарушений при вибрационной болезни, независимо от вида воздействующей вибрации, является нарастание уровней окисленных ЛПНП и резистина. Высокое содержание лептина характерно для вибрационной болезни, обусловленной воздействием локальной вибрации, вне зависимости от наличия метаболического синдрома. Особенностью проявлений метаболического синдрома у пациентов с вибрационной болезнью, обусловленной воздействием локальной вибрации, является выработка аутоантител к окисленным липопротеинам и рецептору инсулина; при комбинированном воздействии локальной и общей вибрации – высокие уровни адипонектина и аутоантител к инсулину.

3. Для лиц с вибрационной болезнью, обусловленной воздействием как локальной вибрации, так и комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, установлена высокая степень производственной обусловленности метаболического синдрома и низкого уровня ХС ЛПВП.

4. Персонализированными маркерами риска развития и проявления ряда патогенетических процессов при вибрационной болезни (вне зависимости от вида воздействующей вибрации) являются однонуклеотидные полиморфизмы генов белковых молекул, регулирующих сосудистый тонус (Glu298Asn гена eNOS, Thr174Met гена ANG), ассоциированных с содержанием ауто-АТ к eNOS и ANCA, а также генов маркеров метаболических нарушений (Gln223Arg гена LEPR, Gly482Ser гена PPARGC1A, Ala54Thr гена FABP2), сопряженных с высокими уровнями холестерина, ХС ЛПНП, триглицеридов и лептина.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом исследований и применением комплекса современных и соответствующих цели и задачам работы методов, личным участием автора в работе на каждом этапе исследований, выполненных на сертифицированном оборудовании с использованием тест-систем, зарегистрированных в МЗ РФ, контроль качества выполнен на

аттестованных контрольных материалах с соблюдением правил и принципов, предъявляемых к лабораторным исследованиям.

Апробация результатов исследования. Основные результаты выполненного диссертационного исследования представлены и обсуждены на Межрегиональных научно-практических конференциях «Science Present and Future: Research Landscape in the 21st century» (Иркутск, 2020, 2021, 2023), IV и V Всероссийской научно-практических конференциях с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2020, 2022), форуме «Кардиология XXI века: альянсы и потенциал» (Томск, 2021), IV и V Всероссийских научно-практических конференциях молодых ученых «Экология и здоровье населения» (Ангарск, 2021, 2023).

Публикации. Основные результаты диссертационного исследования изложены в 11 научных работах, из которых 7 – опубликованы в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, индексируемых в международных базах данных Scopus – 6, Web of Science – 1, в материалах конференций – 4. Опубликовано 1 патент и 1 методическая рекомендация по применению медицинской технологии.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует специальности 3.2.4. Медицина труда. Область исследования отвечает пунктам 1 и 6 паспорта научных специальностей ВАК при Минобрнауки России 3.2.4. Медицина труда.

Личный вклад. Автором осуществлено планирование и организация исследования, сформулированы его цель и задачи, выполнена пробоподготовка, проведен анализ данных из санитарно-гигиенических характеристик и историй болезни, выполнены статистическая обработка, анализ и обобщение полученных данных. Биохимические, иммуно-биохимические и молекулярно-генетические исследования проведены совместно с сотрудниками лаборатории иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований в гигиене и клинко-диагностической лаборатории. Личный вклад автора в накопление и написание материала составляет около 85%, в анализе и обобщении материала – 95%.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 159 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, глав собственных исследований и заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Список литературы представлен 276 источниками, в том числе 164 работами отечественных и 112 - иностранных авторов. Работа проиллюстрирована 29 таблицами и 5 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе приведен обзор отечественных и зарубежных работ, посвященных изучению влияния вибрации и метаболического синдрома на состояние сосудистой стенки. Рассмотрены публикации, отражающие биохимические и молекулярно-генетические механизмы формирования дисфункции эндотелия и метаболических нарушений, что позволило прийти к заключению о недостаточности сведений о комбинированном воздействии локальной и общей вибрации на функцию эндотелия, а также о взаимной роли производственного и генетического факторов в формировании вышеуказанных изменений.

Во второй главе представлены дизайн, объект, методы и объемы исследования. Информация о клинических проявлениях вибрационной болезни была выкопирована из историй болезни, о стаже и уровнях воздействующей вибрации – из санитарно-гигиенических характеристик. Всего в исследование был включен 241 мужчина. В дальнейшем вошедшие в выборку лица были распределены по группам (Рисунок 1).

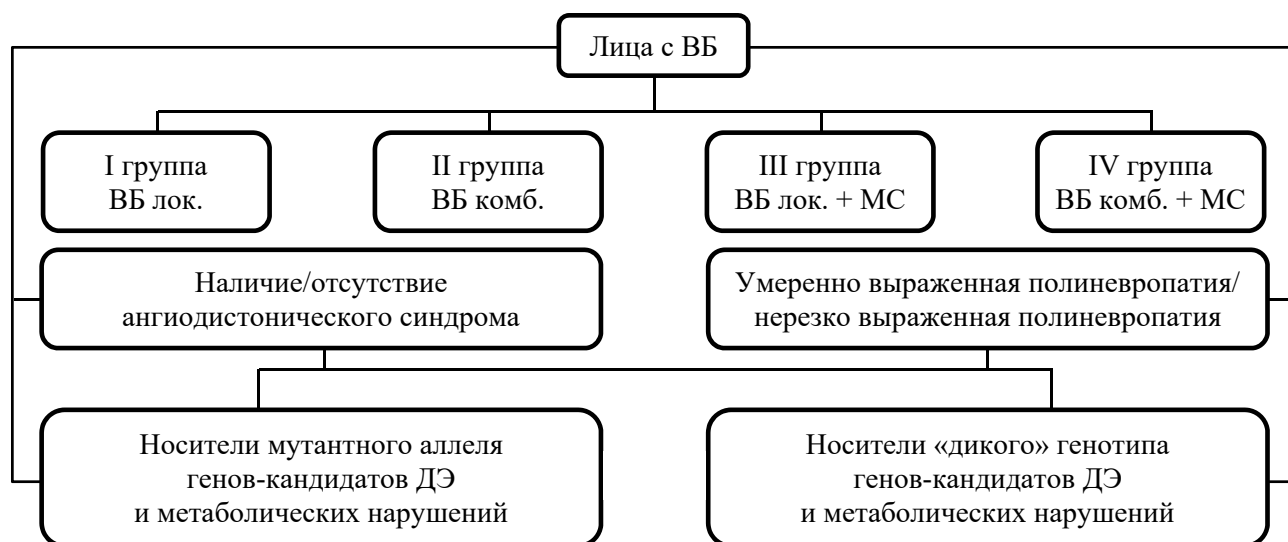


Рисунок 1 – Схема формирования групп в проведенном исследовании

Все обследованные – мужчины в возрасте от 40 до 60 лет, средний возраст в I группе составлял $44,8 \pm 6,9$ года, во II – $53,6 \pm 5,7$ года, в III – $46,9 \pm 6,8$ года, в IV – $54,8 \pm 4,7$ года, соответственно. Стаж работы во вредных условиях принимал значения у лиц I группы – $18,0 \pm 5,4$ года, II – $21,6 \pm 7,3$ года, III – $17,7 \pm 5,9$ года, IV – $23,7 \pm 7,2$ года.

Изучение маркеров метаболических нарушений и дисфункции эндотелия проводилось в 4 группах: I группа включала 44 человека с ВБ от воздействия локальной вибрации без МС; II группа – 33 лица с ВБ от комбинированного воздействия локальной и общей вибрации без МС; III группа – 62 человека с ВБ от воздействия локальной вибрации в сочетании с МС; IV группа – 102 лица с ВБ от комбинированного воздействия локальной и общей вибрации с МС. Определение молекулярно-генетических маркеров и оценка производственной обусловленности МС проводились в объединенной группе пациентов с ВБ, включавшей всех обследованных. При изучении производственной обусловленности (Р 2.2.1766-03) отдельных компонентов МС – маркеров проатерогенных нарушений в качестве группы сравнения были отобраны 150 мужчин в возрасте от 40 до 60 лет, работавших в условиях, исключавших воздействие вибрационного фактора; распространенность метаболического синдрома оценивалась в сравнении с данными популяционных исследований (Полозова Э.И. и др., 2019; Fahed G., 2022; Huang L., 2022). При анализе ассоциаций содержания биомаркеров с отдельными клиническими проявлениями вибрационной болезни лица с ВБ были разделены на группы с ангиодистоническим синдромом и без него, а также с умеренно выраженной полиневропатией и ее нерезко выраженной формой. Для сопоставления показателей ДЭ и метаболических нарушений с носительством «диких» и мутантных генотипов в зависимости от различных клинических проявлений ВБ и уровней вибрации, когорта была разделена на соответствующие группы.

