

Часть 2

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-9-611-619>

УДК 616.1-07:616.24-057(571.17)

Коллектив авторов, 2021

Казицкая А.С.¹, Бондарев О.И.^{1,2}, Бугаева М.С.^{1,2}, Жукова А.Г.^{1,3}, Ядыкина Т.К.¹**Морфометрические и генетические исследования механизмов повреждения сердечно-сосудистой системы у шахтёров Кузбасса с пылевой патологией легких**¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», ул. Кутузова, 23, Новокузнецк, Россия, 654041;²Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей — филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, пр-т Строителей, 5, Новокузнецк, Россия, 654005;³Новокузнецкий институт (филиал) ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», ул. Циолковского, 23, Новокузнецк, Россия, 654041

Введение. Комбинированное воздействие неблагоприятных факторов производственной среды приводит к развитию у шахтёров сочетанной патологии бронхолегочной и сердечно-сосудистой систем, предрасположенность к которой зависит от индивидуальной восприимчивости организма. В связи с этим важным является комплексное изучение патогенетических механизмов, лежащих в основе формирования и течения профессиональных и производственно обусловленных заболеваний, для персонализированного подхода к диагностике, профилактике и терапии данной патологии.

Цель исследования — на основе морфологических и генетических исследований изучить механизмы повреждения сердечно-сосудистой системы у шахтёров с пылевой патологией лёгких.

Материалы и методы. Для генетических исследований проведен забор венозной крови у 190 шахтёров Кузбасса. Основная группа — 126 горнорабочих основных профессий с ранее установленным диагнозом «пылевая патология легких», группа сравнения — 64 работника без установленного диагноза, трудящихся в аналогичных санитарно-гигиенических условиях. Морфометрические исследования осуществляли с использованием аутопсийного материала, полученного при проведении 80 судебно-медицинских экспертиз шахтёров Кемеровской области. Все горнорабочие были разделены на 4 группы в зависимости от подземного стажа. Группа контроля была сформирована из 20 случаев судебно-медицинских экспертиз мужчин, погибших при автодорожных катастрофах и не имевших по результатам вскрытий органной патологии.

Результаты. Исследование аутопсийного материала позволило выявить наличие морфоструктурных изменений в сосудистой стенке сердца шахтёров в виде гипертрофии гладкомышечных клеток медиального слоя, утолщения эндотелиальной выстилки, развития фибропластических изменений в периваскулярных зонах. Данные изменения начинали формироваться уже с первых лет работы в подземных условиях и прогрессировали с увеличением стажа, способствуя «перекалибровке» сосудов сердца с формированием «обструкции» просветов. Одним из механизмов повреждения эндотелия у шахтёров является изменение экспрессии гена *EDN1*, регулирующего синтез эндотелина-1. Выявлены генотипы риска и резистентности развития пылевой патологии лёгких для полиморфизма rs5370 гена *EDN1*. Морфоструктурная перестройка эндотелия в совокупности с его патологической активацией способствует возникновению дисфункции эндотелия у горнорабочих.

Выводы. Проведенные исследования параметров сосудистого эндотелия свидетельствуют о его ключевой роли в патогенезе бронхолегочной и сердечно-сосудистой патологии у шахтёров основных профессий. Попадая в организм рабочих, частицы угольно-породной пыли приводят к морфоструктурной перестройке клеток эндотелиального слоя и его патологической активации. Выявлен вклад молекулярно-генетических механизмов в развитие профессиональной патологии лёгких и сопутствующих ей болезней системы кровообращения у горнорабочих.

Этика. Исследования проведены с соблюдением этических стандартов биоэтического комитета Научно-исследовательского института комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний, разработанных на основе Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все рабочие были проинформированы об участии в молекулярно-генетическом исследовании и дали письменное согласие на его проведение. В основе исследований погибших шахтёров лежала вторичная экспертиза блоков и готовых гистологических микропрепаратов материала бюро судебно-медицинской экспертизы городов Новокузнецка, Осинники, Прокопьевска. Изучение патоморфологического материала осуществлялось в соответствии с Федеральным законом от 21.11.2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», в частности со статьёй 67 «Проведение патологоанатомических вскрытий», Федеральным законом от 12.01.1996 г. № 8-ФЗ «О погребении и похоронном деле» (статья 5 п. 1, 2), а также на основании Приказа Министерства здравоохранения от 29 апреля 1994 г. № 82 «О порядке проведения патологоанатомического вскрытия» (приложение к приказу Минздравмедпрома от 29.04.1994 г. № 82), Приказа Министерства здравоохранения России от 24.03. г. № 179н «О правилах проведения патологоанатомических исследований».

Ключевые слова: пылевая патология легких; эндотелий; параметры сосудистой стенки; генетические полиморфизмы

Для цитирования: Казицкая А.С., Бондарев О.И., Бугаева М.С., Жукова А.Г., Ядыкина Т.К. Морфометрические и генетические исследования механизмов повреждения сердечно-сосудистой системы у шахтёров Кузбасса с пылевой патологией легких. *Мед. труда и пром. экол.* 2021; 61(9): 611–619. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-9-611-619>

Для корреспонденции: Казицкая Анастасия Сергеевна, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, ФГБНУ «НИИ КПППЗ», канд. биол. наук. E-mail: anastasiya_kazitskaya@mail.ru

Участие авторов: Казицкая А.С., Жукова А.Г. — концепция и дизайн исследования;
 Бондарев О.И., Бугаева М.С. — сбор и обработка аутопсийного материала;
 Ядыкина Т.К., Каицкая А.С. — проведение генетических исследований;
 Казицкая А.С., Бугаева М.С. — статистическая обработка;
 Казицкая А.С. — написание текста;
 Бугаева М.С., Жукова А.Г. — редактирование.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления: 12.07.2021 / **Дата принятия к печати:** 28.09.2021 / **Дата публикации:** 20.10.2021

Anastasiya S. Kazitskaya¹, Oleg I. Bondarev^{1,2}, Maria S. Bugaeva^{1,2}, Anna G. Zhukova^{1,3}, Tatyana K. Yadykina¹