Критериями включения в исследование для всех групп обследуемых являлись: мужской пол, возраст от 40 до 60 лет, наличие подписанного информированного согласия, а также установленная профессиональная патология – вибрационная болезнь, вызванная воздействием локальной вибрации или комбинированным воздействием локальной и общей вибрации 1-й, 2-й степени. Для III и IV групп необходимым условием было наличие метаболического синдрома, диагностированным в соответствии с Клиническими рекомендациями (2013). Критерии исключения: острые инфекционные болезни на момент обследования и обострение хронических заболеваний, инсульт, инфаркт, ишемическая болезнь сердца, онкологические заболевания, почечная или печеночная недостаточность, туберкулез любой локализации, аутоиммунные заболевания, а также профессиональные заболевания, вызванные воздействием химического фактора.

Для достижения поставленных в настоящем исследовании задач использовались различные методы (Таблица 1). Дизайн исследования представлен на Рисунке 2.

Таблица 1 – Методы и объем проведенных исследований

Методы	Объект исследования	Количество исследований
Биохимические	Сыворотка крови	1446
Методы исследования тромбоцитарного гемостаза	Плазма крови с цитратом, цельная кровь с К2ЭДТА	1205
Методы ИФА	Сыворотка крови	3133
Молекулярно-генетические методы	Цельная кровь с ЭДТА	1205

Биохимические методы включали в себя определение показателей липидограммы на биохимическом анализаторе «Labio-200» (Mindray, Китай) реагентами фирмы «Human» (Германия). Холестерин в липопротеинах низкой плотности (ХС ЛПНП) определяли расчетным методом по формуле Фридвальда. Индекс атерогенности (ИА) рассчитывался как отношение атерогенных фракций холестерина к неатерогенным.



Рисунок 2 – Дизайн проведенного исследования

Для определения метаболитов NO использовали колориметрический метод в реакции диазотирования с реактивом Грисса с восстановлением нитратов до нитритов металлическим кадмием. Содержание ангиотензина I, гормонов жировой ткани – лептина, резистина, адипонектина, окисленных липопротеинов и антител к ним, естественных аутоантител (ауто-АТ) к маркерам состояния сердечно-сосудистой системы и инсулинорезистентности определяли с помощью иммуноферментного анализа и соответствующих тест-систем при длине волны 450 нм, на фотометре ELx800 («BioTek», США).

Измерение тромбокрита и подсчет тромбоцитов осуществляли на гематологическом анализаторе «Mindray» (Китай). Состояние их агрегационной способности оценивали

на анализаторе гемостаза «Viola» (Россия) по принципу регистрации изменения оптической плотности богатой тромбоцитами цитратной плазмы, обусловленного формированием агрегатов тромбоцитов при добавлении индуктора различных концентраций (АДФ 5,0 мкмоль/л; 2,5 мкмоль/л; 0,1 мкмоль/л). На агрегатограммах оценивали степень агрегации и размер агрегатов.

Генотипирование полиморфизмов Gln223Arg LEPR (rs1137101), Ala54Thr FABP2 (rs1799883), Gly482Ser PPARGC1A (rs8192678), Glu298Asn eNOS (rs1799983), Thr174Met (rs4762) и Met235Thr AGT (rs699) осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени в соответствии с протоколом производителя наборов реагентов «SNP-Экспресс-Shot» («Литех», Россия). Детекция продуктов амплификации проводилась на амплификаторе «CFX-96» («BioRad», США).

Для статистической обработки результатов применяли пакет прикладных программ STATISTICA 10 и софт SNPStats (<https://www.snpstats.net>). При оценке соответствия количественных признаков нормальному распределению использовали критерий Шапиро-Уилка. Для описания количественных и качественных признаков применяли дескриптивную статистику (медиана и интерквартильный диапазон 25-й – 75-й процентиля, частота и доверительный интервал). При сравнении количественных признаков использовали непараметрические критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса, качественных признаков – точный критерий Фишера. Статистически значимые различия при сравнении 2 групп считали при $p < 0,05$, при попарных межгрупповых сравнениях 4 групп – с учетом поправки Бонферрони при $p < 0,0125$. Исследование взаимосвязей между признаками производили с помощью корреляционного анализа Спирмена, указывали только статистически значимые связи при $p < 0,05$. В качестве многофакторного метода применялся дискриминантный анализ. Для оценки связи между генотипами и их фенотипическими проявлениями использовали отношение шансов. Частоты встречаемости аллелей и генотипов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга. Для оценки относительного качества генетических моделей применяли информационный критерий Акаике.

Глава третья посвящена оценке биохимических маркеров метаболических нарушений и эндотелиальной дисфункции, а также включает подглаву, в которой рассмотрены корреляционные взаимосвязи между ними.

На первом этапе исследования были изучены биомаркеры метаболических нарушений – показатели, отражающие формирование инсулинорезистентности (ауто-антитела к инсулину и рецептору инсулина) и гормоны жировой ткани (лептин, резистин, адипонектин). Наиболее частое отклонение относительного содержания ауто-АТ к инсулину от верхнего значения референса (+10 %) было зарегистрировано при ВБ, обусловленной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, в сочетании с МС (17,1 %; $p = 0,02$). В то же время, доля лиц с пограничным превышением референса ауто-антител к рецептору инсулина была в 2,3 раза больше в группе с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации и МС (82 %), чем в его отсутствие (33 %; $p = 0,001$) а также выше, чем при комбинированном воздействии локальной и общей вибрации и МС (61%; $p = 0,006$). Высокий уровень ауто-АТ к рецептору инсулина являлся диагностическим критерием ($F = 9,7$; $p = 0,003$) для лиц с ВБ и МС по сравнению с пациентами без МС. Корреляционный анализ выявил положительные связи между уровнями ауто-АТ к инсулину и ауто-АТ к рецептору инсулина в группах без МС ($R = 0,60$ и $R = 0,72$ соответственно), что может свидетельствовать о наличии механизма, выполняющего превентивную функцию в отношении развития инсулинорезистентности; у пациентов с МС такие связи отсутствовали.

Оценка содержания адипокинов (Рисунок 3) показала, что среднегрупповые уровни резистина были больше референса в 100 % случаев (32–50 пг/мл, референс – 5,0–6,6 пг/мл). Превышение верхнего референсного значения лептина (0,5–13,8 нг/мл) у лиц с ВБ от воздействия локальной вибрации отмечалось в 46 % случаев, что было статистически значимо больше, чем у работников, подвергавшихся комбинированному воздействию локальной и общей вибрации (18,8 % – в I; 8,8 % случаев – во II; $p = 0,003$). У лиц с ВБ,

обусловленной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, в сочетании с МС, были зарегистрированы более высокие среднегрупповые уровни адипонектина – 22,6 нг/л, чем у пациентов без МС. Данный показатель являлся информативным критерием для лиц с ВБ, обусловленной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации ($F = 4,5$; $p = 0,045$), по сравнению с пациентами с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации.

На втором этапе были изучены биомаркеры ДЭ. Известно, что ДЭ в условиях воздействия вредных факторов часто сопровождается увеличением продукции вазоконстрикторов и снижением образования вазодилаторов (Умнягина И.А. и др., 2021). В результате проведения исследований низкие концентрации метаболитов оксида азота, отражающих способность эндотелия к вазодилатации, были установлены в 78–95 % случаев. У лиц, подвергавшихся комбинированному воздействию локальной и общей вибрации, в сочетании с МС, было зарегистрировано статистически значимо наиболее низкое среднегрупповое содержание метаболитов оксида азота (20,4 мкмоль/л; $F = 6,3$; $p = 0,015$). При этом во всех группах отмечались высокие уровни предшественника вазоконстриктора ангиотензина-II – ангиотензина-I, в 100 % случаев превышающие референсные значения (383–488 пг/мл).