Morphometric and genetic studies of the mechanisms of damage to the cardiovascular system in Kuzbass miners with dust lung pathology

¹Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, 23, Kutuzova Str., Novokuznetsk, Russia, 654041;

²Novokuznetsk State Institute for Further Training of Physicians — Branch Campus of the "Russian Medical Academy of Continuous Professional Education", 5, Stroiteley Ave., Novokuznetsk, Russia, 654005;

³Novokuznetsk Institute (Branch Campus) of the Kemerovo State University, 23, Tsiolkovskogo Str., Novokuznetsk, Russia, 654041

Introduction. The combined impact of unfavorable factors of the production environment in miners leads to the development of associated pathology of the bronchopulmonary and cardiovascular systems, the predisposition to which depends on the individual susceptibility of the body. In this regard, it is important to comprehensively study the pathogenetic mechanisms underlying the formation and course of occupational and work-related diseases for a personalized approach to the diagnosis, prevention and therapy of this pathology.

The purpose of this study was to study the mechanisms of damage to the cardiovascular system in miners with dust lung pathology on the basis of morphological and genetic studies.

Materials and methods. For genetic studies, venous blood drawing was conducted in 190 Kuzbass miners. The main group included 126 miners of the main professions with the previously proven diagnosis "dust lung pathology", the comparison group consisted of 64 workers without a proven diagnosis working in similar sanitary and hygienic conditions. Morphometric studies were carried out using autopsy material obtained during 80 forensic medical examinations of miners in the Kemerovo region. All the miners were divided into 4 groups depending on their underground work experience. The control group was formed from 20 cases of forensic medical examinations of men who died in road accidents and did not have organ pathology according to the results of autopsies.

Results. The study of the autopsy material revealed the presence of morphostructural changes in the vascular walls of the miners' hearts in the form of hypertrophy of the smooth muscle cells of the medial layers, thickening of the endothelial lining, and the development of fibroplastic changes in the perivascular zones. These changes began to form from the first years of work in the underground conditions and progressed with increasing work experience contributing to the "recalibration" of the heart vessels with the formation of the lumen "obstruction". One of the mechanisms of endothelial damage in miners was a change in the expression of the EDN1 gene, which regulates the synthesis of endothelin-1. The risk and resistance genotypes of the development of dust lung pathology for the rs5370 polymorphism of the EDN1 gene were identified. Morphostructural rearrangement of the endothelium in the combination with its pathological activation contributed to the occurrence of endothelial dysfunction in miners.

Conclusions. The conducted studies of the parameters of the vascular endothelium indicate its key role in the pathogenesis of bronchopulmonary and cardiovascular pathology in miners of the main professions. Getting into the body of workers, particles of coal-rock dust lead to morphostructural rearrangement of the cells of the endothelial layer and its pathological activation. The contribution of molecular and genetic mechanisms to the development of occupational lung pathology and associated diseases of the circulatory system in miners is revealed.

Ethics. The studies were carried out in compliance with the ethical standards of the Bioethical Committee of the Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, elaborated on the basis of the Helsinki Declaration of the World Medical Association "Ethical Principles for Conducting Human Scientific Medical Research" as amended in 2013 and the "Rules of Clinical Practice in the Russian Federation" approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 266 dated 19.06.2003. All workers were informed about their participation in the molecular-genetic study and gave written consent to carry it out. The research of the dead miners was based on the secondary examination of blocks and ready-made histological micro-preparations of the material of the Bureau for Forensic Medical Expert Examination of the cities of Novokuznetsk, Osinniki, and Prokopyevsk. The study of pathomorphological material was carried out in accordance with the Federal Law of 21.11.2011, No. 323-FZ "On the Fundamentals of Health Protection of Citizens in the Russian Federation", in particular, with Article 67 "Carrying out pathological and anatomical autopsies", Federal Law of 12.01.1996, No. 8-FZ "On burial and funeral business" (Article 5, paragraphs 1, 2), as well as on the basis of the Order of the Ministry of Health of April 29, 1994, No. 82 "On the procedure for conducting pathological and anatomical autopsy" (Annex to the Order of the Ministry of Health and Medical Industry of 29.04.1994 No. 82), the Order of the Ministry of Health of Russia of 24.03.2016. No. 179n "On the rules for conducting pathological and anatomical examinations".

Keywords: dust lung pathology; endothelium; parameters of the vascular wall; genetic polymorphisms

For citation: Kazitskaya A.S., Bondarev O.I., Bugaeva M.S., Zhukova A.G., Yadykina T.K. Morphometric and genetic studies of the mechanisms of damage to the cardiovascular system in Kuzbass miners with dust lung pathology. *Med. truda i prom. ekol.* 2021; 61(9): 611–619. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-9-611-619>

For correspondence: Anastasiya S. Kazitskaya, senior researcher of the molecular-genetic and experimental studies laboratory, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Cand. of Sci. (Biol.). E-mail: anastasiya_kazitskaya@mail.ru

Information about the authors: Kazitskaya A.S. <https://orcid.org/0000-0001-8292-4810>
 Bondarev O.I. <https://orcid.org/0000-0002-5821-3100>
 Bugaeva M.S. <https://orcid.org/0000-0003-3692-2616>
 Zhukova A.G. <https://orcid.org/0000-0002-4797-7842>
 Yadykina T.K. <https://orcid.org/0000-0001-7008-1035>

Contribution: Kazitskaya A.S., Zhukova A.G. — the concept and design of the study;
Bondarev O.I., Bugaeva M.S. — collection and processing of autopsy material;
Yadykina T.K., Kazitskaya A.S. — carrying out genetic studies;
Kazitskaya A.S., Bugaeva M.S. — statistical processing;
Kazitskaya A.S. — writing the text;
Bugaeva M.S., Zhukova A.G. — editing.

Funding. The study had no funding.

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

Received: 12.07.2021 / Accepted: 28.09.2021 / Published: 20.10.2021

Введение. Сохранение и укрепление здоровья населения с целью повышения продолжительности активной жизни является ведущей задачей демографической политики Российской Федерации на период до 2025 года. Особое внимание уделяется здоровью трудоспособных лиц, вносящих основной вклад в социально-экономическое развитие страны [1].

Работники различных отраслей промышленности испытывают на себе комплексное воздействие неблагоприятных факторов окружающей и производственной среды, что способствует трансформации существующих профессиональных заболеваний и расширяет спектр производственно обусловленной патологии [2]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) выделено несколько групп производственно обусловленных заболеваний, требующих пристального изучения для определения вклада вредных факторов рабочей среды в их развитие. Кардиоваскулярные заболевания, такие как артериальная гипертензия (АГ) и ишемическая болезнь сердца (ИБС), являются многофакторными производственно обусловленными заболеваниями, смертность от которых, по данным специалистов Международной организации труда (МОТ) и ВОЗ, увеличивается при профессиональных рисках на 13% [3].

В угольной промышленности Кузбасса отмечается наиболее высокий уровень профессиональной и производственно обусловленной заболеваемости по сравнению с другими регионами РФ. В структуре заболеваемости работников данной отрасли одно из ведущих мест занимает пылевая патология органов дыхания.

Комбинированное воздействие неблагоприятных факторов производственной среды приводит к развитию у шахтёров сочетанной патологии бронхолёгочной и сердечно-сосудистой систем (ССС) [4].

Имеются сведения о формировании функциональных изменений СССР у горнорабочих [5, 6]. Однако данные о морфологических нарушениях сердечной мышцы и ее сосудов, а также о механизмах их формирования мало освещены в литературе и носят противоречивый характер. Недостаточно изучен вклад молекулярно-генетических механизмов в развитие сочетанной патологии лёгких у шахтёров. Вместе с тем многие авторы указывают на значимость проведения молекулярно-генетических исследований с определением биомаркеров индивидуальной восприимчивости организма к неблагоприятным промышленным факторам, дающих возможность выявления работников, предрасположенных к развитию профпатологии, и установления предельно допустимых концентраций содержания загрязнителей в воздухе рабочей зоны [7, 8].

В связи с этим важным является комплексное изучение патогенетических механизмов, лежащих в основе формирования и течения профессиональных и производственно обусловленных заболеваний, выявление наиболее значимых диагностических маркеров развития данной патологии с целью формирования групп повышенного риска и

организации своевременных персонифицированных профилактических мероприятий.

Цель исследования — на основе морфологических и генетических исследований изучить механизмы повреждения сердечно-сосудистой системы у шахтёров Кузбасса с пылевой патологией лёгких.

Материалы и методы. В клинике Научно-исследовательского института комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний (НИИ КПГПЗ) обследованы рабочие основных профессий шахт юга Кузбасса (проходчики, горнорабочие очистного забоя, машинисты горных выемочных машин) в возрасте от 39 до 58 лет. Обследование пациентов соответствовало этическим стандартам биоэтического комитета НИИ КПГПЗ, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Критериями включения в группу исследования являлись: мужской пол; русская национальность; работа в основных профессиях на угольных шахтах юга Кузбасса (горнорабочие очистного забоя, проходчики, машинисты горных выемочных машин); подземный стаж не менее 10 лет; клинически подтверждённый диагноз ППЛ; подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения считали: принадлежность к коренным или пришлым этносам; наличие психических расстройств; наличие злокачественных новообразований и аутоиммунных заболеваний; отказ подписать информированное согласие на участие в исследовании. Кроме того, в группе сравнения критерием исключения являлось наличие любой патологии бронхолёгочной системы, как профессионального генеза, так и общесоматической.

Для генетических исследований проведён забор венозной крови у 190 работников угольных шахт, среди которых 126 — с ранее установленным диагнозом пылевая патология лёгких (ППЛ), из них — 95 человек с хроническим пылевым бронхитом (ХПБ) и 31 человек с антракосиликозом (АС). Объединение двух нозологических форм в общую группу профессиональных заболеваний бронхолёгочной системы обосновано общим этиологическим фактором — длительным воздействием на рабочих высоких концентраций угольно-породной пыли (превышение ПДК до 35 раз). Группу сравнения (64 рабочих), обследуемую в рамках профилактического осмотра, составили лица без патологии бронхолёгочной системы, как профессионального генеза, так и общесоматической, работающие в тех же санитарно-гигиенических условиях. Обследованные группы рабочих сопоставимы по возрасту и стажу работы, разница между группами статистически незначима ($p > 0,05$). Средний стаж работы у работников с ППЛ составил $24,39 \pm 0,54$ года, в группе сравнения — $23,09 \pm 1,22$ года. Средний возраст у шахтёров с ППЛ — $48,34 \pm 0,55$ года, в группе сравнения — $46,36 \pm 0,67$ года.

Экстракцию ДНК осуществляли методом фенол-хлороформной очистки. Полиморфные варианты генов анализировали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (*Real-Time*) с использованием конкурирующих *TaqMan* зондов, комплементарных полиморфной последовательности ДНК, коммерческими наборами ООО «СибДНК» на ДТпрайм-4 ООО «НПО ДНК-Технология». Были изучены полиморфизмы генов, вовлечённых в регуляцию сосудистого тонуса, *EDN1* (*rs5370*) и *VEGFA* (*rs2010963*).

Для гистологического и морфометрического исследований использовали аутопсийный материал, полученный при проведении 80 судебно-медицинских экспертиз шахтёров Кемеровской области (средний возраст в основной группе — $39 \pm 6,7$ года). Все исследуемые шахтёры погибли во время работы в шахте при техногенных катастрофах. По результатам ежегодных периодических медицинских осмотров все шахтёры на момент работы были признаны абсолютно здоровыми и не имели хронических общесоматических заболеваний, что являлось критерием включения в основную группу исследования. На данном этапе отбора были исключены рабочие, имеющие заболевания, относящиеся к различным нозологическим группам, соответствующим МКБ-10. На втором этапе из этого числа шахтёров нами выбраны только те рабочие, которые по результатам вскрытий и гистологического исследования аутопсийного материала не имели признаков тканевой и органной патологии любой нозологической группы, в том числе изменения возрастного характера. Однако при гистологическом исследовании бронхолёгочной системы у этих шахтёров были выявлены признаки пылевой патологии органов дыхания различной степени выраженности, не имеющие клинических и рентгенологических проявлений. Все горнорабочие были разделены на 4 группы по продолжительности работы в подземных условиях: от 1 года до 5 лет ($n=20$), от 6 до 11 лет ($n=20$), от 12 до 20 лет ($n=20$), свыше 20 лет ($n=20$). Их профессии являлись основными в угледобывающей отрасли: проходчик, горнорабочий подземный, машинист горновыемочных машин, мастер участка. Группа контроля была сформирована из 20 случаев судебно-медицинских экспертиз мужчин г. Новокузнецка, погибших при автодорожных катастрофах в возрасте не старше 25 лет (средний возраст — $21,8 \pm 3,2$ года) и не имевших по результатам вскрытий органной патологии.