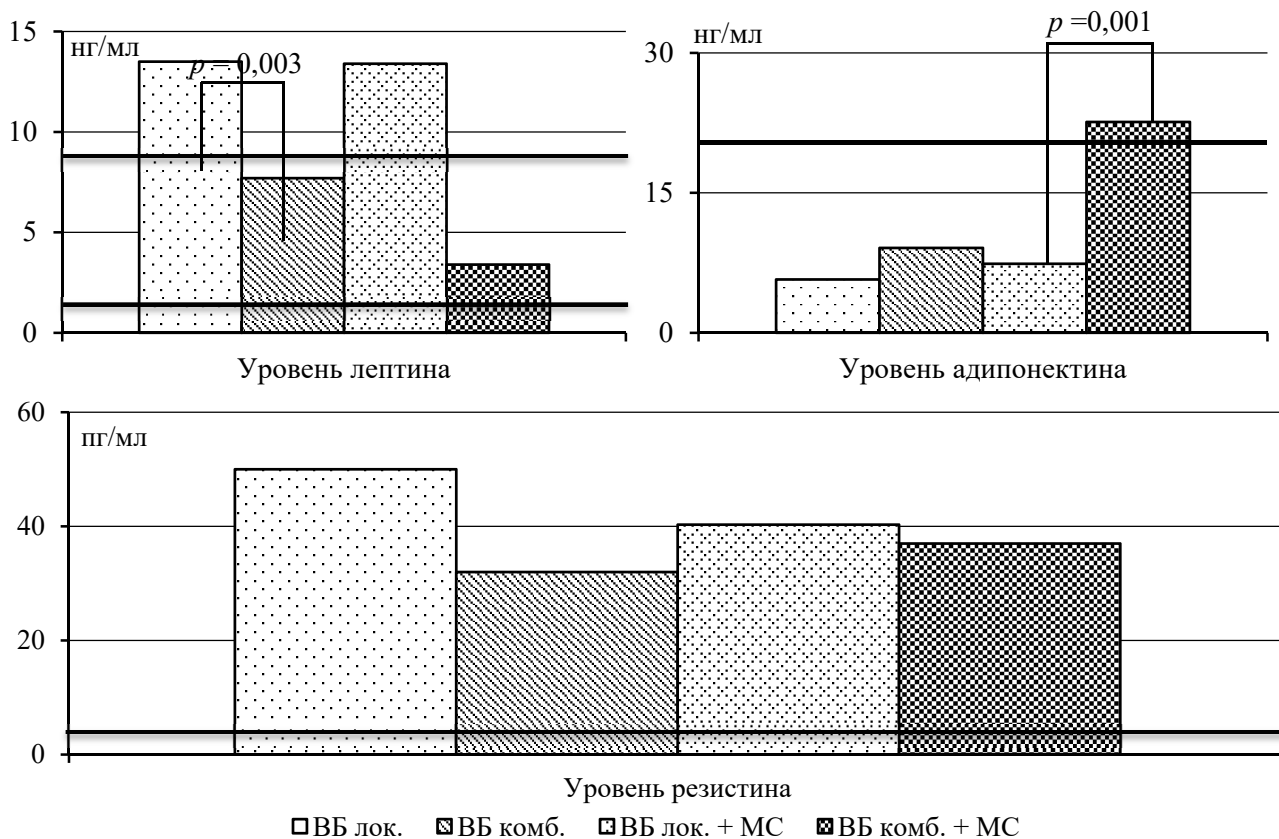


Рисунок 3 – Содержание гормонов жировой ткани в крови лиц с вибрационной болезнью, Med (Q25; Q75): — референсная граница

Анализ содержания маркеров проатерогенных нарушений установил, что в отсутствие коморбидной патологии среднегрупповой уровень ХС в группе лиц с ВБ от воздействия комбинированной вибрации, составлял 5,3 ммоль/л, что больше референса, а среднегрупповая концентрация ХС у пациентов с ВБ от воздействия локальной вибрации была близка к референсной (5,1 ммоль/л). Лица с ВБ без наличия МС имели гипертриглицеридемию в 15–16 % случаев. Дислиппротеинемия проявлялась у пациентов с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации, без МС, повышением концентрации ХС ЛПНП в 23,7 % случаев и снижением содержания ХС ЛПВП у 13,2 % лиц. У пациентов с ВБ, вызванной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, в отсутствие коморбидной

патологии, отклонения данных показателей встречались в 36,4 и 18,2 % случаев, соответственно. Высокий индекс атерогенности у обследованных без МС отмечался в 23,3–26,3 % случаев. В то же время, среднегрупповые показатели содержания окисленных липопротеинов низкой плотности были выше референсного значения у всех пациентов с ВБ; у лиц с МС, подвергавшихся воздействию локальной вибрации, была показана наибольшая доля превышения референса антител к окисленным липопротеинам (98 %; $p = 0,001$).

Проведенный подсчет тромбоцитов и оценка тромбокрита не выявили межгрупповых статистически значимых различий, а среднегрупповые показатели находились в пределах референсного интервала (количество тромбоцитов – 243–267 на $10^9/л$; тромбоцит 0,21–0,23 %). Оценка агрегационной активности тромбоцитов позволила установить снижение ответной реакции в ответ на введение индуктора (Рисунок 4). Корреляционные связи показали параллельное снижение агрегационной функции тромбоцитов на начальной, обратимой и необратимой стадиях агрегации ($R = 0,68$, $R = 0,49$, $R = 0,39$ соответственно; $p < 0,05$). У обследованных лиц с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации, в сочетании с МС показатели ИАТ принимали значения ниже референсной границы, установленной для АДФ 5,0 мкМ/л, в 100 % случаев.

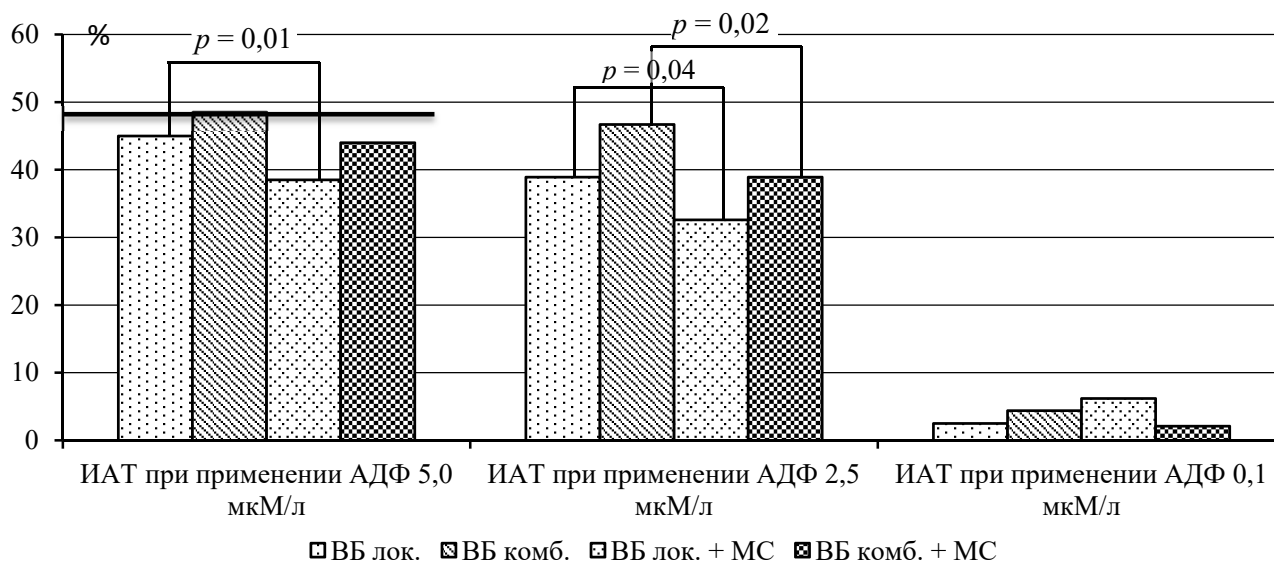


Рисунок 4 – Показатели индуцированной агрегационной активности тромбоцитов у лиц с ВБ, Med (Q25; Q75): — верхняя референсная граница

Установлено, что у лиц с вибрационной болезнью отмечалось изменение относительного содержания ряда специфических естественных аутоантител (ауто-АТ) (Таблица 2). В группе лиц с ВБ, обусловленной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, содержание ауто-АТ к антигенам тромбоцитов Trm-03 было статистически значимо выше, чем у пациентов с ВБ, вызванной воздействием локальной вибрации (15,4 % и 0,0 %, соответственно; $p = 0,01$). Подобное соотношение было характерно и для групп пациентов с ВБ и МС (11,9 % и 3,7 %, соответственно; $p = 0,07$), что указывает на изменение свойств тромбоцитов у лиц с ВБ от комбинированного воздействия локальной и общей вибрации. Повышение содержания ауто-АТ Trm-03 коррелировало со снижением агрегационной способности (ИАТ, размер агрегатов) ($R = -0,90$ в группе ВБ от воздействия локальной вибрации, без МС и $R = -0,67$ у лиц с ВБ от комбинированного воздействия локальной и общей вибрации, с МС; $p < 0,05$). Установлено, что уровень ауто-АТ Trm-03 являлся информативным критерием для лиц с ВБ, вызванной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации ($F = 3,9$; $p = 0,049$), по сравнению с пациентами с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации. В отношении аутоантител к ANCA статистически значимых различий установлено не было.

Таблица 2 – Частота встречаемости отклонений уровней специфических аутоантител от референса у лиц с ВБ, % [ДИ]

Показатель	Отклонение от референса	Группа I ВБ лок. (n = 44)	Группа II ВБ комб. (n = 33)	Группа III ВБ лок. + МС (n = 62)	Группа IV ВБ комб. + МС (n = 102)
Ауто-АТ к антигенам тромбоцитов Trm-03, %	Выше	0,0 [0,0–2,2]	15,4 [0,0–30,7]*	3,7 [0,0–10,0]	11,9 [4,7–19,1]**
	Ниже	13,3 [1,0–25,6]	23,1 [5,8–40,5]	22,2 [10,3–34,1]	16,6 [8,4–24,8]
Ауто-АТ к ANCA, %	Выше	6,6 [0,0–16,1]	7,7 [0,0–19,8]	18,5 [7,3–29,7]	19,0 [10,4–27,5]
	Ниже	0,0 [0,0–2,2]	23,1 [5,8–40,5]	0,0 [0,0–1,6]	14,2 [6,5–21,9]
Ауто-АТ к коллагену, %	Выше	60,0 [43,3–76,7]	27,2 [9,0–45,4]	30,0 [17,0–43,0]	14,2 [6,5–21,9]
	Ниже	6,7 [0,0–16,3]	0,0 [0,0–3,0]	0,0 [0,0–1,6]	2,4 [0,0–6,3]
Ауто-АТ к бета2-гликопротеину-1, %	Выше	100,0 [97,8–100,0]	54,0 [34,0–74,0]	70,4 [57,5–83,3]	83,5 [75,3–91,7]
	Ниже	0,0 [0,0–2,2]	0,0 [0,0–3,0]	0,0 [0,0–1,6]	0,0 [0,0–1,0]
Ауто-АТ к eNOS, %	Выше	6,7 [0,0–16,3]	7,7 [0,0–19,8]	22,2 [10,3–34,1]^**	9,5 [2,8–16,2]
	Ниже	13,3 [1,0–25,6]	7,7 [0,0–19,8]	18,5 [7,3–29,7]	16,6 [8,4–24,8]
Ауто-АТ к плазмину, %	Выше	0,0 [0,0–2,2]	0,0 [0,0–3,0]	7,4 [0,0–15,5]	14,3 [6,5–22,1]
	Ниже	13,3 [1,0–25,6]	23,1 [5,8–40,5]	22,2 [10,1–33,9]	9,5 [2,8–16,2]
Ауто-АТ к RAPR-A, %	Выше	6,7 [0,0–16,3]	38,5 [19,0–58,1]*	33,3 [20,0–46,6]^	26,2 [16,7–35,7]
	Ниже	0,0 [0,0–2,2]	0,0 [0,0–3,0]	0,0 [0,0–1,6]	2,4 [0,0–6,3]

Примечание: * – различия статистически значимы между I и II группами ($p < 0,0125$; ** – значения статистически значимы между III и IV группами ($p < 0,0125$); ^ – значения статистически значимы между I и III группами ($p < 0,0125$)

Показано, что наибольшая доля отклонений содержания ауто-АТ к коллагену, структурному компоненту сосудистой стенки, от верхнего референсного значения была зарегистрирована в группе с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации, без МС (60 %). Диагностическим критерием для пациентов с ВБ от воздействия локальной вибрации без МС, в сравнении с лицами с ВБ, обусловленной тем же видом вибрации, но с коморбидной патологией являлось высокое содержание ауто-АТ к коллагену ($F = 9,7$; $p = 0,003$).

Необходимо отметить, что для большинства обследованных всех групп было характерно превышение пограничного значения ауто-антител к бета2-гликопротеину-1 – маркеру антифосфолипидного синдрома (в группах с ВБ от воздействия локальной вибрации в 70–100 % случаев, от комбинированного воздействия локальной и общей вибрации – в 54–84 % случаев, соответственно) и снижение относительного содержания ауто-АТ к плазмину, компоненту фибринолитической системы (результаты ниже референса (–20 %) в 9,5–22,2 % случаев).

Установлено, что частота отклонений уровней ауто-АТ к синтазе оксида азота eNOS от референса у пациентов с ВБ от воздействия локальной вибрации в сочетании с МС составила 22,2 %, что статистически значимо выше, чем при воздействии той же вибрации в отсутствие МС (6,7 %; $p = 0,03$) и больше, чем в группе пациентов с ВБ, обусловленной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации в сочетании с МС (9,5 %; $p = 0,02$).

Выявленная доля отклонений уровней ауто-АТ к PAPP-A, металлопротеиназе, указывающей на наличие ДЭ и воспаления, от референса, у лиц с ВБ от комбинированного воздействия локальной и общей вибрации была почти в 6 раз больше, чем у лиц с ВБ от воздействия локальной вибрации (38,5 % и 6,7 % соответственно; $p = 0,001$). Пациенты с ВБ от воздействия локальной вибрации и МС характеризовались статистически значимым превышением пограничного значения содержания ауто-АТ к белку PAPP-A по сравнению с лицами, экспонированными той же вибрацией, но в отсутствие МС (33,3 % и 6,7 % соответственно; $p = 0,001$).

В группе пациентов с ВБ от воздействия локальной вибрации, без коморбидной патологии, были установлены корреляционные взаимосвязи между уровнем ауто-АТ к тромбоцитам и содержанием ауто-АТ к коллагену ($R = 0,5$; $p < 0,05$), а также уровнем ауто-АТ к плазмину ($R = 0,58$; $p < 0,05$). Известно, что коллаген активирует тромбоциты (Yang X., 2022), при этом в сосудах микроциркуляторного русла способны накапливаться сгустки фибрина и небольшие тромбы, которые удаляются путем фибринолиза. Процесс фибринолиза инициируется активатором тканевого плазминогена, содержащегося в тромбоцитах и эндотелии, который катализирует превращение плазминогена в плазмин (Coupland L.A., 2023). Мы можем предположить, что увеличение ауто-АТ к тромбоцитам и плазмину у лиц с ВБ от воздействия локальной вибрации обусловлено их выработкой в ответ на повреждение тромбоцитов.

У пациентов с ВБ, обусловленной тем же видом воздействующей вибрации, но в сочетании с МС, была зарегистрирована ассоциация содержания ауто-АТ к eNOS и уровня ауто-АТ к тромбоцитам ($R = 0,45$; $p < 0,05$), а корреляции, указанные выше, отсутствовали. В исследовании A. Gromotowicz-Poplawska показано, что вырабатываемый эндотелием NO способен ингибировать адгезию тромбоцитов и оказывать благоприятный эффект на состояние гемостаза (Gromotowicz-Poplawska A. et al., 2019). Можно предположить, что данный механизм регуляции гемостаза сохранялся у лиц с ВБ, вызванной воздействием локальной вибрации, в сочетании с МС.