Стандартным способом готовили образцы тканей на гистологический анализ. Изучали участки сердечной мышцы правых и левых отделов сердца, а также межжелудочковой перегородки с пучками проводящей системы. В качестве фиксатора использовали 12% раствор формалина. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксином по методу Ван Гизона. Микроскопирование гистологических препаратов осуществлялось с помощью микроскопа *Olympus CX31 RBSF* (Германия) при увеличении окуляра $\times 10$ и объектива 20, 40 и 100 с водной и масляной иммерсией. Морфометрические измерения проводили с использованием программы *BioVision 4.0*. Оценивали диаметр каждого сосуда, на основании полученных результатов последние были разделены на 3 группы: 1 группа — сосуды диаметром до 50 микрон (мк), 2 группа — от 50 до 100 мк и 3 группа — от 100 до 250 мк. В сосудах оценивали толщину стенки, площадь клеток эндотелиального слоя, толщину периваскулярного фиброза. В образцах сердечной мышцы также оценивалась толщина кардиомиоцита.

Статистическая обработка данных проведена с использованием программного обеспечения *IBM SPSS Statistics 22* (лицензионный договор № 20/604/3–1 от 22.04.2016). Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью показателей эксцесса и асимметрии. Полученные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me (25%; 75%)). При отклонении распределения от нормального использовали непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни для попарного сравнения стажированных групп шахтёров с группой контроля. Критический уровень значимости (p) для отклонения нулевой гипотезы принимали равным 0,05. Множественные сравнения между группами проводили с помощью критерия Крускала–Уоллиса, являющегося непараметрической альтернативой однофакторного дисперсионного анализа. При обнаружении статистически значимых различий между группами проводилось парное сравнение совокупностей при помощи критерия Данна. Для определения связи порядковых признаков применяли ранговую корреляцию Спирмена. Соответствие фактического распределения полиморфных вариантов генов *VEGFA* и *EDN1* теоретически ожидаемому определяли согласно закону Харди–Вайнберга. Различия в распределении генотипов между больными с ППЛ и лицами группы сравнения оценивали с использованием χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Оценку значимости различий показателей проводили за счёт определения величины относительных шансов (*OR*) и границ доверительного интервала (95% *CI*).

Результаты и обсуждение. Сравнительный анализ данных показал, что вредные условия труда шахтёров способствуют развитию в стенке сосудов сердца морфологических изменений в виде её утолщения за счёт гипертрофии меди, эндотелиоза и периваскулярного фиброза. Данные нарушения регистрировались у лиц, имеющих стаж работы от 1 года до 5 лет, и прогрессировали с его увеличением, приводя к морфоструктурной трансформации сосудов.

Морфометрическое исследование сосудов сердечной мышцы шахтёров всех стажевых групп с последующей статистической обработкой полученных измерений показало значимые различия по исследуемым признакам с контрольной группой. С увеличением стажа работы во вредных условиях наблюдалось утолщение стенки большинства сосудов сердца (*табл. 1*).

В сердечной мышце обращали на себя внимание видимые изменения внутренней оболочки сосудов. С увеличением стажа наблюдалось статистически значимое увеличение в размерах эндотелиальных клеток с относительной гипертрофией ядерного компонента, гиперхромией ядер и их пролабированием в просвет сосудов. В отдельных сегментах сосудов эндотелиальные клетки формируют частоклообразные структуры, что, вероятно, может указывать на повышение функциональной активности данных клеток и является компенсаторной реакцией на ранних сроках. В периваскулярных зонах сосудов различного диаметра отмечено формирование фибропластических изменений, о характере которых можно судить по величине толщины периваскулярного фиброза (*табл. 2*).

Уже на сроке работы в 5 лет у шахтёров наблюдалось статистически значимое утолщение кардиомиоцитов по сравнению с контрольными показателями. Увеличение стажа работы во вредных условиях (6–11 лет) способствовало прогрессированию гипертрофии кардиомиоцитов с признаками значительного утолщения волокон относительно параметров контрольной группы (*табл. 2*).

Параметры стенки сосудов сердечной мышцы у шахтёров различных стажевых групп
Parameters of the vascular wall of the heart muscle in the miners of different work experience groups