Следует отметить, что у пациентов с МС были установлены отрицательные корреляции между уровнями ауто-АТ к Tgm-03 и ауто-АТ к бета2-гликопротеину-1 ($R = -0,70$, $R = -0,32$ для III и IV групп соответственно; $p < 0,05$). Известно, что в норме ауто-АТ к бета2-гликопротеину-1 регулируют активацию тромбоцитов через mTORC2-мишень рапамицинового комплекса/Akt путь (Tang Z., 2023), отрицательная корреляционная связь по отношению к ауто-АТ к тромбоцитам указывает на ингибирование этого процесса у лиц с ВБ и МС.

На третьем этапе был выполнен корреляционный анализ между маркерами эндотелиальной дисфункции и метаболических нарушений.

У пациентов с ВБ от комбинированного воздействия локальной и общей вибрации были отмечены отрицательная взаимосвязь уровня адипонектина со значениями ИА ($R = -0,34$ в IV группе; $p < 0,05$) и положительные корреляции его концентрации с уровнем ХС ЛПВП ($R = 0,46$ – во II; $R = 0,34$ – в IV группе; $p < 0,05$), которые могут объясняться имеющимися сведениями о том, что адипонектин посредством активации пути АТФ-связывающего кассетного транспортера (ABCA1), обеспечивающего синтез аполипопротеина А, компонента ЛПВП, может поддерживать оптимальное соотношение про- и антиатерогенных фракций холестерина за счет ускорения сборки частиц ХС ЛПВП (Matsuura F., 2007). При обследовании пациентов без МС были установлены разнонаправленные корреляционные связи между содержанием лептина и концентрацией холестерина в I и II группах ($R = 0,47$,

$R = -0,56$, соответственно; $p < 0,05$). Известно, что лептин может инициировать обратный транспорт холестерина за счет повышения экспрессии рецептора-мусорщика класса В типа 1 и рецептора ЛПВП в клетках печени, а также воздействовать на макрофаги, которые захватывают холестерин и переносят его в печень (Pereira S., 2021), при этом уровни лептина и холестерина повышаются. Анализ полученных корреляционных связей позволил предположить, что вышеуказанный механизм сохранялся у лиц с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации. При ВБ, вызванной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, вероятно, отмечалось его нарушение, что подтверждалось инверсией корреляционной связи.

Четвертая глава посвящена анализу производственной обусловленности метаболического синдрома и маркеров проатерогенных нарушений, который был выполнен в соответствии с Руководством Р 2.2.1766-03. Установлено, что метаболический синдром у пациентов с вибрационной болезнью диагностировался в 68 % случаев, в то время как по данным других исследований, проведенных в общей популяции, данный синдром встречался у 20–45 %, что свидетельствует о высокой степени обусловленности МС воздействием вибрации (OR = 4,9; RR = 2,1; EF = 52,4 %). Для изучения производственной обусловленности отдельных компонентов МС – маркеров проатерогенных нарушений, мы объединили всех лиц с ВБ в одну когорту, в которой были исследованы уровни ХС, ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП (Таблица 3).

Таблица 3 – Распределение частоты встречаемости отклонений от референса маркеров проатерогенных нарушений на 100 обследованных, % [ДИ]

Показатель		Группа ВБ ($n = 241$)	Группа сравнения ($n = 150$)
ХС	Доля результатов выше референса, % [ДИ]	65,5 [59,1–71,9]	56,7 [48,1–65,3]
ХС ЛПНП		40,0 [33,4–46,6]*	28,0 [20,2–35,8]
ТГ		38,0 [31,5–44,5]	31,3 [23,2–39,4]
ХС ЛПВП	Доля результатов ниже референса, % [ДИ]	18,5 [13,2–23,8]*	6,0 [2,0–10,5]

Примечание: * – различия статистически значимы, $p < 0,05$

Результаты проведенного анализа позволили установить высокую степень производственной обусловленности низких уровней ХС ЛПВП (RR = 3,1 (1,3–7,6); EF = 67 %), малую – для холестерина (EF = 14 %) и триглицеридов (EF = 17 %), близкую к средней для высокой концентрации ХС ЛПНП (EF = 29 %).

Кроме того, были установлены статистически значимые корреляционные связи биомаркеров метаболических нарушений и ДЭ с вибрационным фактором и стажем. Высокие уровни вибрации коррелировали с повышением титра ауто-АТ к бета2-гликопротеину-1 ($R = 0,57$) и коллагену ($R = 0,52$), концентрации ангиотензина-I ($R = 0,37$), общего ХС ($R = 0,39$), снижением уровня ауто-АТ к плазмину ($R = -0,69$) и гормона жировой ткани – адипонектина ($R = -0,30$). Была отмечена положительная ассоциация между стажем и радиусом агрегатов тромбоцитов при применении АДФ 2,5 мкМ/л в I группе ($R = 0,42$), отрицательная – между радиусом агрегатов тромбоцитов, полученных при применении индуктора той же концентрации, и уровнями общей вибрации во II группе ($R = -0,61$), что свидетельствует о влиянии производственных факторов на состояние гемостаза.

В пятой главе приведены результаты молекулярно-генетических исследований, позволивших установить полиморфные варианты генов, задействованные в формировании метаболических нарушений (LEPR, FABP2, PPARGC1A) и эндотелиальной дисфункции (eNOS, AGT), у лиц с ВБ. Так, для полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина LEPR (rs1137101) были получены статистически значимые генетические модели по переменным «Абдоминальное ожирение» ($p = 0,036$), «Высокие уровни общего холестерина» ($p = 0,007$), «Высокие уровни триглицеридов» ($p = 0,02$), «Высокие уровни ХС ЛПНП» ($p = 0,004$),

«Высокие уровни лептина» ($p = 0,05$). У пациентов с генотипом Arg/Arg были зарегистрированы статистически значимо более высокие уровни холестерина (5,6 ммоль/л), ХС ЛПНП (3,3 ммоль/л) и ТГ (1,5 ммоль/л), чем у носителей генотипов Gln/Gln (ХС – 4,7 ммоль/л, $p = 0,01$; ХС ЛПНП – 2,8 ммоль/л, $p = 0,03$; ТГ – 0,9 ммоль/л, $p = 0,005$) и Gln/Arg (ХС – 5,3 ммоль/л, $p = 0,02$; ТГ – 1,3 ммоль/л, $p = 0,003$).

Изучение полиморфизма Ala54Thr гена FABP2 (rs1799883) установило статистически значимую генетическую модель для переменной «Высокие уровни ХС ЛПНП» ($p = 0,005$). Также было отмечено, что обследованные с генотипом Thr/Thr характеризовались повышенным содержанием ХС (6,8 ммоль/л) и ХС ЛПНП (4,4 ммоль/л), что выше референса и статистически значимо отличалось от показателей лиц с генотипами Ala/Ala (ХС – 5,3 ммоль/л, $p = 0,01$; ХС ЛПНП – 2,9 ммоль/л, $p = 0,01$) и Ala/Thr (ХС – 5,1 ммоль/л, $p = 0,03$; ХС ЛПНП – 3,2 ммоль/л, $p = 0,04$). В то же время не было установлено связи полиморфных вариантов гена FABP2 с абдоминальным ожирением.

Исследованный полиморфизм Gly482Ser гена коактиватора рецептора пролифератора пероксисом PPARGC1A (rs8192678) кодирует последовательность аминокислот белка PGC1A, который в большом количестве синтезируется в бурой ткани. PGC1A играет важную роль в терморегуляции посредством стимуляции митохондрий, активируя окисление жирных кислот. В группе пациентов с вибрационной болезнью генотип Gly/Ser встречался у 54,1 % пациентов. Для данного генотипа была получена статистически значимая генетическая модель по переменной «Абдоминальное ожирение» ($p = 0,0026$).