Группа	Значение толщины стенки сосуда, мк		Значение площади эндотелиоцитов сосудов, мк ²	
	Me (25%;75%)	U-критерий Манна-Уитни, <i>p</i>	Me (25%;75%)	U-критерий Манна-Уитни, <i>p</i>
	Сосуды <i>d</i> =50–100 мк		Сосуды <i>d</i> =50–100 мк	
Контрольная группа	8,73 (8,26;9,34)	—	17,28 (11,47;31,64)	—
Шахтеры со стажем работы 1–5 лет	11,92 (10,16;14,6)	<i>U</i> =–5,79, <i>p</i> =0,001	39,25 (28,27;49,54)	<i>U</i> =–3,04, <i>p</i> =0,002
Шахтеры со стажем работы 6–11 лет	15,22 (12,13;18,28)	<i>U</i> =–12,4, <i>p</i> =0,001	46,1 (35,15;58,04)	<i>U</i> =–5,07, <i>p</i> =0,001
Шахтеры со стажем работы 12–20 лет	15,6 (11,61;20,9)	<i>U</i> =–7,78, <i>p</i> =0,001	48,0 (36,87;54,53)	<i>U</i> =–4,48, <i>p</i> =0,001
Шахтеры со стажем работы более 20 лет	15,4 (13,74;16,93)	<i>U</i> =–6,74, <i>p</i> =0,001	48,96 (47,66;67,03)	<i>U</i> =–3,91, <i>p</i> =0,001
Группа	Сосуды <i>d</i> =100–250 мк		Сосуды <i>d</i> =100–250 мк	
Контрольная группа	12,62 (11,59;16,66)	—	21,68 (13,47;31,85)	—
Шахтеры со стажем работы 1–5 лет	16,32 (11,12;22,57)	<i>U</i> =–2,33, <i>p</i> =0,001	31,64 (25,86;44,08)	<i>U</i> =–2,37, <i>p</i> =0,018
Шахтеры со стажем работы 6–11 лет	16,95 (13,01;20,66)	<i>U</i> =–5,06, <i>p</i> =0,001	42,06 (41,03;62,3)	<i>U</i> =–4,13, <i>p</i> =0,001
Шахтеры со стажем работы 12–20 лет	18,5 (14,65;29,61)	<i>U</i> =–6,21, <i>p</i> =0,001	49,13 (38,82;66,19)	<i>U</i> =–5,08, <i>p</i> =0,001
Шахтеры со стажем работы более 20 лет	26,83 (19,11;34,62)	<i>U</i> =–8,16, <i>p</i> =0,001	59,91 (56,62;60,55)	<i>U</i> =–4,1, <i>p</i> =0,001

Таблица 2 / Table 2

Значения толщины кардиомиоцита и периваскулярного фиброза у шахтёров различных стажевых групп
The values of cardiomyocyte thickness and perivascular fibrosis in the miners of different work experience groups

Группа	Значение толщины периваскулярного фиброза, мк		Значение толщины кардиомиоцита, мк	
	Me (25%;75%)	U-критерий Манна-Уитни, <i>p</i>	Me (25%;75%)	U-критерий Манна-Уитни, <i>p</i>
	Сосуды <i>d</i> =100–250 мк			
Контрольная группа	13,69 (12,37;14,87)	—	7,94 (6,61;9,85)	—
Шахтеры со стажем работы 1–5 лет	22,07 (12,39;30,29)	<i>U</i> =–3,41, <i>p</i> =0,001	14,01 (11,91;17,36)	<i>U</i> =–11,88, <i>p</i> =0,001
Шахтеры со стажем работы 6–11 лет	34,43 (26,32;41,28)	<i>U</i> =–9,95, <i>p</i> =0,001	18,17 (14,46;20,74)	<i>U</i> =–13,29, <i>p</i> =0,001
Шахтеры со стажем работы 12–20 лет	44,41 (33,97;55,23)	<i>U</i> =–9,73, <i>p</i> =0,001	19,65 (16,75;23,19)	<i>U</i> =–13,55, <i>p</i> =0,001
Шахтеры со стажем работы более 20 лет	73,22 (60,67;94,33)	<i>U</i> =–8,23, <i>p</i> =0,001	16,78 (15,01;18,42)	<i>U</i> =–9,30, <i>p</i> =0,001

Между мышечными пучками формировались более широкие соединительнотканые поля.

У шахтёров со стажем работы 12–20 лет большинство кардиомиоцитов сохраняло нормальную структуру со значительным утолщением каждого мышечного волокна. Отдельные из них характеризовались признаками изломов и патологической извитости, имелись единичные волокна с лизисом и распадом цитоплазмы. В рыхлой фиброзной ткани встречались мелкие и относительно крупные частично деформированные сосуды.

Изменения сердечной мышцы при стаже работы более 20 лет носили характер дистрофических и атрофических. Межмышечные пространства были значительно расширены, в них отмечалось разрастание волокнистой фиброзной ткани, формирующей зоны кардиосклероза.

Гипертрофия кардиомиоцитов на этом сроке была несколько меньше относительно показателей группы шахтёров 12–20 лет, что указывало на развитие атрофических изменений в мышечной ткани. Кроме того, с помощью непараметрического критерия Крускала–Уоллиса были проведены сравнения показателей всех исследуемых групп между собой (табл. 3).

При обнаружении статистически значимых различий между группами использовали критерий Данна для мно-

жественных сравнений. Получены значимые различия показателей толщины кардиомиоцитов между всеми стажевыми группами, кроме комбинации групп со стажем 6–11 и 12–20 лет, групп со стажем 1–5 и более 20 лет (*p*<0,05).

Использование корреляционного анализа позволило обнаружить значимую умеренную прямую связь между толщиной сосудистой стенки и толщиной периваскулярного фиброза в сосудах сердца *d*<50 мк (*rs*=0,525, *p*=0,001) и сосудах *d*=50–100 мк (*rs*=0,536, *p*=0,001) у шахтёров со стажем работы 6–11 лет. В группе более стажированных лиц (12–20 лет работы) также были выявлены умеренные и сильные корреляционные связи между толщиной периваскулярного фиброза и толщиной стенки сосуда (*rs*=0,490, *p*=0,01 в сосудах диаметром до 50 мк и *rs*=0,764, *p*=0,001 в сосудах диаметром 100–250 мк). Кроме того, в данной стажевой группе обнаружена умеренная прямая связь между площадью эндотелиоцитов и толщиной периваскулярного фиброза в сосудах *d*=100–250 мк (*rs*=0,566, *p*=0,044). В группе лиц со стажем работы более 20 лет показатели толщины сосудистой стенки и периваскулярного фиброза также коррелировали между собой (*rs*=0,557, *p*=0,009). Вместе с тем не было найдено статистически значимой связи между толщиной стенки сосуда и площадью эндотелиоцитов. Вероятно, это можно

Таблица 3 / Table 3

Множественные сравнения параметров сосудистой стенки у шахтёров с разным стажем работы и лиц группы контроля**Multiple comparisons of the parameters of the vascular wall in the miners with different work experience and persons in the control group**

	Толщина стенки сосуда	S эндотелиоцитов сосуда	Толщина периваскулярного фиброза сосуда
Сосуды диаметром до 50 мк			
Статистики критерия			
χ^2	138,136	35,176	151,219
<i>df</i>	4	4	4
<i>p</i>	0,001	0,001	0,001
Сосуды диаметром от 50 до 100 мк			
Статистики критерия			
χ^2	154,112	46,684	177,526
<i>df</i>	4	4	4
<i>p</i>	0,001	0,001	0,001
Сосуды диаметром от 100 до 250 мк			
Статистики критерия			
χ^2	92,368	49,449	222,59
<i>df</i>	4	4	4
<i>p</i>	0,001	0,001	0,001
Толщина кардиомиоцита			
Статистики критерия			
χ^2	318,144		
<i>df</i>	4		
<i>p</i>	0,001		

Примечания: χ^2 — наблюдаемое значение статистики критерия; *df* — число степеней свободы для хи-квадрат распределения; *p* — уровень статистической значимости между исследуемыми группами.