Отмечено, что у пациентов с генотипом Asn298Asn полиморфизма Gln298Asn гена синтазы оксида азота eNOS в 85 % случаев относительное содержание аутоантител к eNOS было ниже установленного референсного значения, в то время как у 88 % обследованных с нормальным генотипом Glu298Glu их уровень находился в пределах нормы (Рисунок 5).

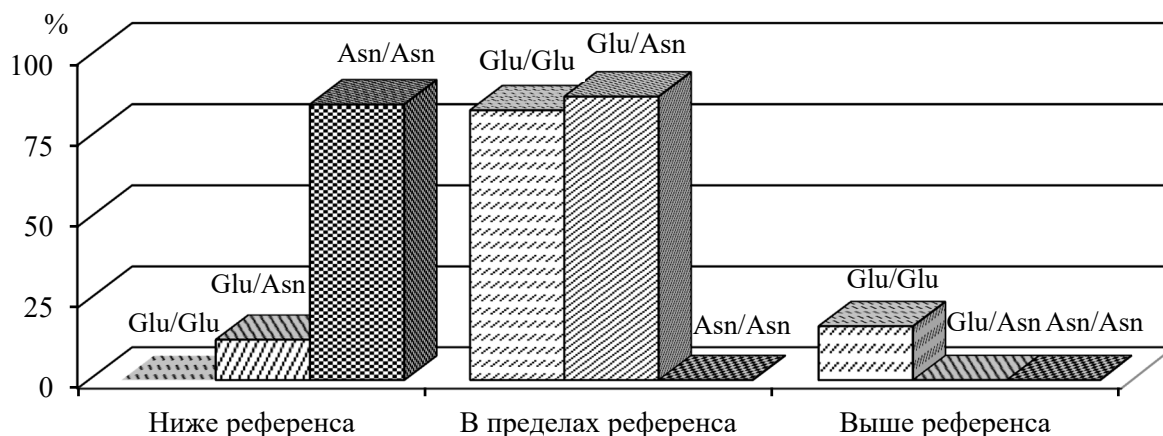


Рисунок 5 – Распределение лиц с различными генотипами полиморфизма Glu298Asn гена eNOS относительно содержания ауто-АТ к eNOS (%): Glu/Glu – доля лиц с гомозиготным генотипом по аллелю Glu; Glu/Asn – доля лиц с гетерозиготным генотипом; Asn/Asn – доля лиц с гомозиготным генотипом по аллелю Asn

У лиц с ВБ, имевших мутантный генотип Met174Met и гетерозиготный генотип Thr174Met полиморфизма Thr174Met гена ангиотензиногена AGT (rs4762), в 100 % случаев отмечались высокие уровни аутоантител к ANCA – цитоплазматическому компоненту нейтрофилов и клеткам сосудистого эндотелия, что может указывать на роль мутантного аллеля 174Met в формировании сосудистых нарушений через воспаление (Рисунок 6).

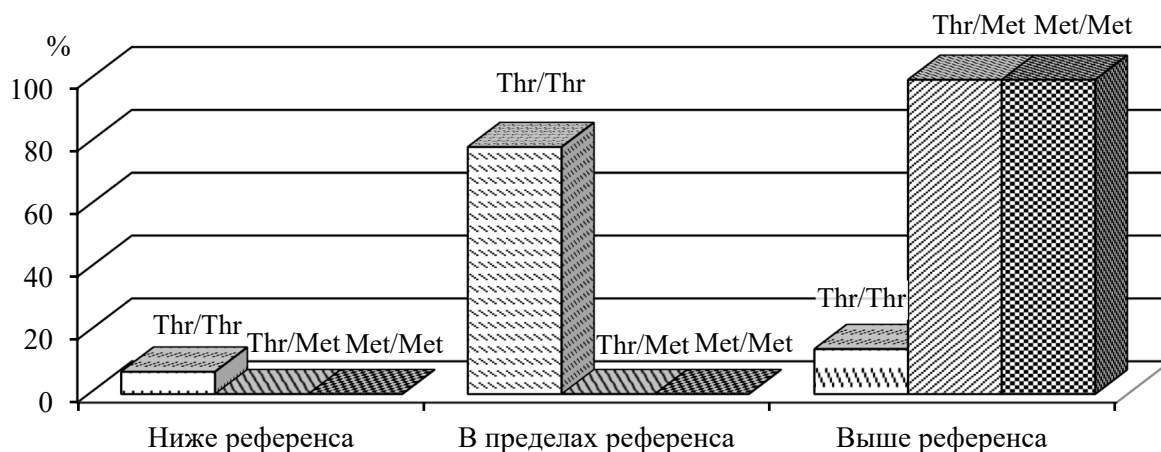


Рисунок 6 – Распределение лиц с различными генотипами полиморфизма Thr174Met гена ANG относительно содержания ауто-АТ к ANCA (%): Thr/Thr – доля лиц с гомозиготным генотипом по аллелю Thr; Thr/Met – доля лиц с гетерозиготным генотипом; Met/Met – доля лиц с гомозиготным генотипом по аллелю Asn

Результаты корреляционного анализа показали, что у лиц-носителей неблагоприятных аллелей генов LEPR, FABP2, PPARGC1A были отмечены ассоциации концентраций ХС ЛПНП с уровнями локальной и общей вибрации ($R = 0,38$; $R = 0,17$, $R = 0,21$ соответственно), что можно объяснить возможным эпигенетическим влиянием вибрации на экспрессию генов, отвечающих за синтез данного маркера. У лиц с нормальным вариантом вышеперечисленных полиморфизмов корреляционные связи такого типа выявлены не были.

В шестой главе представлены результаты анализа клинических проявлений ВБ и характерных для них биохимических и молекулярно-генетических маркеров. В большинстве случаев ВБ сопровождалась развитием периферического ангиодистонического синдрома (АС) в виде вегетативно-сосудистых расстройств (Таблица 4).

Таблица 4 – Основные клинические проявления вибрационной болезни, % [ДИ]

Клиническая форма	I группа ВБ лок. ($n = 44$)	II группа ВБ комб. ($n = 33$)	III группа ВБ лок. + МС ($n = 62$)	IV группа ВБ комб. + МС ($n = 102$)
Ангиодистонический синдром	60,5 [43,8–77,2]	71,0 [52,5–89,5]	60,0 [46,2–73,8]	62,0 [51,6–72,4]
Умеренно выраженная полиневропатия	64,9 [48,6–81,2]	83,7 [68,1–99,3]	89,0 [79,6–98,4]	92,8 [86,8–98,8]
Нерезко выраженная полиневропатия	35,1 [18,8–51,4]	16,3 [0,7–31,8]	11,0 [1,6–20,4]	7,2 [1,2–13,2]

Показано, что у лиц с ангиодистоническим синдромом (Таблица 5) отмечались более низкие уровни метаболитов оксида азота ($F = 7,7$; $p = 0,006$), чем в его отсутствие, при этом их наименьшая среднегрупповая концентрация наблюдалась у обследованных с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации (20,9 ммоль/л; $p = 0,0041$). У лиц с ангиодистоническим синдромом, ВБ от комбинированного воздействия локальной и общей вибрации, и МС, отмечалось более высокое относительное содержание ауто-АТ к eNOS ($F = 5,6$; $p = 0,023$), по сравнению с лицами без АС. В таблице 5 представлены средние уровни биомаркеров ДЭ, отражающих основные проявления ангиодистонического синдрома у лиц с МС.

Таблица 5 – Показатели биомаркеров эндотелиальной дисфункции у лиц с ангиодистоническим синдромом

	ВБ лок. + МС + АС	ВБ лок. + МС без АС	<i>p</i>		ВБ комб. + МС + АС	ВБ комб. + МС без АС	<i>p</i>
Размер агрегатов тромбоцитов (АДФ 5,0 мкМ/л), мкм	10,4	8,0	0,035	Ауто-АТ к РАРР-А, %	54,3	8,3	0,018
ИАТ (АДФ 2,5 мкМ/л), %	37,7	30,0	0,0041				

Установлено, что умеренно выраженная полиневропатия верхних конечностей встречалась у лиц с ВБ и МС чаще, чем ее нерезко выраженная форма ($p = 0,003$). Согласно результатам дискриминантного анализа, у лиц с умеренно выраженной полиневропатией отмечались более высокие уровни холестерина ($F = 5,36$; $p = 0,025$), холестерина ЛПНП ($F = 7,72$; $p = 0,008$), триглицеридов ($F = 5,0$; $p = 0,031$) и ИА ($F = 5,6$; $p = 0,02$), по сравнению с пациентами с нерезко выраженной полиневропатией. Нерезко выраженная полиневропатия отличалась повышением относительного содержания бета2-гликопротеина-1 ($F = 3,3$; $p = 0,046$). Остальные клинические проявления ВБ в виде компрессионной ишемии локтевого нерва (0,0–4,1 %), деформирующего остеоартроза локтевых суставов (9,1–15,5 %), плечелопаточного периартроза (5,2–13,0 %), миопатологии (1,8–9,7 %) встречались в небольшом числе случаев и не имели статистически значимых различий между группами.

Нами также было проведено сопоставление показателей ДЭ в зависимости от наличия/отсутствия мутантного аллеля в когортах лиц с различными клиническими проявлениями ВБ. В группе лиц-носителей минорного аллеля 298Asn гена eNOS (rs1799983), имеющих ангиодистонический синдром, были зарегистрированы большие по размеру агрегаты тромбоцитов при применении индуктора АДФ с концентрацией 5,0 мкМ/л, в отличие от носителей нормального полиморфного варианта (6,4 мкм и 3,0 мкм, соответственно; $p = 0,001$). При этом лица-носители неблагоприятных аллелей генов eNOS (Glu298Asn, rs1799983) и AGT (Met235Thr, rs699), имевшие ангиодистонический синдром, характеризовались большей ИАТ при использовании индуктора АДФ с концентрацией 0,1 мкМ/л (6,0 % и 3,0 % – для носителей минорного аллеля полиморфизма Glu298Asn, $p = 0,049$; 4,7 % и 1,0 % – для носителей минорного аллеля полиморфизма Met235Thr, $p = 0,045$). Установленные выше ассоциации свидетельствовали о вкладе генетического фактора в формирование нарушений гемостаза у лиц с периферическим ангиодистоническим синдромом.

В заключении проведено обобщение выявленных особенностей и закономерностей в содержании вазоактивных, проатерогенных, тромбоцитарных, иммунологических маркеров в зависимости от наличия МС и вида воздействующей вибрации, ассоциации молекулярно-генетических показателей с проявлениями дисфункции эндотелия и метаболическими нарушениями. Установлена производственная обусловленность метаболического синдрома и предикторов проатерогенных изменений. Доказан вклад производственного и генетического факторов в формирование эндотелиальной дисфункции и метаболических нарушений у лиц с ВБ. Установлена ассоциация клинических проявлений вибрационной болезни с биохимическими и молекулярно-генетическими показателями.

Определение маркеров, уровень которых изменяется уже на начальных стадиях заболевания, позволяет своевременно проводить профилактические мероприятия, диагностировать и осуществлять коррекцию нарушений при профессиональных и производственно-обусловленных заболеваниях. Полученные данные определяют актуальность исследования маркеров ДЭ и метаболических нарушений среди лиц с ВБ с целью выявления начальных клинических признаков профессионального заболевания и сосудистой

патологии, указывают на необходимость определения данных маркеров при проведении медицинских осмотров, а также могут применяться в деятельности врачей-профпатологов, эндокринологов, терапевтов и гигиенистов. Изложенные результаты исследования позволили сформулировать выводы и рекомендации для практического здравоохранения.

Перспективы дальнейшего исследования проблемы состоят в возможности более глубокого изучения патогенетических механизмов, обуславливающих изменение уровней маркеров ДЭ и метаболических нарушений у пациентов с ВБ, в том числе эпигенетических. Возможен дополнительный анализ неизученных в настоящем исследовании компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, ростовых факторов эндотелия и молекул адгезии, молекулярно-генетических маркеров (ACE, AGTR1, PNACTR1 и т.д.). Считаем актуальным выполнить исследование, аналогичное проведенному, в группе лиц с ВБ, обусловленной воздействием общей вибрации.

ВЫВОДЫ

1. Одним из общих проявлений метаболических нарушений при вибрационной болезни, вне зависимости от вида воздействующей вибрации, является повышение содержания окисленных ЛПНП и резистина; при воздействии локальной вибрации – высокие уровни лептина и титра аутоантител к окисленным липопротеинам и рецептору инсулина, при комбинированном воздействии локальной и общей вибрации и метаболическом синдроме – адипонектина и аутоантител к инсулину.

2. Общей закономерностью проявлений эндотелиальной дисфункции для лиц с вибрационной болезнью, обусловленной воздействием как локальной вибрации, так и комбинированном воздействии локальной и общей вибрации, вне зависимости от наличия метаболического синдрома, является дисбаланс вазоактивных веществ: активация вазоконстрикции (повышение содержания ангиотензина I) и ослабление вазодилатации (снижение концентрации метаболитов оксида азота), повышение титра аутоантител к фосфолипидам мембран (аутоантител к бета2-гликопротеину-1), снижение выработки аутоантител к плазмину и нарушение агрегационной способности тромбоцитов.

3. Для пациентов с вибрационной болезнью, обусловленной комбинированным воздействием локальной и общей вибрации, диагностическими критериями являются высокие уровни адипонектина ($F = 4,5; p = 0,045$) и аутоантител к тромбоцитам ($F = 3,9; p = 0,049$); при присоединении коморбидной патологии – снижение концентрации метаболитов оксида азота ($F = 6,3; p = 0,015$), для воздействия локальной вибрации характерно повышение содержания аутоантител к коллагену ($F = 9,7; p = 0,003$). У лиц с вибрационной болезнью, обусловленной воздействием локальной вибрации, нарушение тромбоцитарной функции в отсутствие коморбидной патологии сопровождается наработкой аутоантител к плазмину ($R = 0,58$), при наличии метаболического синдрома – повышением титра аутоантител к eNOS ($R = 0,45$).

4. Для лиц с вибрационной болезнью характерны: высокая степень производственной обусловленности метаболического синдрома ($EF = 52,4\%$) и сниженного уровня ХС ЛПВП ($EF = 67\%$), средняя – для высокой концентрации ХС ЛПНП ($EF = 29\%$), малая – для холестерина ($EF = 14\%$) и триглицеридов ($EF = 17\%$). Отмечена связь высоких уровней вибрации с концентрациями некоторых маркеров эндотелиальной дисфункции (ангиотензин-I ($R = 0,37$), аутоантитела к бета2-гликопротеину-1 ($R = 0,57$), коллагену ($R = 0,52$), плазмину ($R = -0,69$) и метаболических нарушений (адипонектин ($R = -0,30$)).

5. У пациентов с вибрационной болезнью лица-носители неблагоприятных генотипов полиморфизма Glu223Arg гена LEPR и Ala54Thr гена FABP2 характеризуются повышенными уровнями общего холестерина ($p = 0,007; p = 0,01$) и ХС ЛПНП ($p = 0,004; p = 0,005$). Для носителей патологических полиморфных вариантов Glu223Arg гена LEPR характерны повышенные уровни триглицеридов ($p = 0,02$) и гормона жировой ткани лептина ($p = 0,05$). Абдоминальное ожирение у пациентов с вибрационной болезнью ассоциировано с генотипами Gln/Arg полиморфизма Gln223Arg гена LEPR и Gly/Ser полиморфизма

Gly482Ser гена PPARGC1A. Уровни локальной и общей вибрации у лиц-носителей неблагоприятных генотипов (Gly482Ser гена PPARGC1A, Gln223Arg гена LEPR, Ala54Thr гена FABP2) ассоциированы с ХС ЛПНП ($R = 0,38$; $R = 0,17$; $R = 0,21$).

6. Метаболический синдром не приводит к увеличению частоты встречаемости периферического ангиодистонического синдрома (60–62 %) и нарушений опорно-двигательного аппарата (9,1–15,5 %) у лиц с вибрационной болезнью, вне зависимости от вида воздействующей вибрации, но ассоциирован со степенью выраженности полиневропатии (89–93 %).