Notes: χ^2 — the observed value of the criterion statistics; *df* — the number of degrees of freedom for the chi-squared distribution; *p* — the level of statistical significance between the study groups.

объяснить тем, что в утолщении сосудистой стенки ключевую роль играет гипертрофия гладкомышечных клеток меди, а не эндотелиоцитов.

Таким образом, длительное пылевое воздействие на организм шахтёров способствовало формированию морфоструктурных изменений в стенке сосудов, таких как гипертрофия гладкомышечных клеток медиального слоя сосудистой стенки, утолщение эндотелиальной выстилки (повышение площади эндотелиоцитов), развитие периваскулярного фиброза. Полученные результаты позволяют нам предположить «перекалибровку» сосудов сердца с формированием «обструкции» просветов, что является предпосылкой для повышения сосудистого сопротивления. Важно подчеркнуть, что воспалительные и атеросклеротические изменения в сосудах были исключены на этапе отбора материала.

Проведенные морфологические и морфометрические исследования параметров сосудистого эндотелия подтверждают мнение многих авторов о том, что эндотелий сосудов является центральным звеном в развитии, тече-

нии и исходе воспаления (на уровне иммунокомпетентных клеток) в условиях воздействия различных патогенных факторов. Эндотелий является сложной метаболической системой и активно функционирующим органом по регулированию многих физиологических процессов. При патологической активации эндотелия наблюдается его дисфункция [9, 10].

Активация цитокиновых рецепторов на поверхности эндотелиальных клеток приводит к запуску каскада реакций, развитию окислительного стресса, синтезу медиаторов воспаления, свободных радикалов и других молекул, вызывающих повреждение клеточных мембран. Регуляция данных процессов осуществляется большим набором генов, вовлеченных в патогенез заболеваний бронхолегочной системы и ССС. Определяющую роль играют гены, кодирующие ферменты антиоксидантной системы, гены регуляции ангиогенеза и противовоспалительного ответа [11–13]. Однако их вклад в развитие сочетанной патологии у шахтёров мало изучен.

Физиологический ответ организма на длительное воздействие неблагоприятных факторов определяется генетическим полиморфизмом, в частности *SNP* (*Single Nucleotide Polymorphism*), выступающим предиктором развития моногенных и мультифакторных нозологий, наиболее распространенными среди которых являются болезни органов дыхания, осложненные сердечно-сосудистой патологией. Однонуклеотидные замены в кодирующей области гена способны изменить аминокислотную последовательность белкового продукта гена. *SNP* в некодирующей области гена, расположенные в регуляторных последовательностях, могут менять уровень экспрессии генов, их локализацию и время жизни [14].

Поскольку *SNP* имеют в геноме высокую плотность, они служат полезными маркерами в генетических анализах, в которых исследователи пытаются связать определённый признак, например подверженность заболеванию, с конкретным паттерном *SNP*. Полиморфизмы генов, вовлечённых в регуляцию сосудистого тонуса и системного гемостаза, определяют риск развития и прогрессирования микроциркуляторных расстройств [15]. В связи с этим был изучен вклад полиморфных вариантов генов *EDN1* (*rs5370*) и *VEGFA* (*rs2010963*), связанных с регуляцией тонуса сосудов, в развитие морфоструктурных нарушений эндотелия у шахтёров с ППА. Ген *EDN1* кодирует белок эндотелин-1, играющий ключевую роль в гомеостазе эндотелия сосудов. Данный белок обладает сосудосуживающим действием наподобие ангиотензина [16]. Полиморфизм гена *EDN1* (*rs5370*) представляет собой трансверсию G>T в 5665-м нуклеотиде, приводящую к замене лизина (*Lys*) на аспарагин (*Asn*), что способствует изменению уровня эндотелина-1 в плазме и выступает в качестве фактора, предрасполагающего к развитию сердечно-сосудистых заболеваний [17, 18].

Соответствие фактического распределения полиморфных вариантов генов *VEGFA* и *EDN1* теоретически ожидаемому определено согласно закону Харди–Вайнберга. В группе шахтёров с ППА частота аллеля *T* гена *EDN1* (*rs5370*) была ниже (13%) частоты встречаемости, указанной в базе данных *dbSNP* информационного ресурса открытого доступа NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=5370), характерной для европейской популяции (около 22%). Однако отклонения полученных данных от ожидаемых частот не наблю-

далось, уровень значимости, как для каждого генотипа ($\chi^2=0,0494-0,6507-2,15$, $p>0,05$), так и суммарный, был выше 0,05 ($\chi^2=2,85$, $p>0,05$). Для гена *VEGFA* отклонений от расчетных частот не наблюдалось по обеим исследуемым группам. Полученные результаты свидетельствовали о выполнении условий равновесия Харди–Вайнберга, что позволило интерпретировать полученные данные и провести дальнейший анализ с использованием χ^2 Пирсона для оценки распределения генотипов между шахтёрами с ППЛ и лицами группы сравнения. В результате проведенного молекулярно-генетического исследования установлено, что у шахтёров с профессиональной патологией бронхолегочной системы преобладал генотип GG (74%) гена *EDN1*. Гетерозиготный генотип GT обнаруживался у 26% обследованных лиц данной группы. У мужчин группы сравнения распределение генотипов полиморфизма rs5370 гена *EDN1* отличалось от такового в группе больных с ППЛ. Генотип GG гена *EDN1*(rs5370) у них также был преобладающим (в 57,8% случаев), однако частота гетерозиготного генотипа GT была выше (42,2%), чем у шахтёров с ППЛ.