7. У лиц с ангиодистоническим синдромом отмечаются более низкие уровни метаболитов оксида азота, чем в его отсутствие ($F = 7,7$; $p = 0,006$), при этом их наименьшая среднегрупповая концентрация наблюдалась у обследованных с ВБ, обусловленной воздействием локальной вибрации ($p = 0,0041$). Пациенты с установленными ангиодистоническим и метаболическим синдромами, при комбинированном воздействии локальной и общей вибрации, характеризуются более высоким относительным содержанием ауто-АТ к eNOS ($F = 5,6$; $p = 0,023$), в отсутствие метаболического синдрома – повышенными среднегрупповыми уровнями ауто-АТ к PAPP-A ($p = 0,018$). У лиц-носителей минорных аллелей полиморфизмов Glu298Asn гена eNOS и Met235Thr гена AGT при наличии периферического ангиодистонического синдрома отмечаются изменения в виде увеличения агрегационной функции и размера агрегатов тромбоцитов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется расширить программу предварительных и периодических медицинских осмотров лиц, подвергающихся воздействию локальной вибрации и комбинированному воздействию локальной и общей вибрации, с включением исследования показателей липидограммы с целью выявления метаболических нарушений и их профилактики.

2. Предлагается включить в план обследования пациентов с вибрационной болезнью, осложненной метаболическим синдромом, определение маркеров повреждения сосудистой стенки (бета2-гликопротеин-1, плазмин) и агрегации тромбоцитов с целью проведения корректирующей терапии.

3. Выявленный комплекс молекулярно-генетических маркеров регуляции сосудистого тонуса (Glu298Asn гена eNOS (rs1799983), Thr174Met гена ANG (rs4762)), адипокинов и их рецепторов (Gln223Arg гена LEPR (rs1137101), Gly482Ser гена PPARGC1A (rs8192678), Ala54Thr гена FABP2 (rs1799883)) может использоваться для дополнительной оценки индивидуального риска развития сосудистых и метаболических нарушений среди лиц, подвергающихся воздействию вибрации.

4. Патогенетические особенности метаболизма липидов для лиц-носителей неблагоприятного генотипа Gly482Ser гена PPARGC1A (rs8192678) позволяют врачу-профпатологу выявить группы риска формирования метаболических нарушений, а врачу-диетологу дать персонализированные рекомендации по питанию, что отражено в разработанном и защищенном патентом способе оценки риска развития абдоминального ожирения у лиц с вибрационной болезнью и соответствующей медицинской технологии.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы научных конференций

1. **Chistova, N. P.** The role of candidate gene polymorphisms in the formation of vascular pathology and metabolic disorders / N. P. Chistova // Science Present and Future: Research Landscape in the 21st century. Multidisciplinary youth academic research conference (Irkutsk, May 29, 2020). – Irkutsk, 2020. – P. 27–29.

2. Masnavieva, L. Markers of oxidative and atherogenic processes in individuals with hand-arm vibration syndrome and metabolic disorders / L. Masnavieva, I. Kudaeva, **N. Chistova** // *Bioinformatics of genome regulation and structure/systems biology (BGRS/Sb-2020): The Twelfth International Multiconference Abstracts (Novosibirsk, July 6–10, 2020)*. – Novosibirsk : Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, 2020. – P. 479–480. – DOI: 10.18699/BGRS/SB-2020-294

3. **Chistova, N. P.** Markers of endothelium dysfunction in individuals with vibration disease and metabolic syndrome / N. P. Chistova // *Science Present and Future: Research Landscape in the 21st century. Multidisciplinary youth academic research conference (Irkutsk, May 19, 2021)*. – Irkutsk, 2021. – P. 16–20. – DOI: 10.54696/isc_46210153

4. **Chistova, N. P.** Lipid metabolism markers in patients with vibration disease and metabolic syndrome / N. P. Chistova, A. A. Lysenko // *Science Present and Future: Research Landscape in the 21st century: Multidisciplinary youth academic research conference (Irkutsk, May 18, 2023)*. – Irkutsk, 2023. – P. 7–8.

Статьи

1. Сравнительная оценка уровней кардиоспецифических аутоантител у лиц с профессиональной патологией, вызванной воздействием физических и химических факторов / Л. Б. Маснавијева, И. В. Кудеева, О. В. Наумова, **Н. П. Чистова** // *Гигиена и санитария*. – 2020. – Т. 99, № 10. – С. 1086-1092. – DOI: 10.47470/0016-9900-2020-99-10-1086-1092

2. Полиморфизм генов LEPR, PPARG и PPARGC1A и развитие метаболических нарушений у пациентов с вибрационной болезнью / Л. Б. Маснавијева, **Н. П. Чистова**, О. В. Наумова, И. В. Кудеева // *Гигиена и санитария*. – 2021. – Т. 100, № 7. – С. 711–716. – DOI: 10.47470/0016-9900-2021-100-7-711-716

3. **Чистова, Н. П.** Вибрационная болезнь: дозостажевые характеристики и особенности клинической картины при воздействии локальной вибрации и сочетанном воздействии локальной и общей вибрации / **Н. П. Чистова**, Л. Б. Маснавијева, И. В. Кудеева // *Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО*. – 2021. – Т. 29, № 12. – С. 30–35. – DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-30-35

4. Окислительный метаболизм липопротеинов у лиц с вибрационной болезнью и метаболическими нарушениями / Л. Б. Маснавијева, И. В. Кудеева, К. А. Авраменко, **Н. П. Чистова** // *Экология человека*. – 2021. – № 10. – С. 51–56. – DOI: 10.33396/1728-0869-2021-10-51-56

5. Анализ ассоциаций полиморфизмов генов PPARGC1A и PPARG с метаболическим синдромом у лиц с вибрационной болезнью / Л. Б. Маснавијева, И. В. Кудеева, О. А. Дьякович, **Н. П. Чистова** // *Якутский медицинский журнал*. – 2021. – № 1(73). – С. 18–21. – DOI: 10.25789/УМЖ.2021.73.05

6. **Чистова, Н. П.** Роль полиморфизмов генов-кандидатов эндотелиальной дисфункции и метаболических нарушений в развитии сердечно-сосудистых заболеваний при воздействии производственных факторов / Н. П. Чистова // *Медицина труда и промышленная экология*. – 2022. – Т. 62, № 5. – С. 331–336. – DOI: 10.31089/1026-9428-2022-62-5-331-336

7. Кудеева, И. В. Агрегационная функция тромбоцитов у лиц с вибрационной болезнью / И. В. Кудеева, **Н. П. Чистова** // *Медицина труда и промышленная экология*. – 2023. – Т. 63, № 1. – С. 61–66. – DOI: 10.31089/1026-9428-2023-63-1-61-66

Объекты интеллектуальной собственности

1. Способ оценки риска развития абдоминального ожирения у лиц с вибрационной болезнью, обусловленной воздействием локальной вибрации: Патент № 2783252 С1 Российская Федерация; МПК G01N 33/58, C12Q 1/6806, C12Q 1/686 / Маснавијева Л. Б., **Чистова Н. П.**, Кудеева И. В.; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Ala – аланин
ANCA – компонент сосудистого эндотелия
ANG – ангиотензиноген
Asn – аспарагин
eNOS – ген синтазы оксида азота
FABP2 – ген переносчика жирных кислот
Gln – глутамин
LEPR – ген рецептора лептина
NO – оксид азота
PGC1A - коактиватор рецептора пролифератора пероксисом
PPARGC1A – ген коактиватора рецептора пролифератора пероксисом
Thr – треонин
АДФ – аденозиндифосфат
АС – ангиодистонический синдром
ауто-АТ – аутоантитела
ВБ – вибрационная болезнь
ДЭ – дисфункция эндотелия
ИА – индекс атерогенности
ИАТ – индуцированная агрегация тромбоцитов
МС – метаболический синдром
окЛПНП – окисленные липопротеины низкой плотности
ТГ – триглицериды
ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности

Подписано в печать 19.04.2024. Бумага офсетная. Формат 60×84¹/₁₆.
Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 1,0
Тираж 100 экз. Зак. № 016-24.

РИО ИНЦХТ
(Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел. 29-03-37. E-mail: arleon58@gmail.com)