Выявлена статистически значимая связь генотипа GG гена *EDN1* (rs5370) с развитием ППЛ. Шанс обнаружить генотип риска GG в группе шахтёров с ППЛ в 2 раза выше, чем в группе сравнения ($\chi^2=4,314$ (с поправкой Йейтса); $p=0,038$; OR=2,057, 95% CI: 1,089–3,883). Риск развития ППЛ у обладателей генотипа GG в 1,3 раза выше, чем у других (RR=1,3, 95% CI: 1,010–1,676). В свою очередь выявлен протективный эффект гетерозиготного генотипа GT полиморфизма rs5370 гена *EDN1* в отношении заболевания (OR=0,486, 95% CI: 0,258–0,918).

Васкулоэндотелиальный фактор роста (*vascular endothelial growth factor* — VEGF) является важнейшим регулятором процессов ангиогенеза за счет стимулирования пролиферации эндотелиоцитов, увеличения проницаемости сосудов и регуляции синтеза матричных металлопротеиназ, увеличения продукции NO (в результате стимуляции NO-синтазы) и последующего расширения кровеносных сосудов. Уровень VEGF определяется геном *VEGFA*, расположенном на 6-й хромосоме (6p21.3) и состоящем из 8 экзонов. Полиморфизм +405C>G (rs2010963) гена *VEGFA* играет важную роль в продукции белка VEGF, способствуя повышению его уровня у обладателей генотипа GG [19, 20]. При изучении распределения частот генотипов полиморфизма rs2010963 гена *VEGFA* у шахтёров с ППЛ и лиц группы сравнения статистически значимых различий не обнаружено ($\chi^2=0,182$; $p=0,913$).

Вместе с тем в нашем исследовании была выявлена ассоциативная связь между наличием ППЛ и формированием болезней системы кровообращения (БСК) у шахтёров-угольщиков. В группе пациентов с пылевой патологией заболевания ССС присутствовали в 28,6% случаев (36 человек из 126), а в группе сравнения — в 7,8% (5 шахтёров из 64). Различия показателей, оцениваемые с помощью критерия χ^2 Пирсона, были статистически значимы ($\chi^2=10,808$; $p=0,002$). Шанс обнаружить БСК в группе с ППЛ в 4,7 раза выше, чем в группе без ППЛ (OR=4,72, 95% CI: 1,751–12,720). В структуре БСК преобладала ИБС — у 75,6% шахтёров, в 24,4% случаев встречалась АГ.

Таким образом, при попадании в организм шахтёров угольно-породной пыли происходит активация эндотелия

сосудов за счёт большого количества специфических рецепторов, находящихся на его поверхности. Патологически активизированное состояние эндотелия способствует развитию эндотелиальной дисфункции, играющей существенную роль в патогенезе многих заболеваний. Одной из причин возникновения функциональных нарушений в эндотелии может быть морфоструктурная перестройка его клеток. Располагаясь на границе между циркулирующей кровью и тканями, эндотелиоциты становятся чрезвычайно уязвимыми к воздействию различных неблагоприятных факторов, вызывающих повреждение эндотелия. В нашем исследовании с увеличением стажа работы наблюдалось статистически значимое увеличение в размерах эндотелиальных клеток с относительной гипертрофией ядерного компонента, гиперхромией ядер и их пролабированием в просвет сосудов. Формирование эндотелиоцитами частотолообразных структур, вероятно, можно оценить как усиление функциональной активности данных клеток, что очень часто наблюдается на ранних сроках воздействия патогенов. Компенсаторная реакция является одним из начальных этапов функциональной перестройки эндотелия, а затем сменяется дисбалансом секреторных факторов, регулирующих тонус сосудов и систему гемостаза, что способствует повышению проницаемости и истощению эндотелия.

Одним из механизмов развития эндотелиальной дисфункции является повышение секреции эндотелина-1, опосредованное полиморфизмом rs5370 гена *EDN1*. В проведенном нами исследовании выявлено, что гомозиготный генотип GG полиморфизма rs5370 гена *EDN1*, вовлечённого в регуляцию сосудистого тонуса, является генотипом риска формирования ППЛ и сопутствующих кардиоваскулярных болезней у подземных рабочих основных профессий. В свою очередь гетерозиготный генотип GT полиморфизма rs5370 гена *EDN1* обладает протективным эффектом к развитию пылевой патологии. Анализ полученных данных свидетельствует о вкладе молекулярно-генетических механизмов в развитие профессиональной патологии лёгких и сопутствующих ей болезней системы кровообращения у шахтёров Кузбасса, что можно использовать при персонализированном подходе к диагностике, профилактике и терапии данных заболеваний.

Выводы:

1. Длительное пылевое воздействие на организм шахтёров способствует формированию морфоструктурных изменений в стенке сосудов сердца в виде гипертрофии гладкомышечных клеток медиального слоя сосудистой стенки, утолщения эндотелиальной выстилки (повышение площади эндотелиоцитов), развития периваскулярного фиброза, прогрессирующих с увеличением стажа работы и способствующих повышению проницаемости эндотелия с дальнейшим истощением и его дисфункцией.

2. Одним из механизмов повреждения эндотелия у шахтёров с ППЛ является изменение экспрессии гена *EDN1*, регулирующего синтез эндотелина-1. Выявлены генотипы риска (GG) и резистентности (GT) развития патологии для полиморфизма rs5370 гена *EDN1*.

3. Обнаружена прямая связь между наличием ППЛ и вероятностью формирования БСК у шахтёров-угольщиков. Шанс обнаружить БСК в группе с пылевой патологией в 4,7 раза выше, чем в группе без ППЛ.

Список литературы

1. Бухтияров И.В., Кузьмина Л.П., Пфаф В.Ф. Актуальные проблемы профилактики производственно обусловленной патологии. В кн.: *Актуальные проблемы медицины труда. Сборник трудов института*. Саратов; 2018: 26–36.
2. Бухтияров И.В., Чеботарёв А.Г. Гигиенические проблемы улучшения условий труда на горнодобывающих предприятиях. *Горн. пром-сть*. 2018; (5): 33. <https://doi.org/10.30686/1609-9192-2018-5-141-33-35>
3. Бухтияров И.В., Головкова Н.П., Хелковский-Сергеев Н.А. Проблемы сохранения здоровья работников угольной промышленности: новые вызовы и новые решения. *Мед. труда и пром. экол.* 2017; (12): 1–6.
4. Ушатикова О.Н., Кузьмина Л.П., Горблянский Ю.Ю. Вклад производственных факторов в развитие атерогенных дислипотеидемий у шахтёров-угольщиков. *Мед. труда и пром. экол.* 2006; (12): 11–7.
5. Панев Н.И. Иммуновоспалительные механизмы и эндотелиальная дисфункция в развитии атеросклероза у шахтёров с пылевой патологией легких. *Мед. иммунол.* 2017; 19(S): 416.
6. Коротенко О.Ю., Филимонов Е.С., Панев Н.И., Блажина О.Н. Структурно-функциональные особенности и показатели деформации левого желудочка у работников угольной промышленности в зависимости от наличия артериальной гипертензии. *Гигиена и сан.* 2020; 99(7): 693–8. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-7-693-698>
7. Васильева О.С., Кузьмина Л.П., Кравченко Н.Ю. Роль молекулярно-генетических исследований в диагностике и профилактике развития профессиональных заболеваний органов дыхания. *Пульмонология*. 2017; 27(2): 198–205. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2017-27-2-198-205>
8. Безрукавникова Л.М., Анохин Н.Н., Цидильковская Э.С. Ассоциация молекулярно-генетических маркеров и показателей оксидативного стресса у работающих в контакте с пылью асбеста. *Мед. труда и пром. экол.* 2019; 59(9): 560. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2019-59-9-560-561>
9. Каде А.Х., Занин С.А., Губарева Е.А., Турова А.Ю., Богданова Ю.А., Апсальмова С.О. и др. Физиологические функции сосудистого эндотелия. *Фундам. исслед.* 2011; (11–3): 611–7.
10. Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней. *Казан. мед. ж.* 2015; 96(4): 659–65. <https://doi.org/10.17750/KMJ2015-659>
11. Подольская А.А., Галявич А.С., Майкова Е.В., Кравцова О.А., Алимова Ф.К. Роль генов антиоксидантной системы в формировании клинических фенотипов ишемической болезни сердца. *Казан. мед. ж.* 2013; 94(2): 228–34. <https://doi.org/10.17816/KMJ1594>
12. Berg K.K., Madsen H.O., Garred P., Wiseth R., Gunnes S., Videm V. The additive contribution from inflammatory genetic markers on the severity of cardiovascular disease. *Scand J Immunol.* 2009; 69(1): 36–42. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2008.02187.x>
13. Swerdlow D.I., Holmes M.V., Harrison S., Humphries S.E. The genetics of coronary heart disease. *Br Med Bull.* 2012; 102(1): 59–77. <https://doi.org/10.1093/bmb/lds009>
14. Seeb J.E., Carvalho G., Hauser L., Naish K., Roberts S., Seeb L.W. Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in non-model organisms. *Mol Ecol Resour.* 2011; 11(S1): 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02979.x>
15. Шпагина Л.А., Герасименко О.Н., Дробышев В.А., Чачибая З.К. Полиморфизм генов эндотелиальной дисфункции и системного гемостаза у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией. *Мед. и образ. в Сибири*. 2015; (1): 35. Available at: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1658
16. Ahmed M., Rghigh A. Polymorphism in Endothelin-1 Gene: An Overview. *Curr Clin Pharmacol.* 2016; 11(3): 191–210. <https://doi.org/10.2174/1574884711666160701000900>
17. Петюнина О.В., Копица Н.П. Факторы риска и полиморфизм гена эндотелина-1 (rs5370) у больных инфарктом миокарда с элевацией сегмента ST. *Мир медицины и биологии*. 2019; (2): 100–4. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2019-2-68-100-104>
18. Popov A.F., Schulz E.G., Hinz J., Schmitt J.D., Seipelt R., Koziol M.J. et al. Impact of endothelin-1 Lys198Asn polymorphism on coronary artery disease and endorgan damage in hypertensives. *Coron Artery Dis.* 2009; 19(7): 429–34. <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e32830936e5>
19. Аляви А.А., Алиахунова М.Ю., Туляганова Д.К., Хан Т.А., Назарова Г.А., Иманкулова Д.А. и др. Особенности полиморфизма гена фактора роста эндотелия сосудов у больных ишемической болезнью сердца. *Вестник науки*. 2020; 4(9): 44–54. <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e32830936e5>
20. Carmeliet P. VEGF gene therapy: stimulating angiogenesis or angioma-genesis? *Nature Med.* 2000; 6(10): 1102–3. <https://doi.org/10.1038/80430>

References

1. Bukhtiyarov I.V., Kuzmina L.P., Pfaf V.F. Actual problems of prevention of industrial-related pathology. In: *Actual problems of occupational medicine. Proceedings of the Institute*. Saratov; 2018: 26–36 (in Russian).
2. Bukhtiyarov I.V., Chebotarev A.G. Hygienic problems of improving working conditions at mining enterprises. *Gornaya promyshlennost'*. 2018; (5): 33. <https://doi.org/10.30686/1609-9192-2018-5-141-33-35> (in Russian).
3. Bukhtiyarov I.V., Golovkova N.P., Khelkovsky-Sergeyev N.A. Problems of health preservation in coal industry workers: new challenges and new solutions. *Med. truda i prom. ekol.* 2017; (12): 1–6 (in Russian).
4. Ushatikova O.N., Kuzmina L.P., Gorblyanskiy Yu.Yu. Contribution of occupational factors into development of atherogenic dislipoproteinemia in coal miners. *Med. truda i prom. ekol.* 2006; (12): 11–7 (in Russian).
5. Panev N.I. Immunoinflammatory mechanisms and endothelial dysfunction in the development of atherosclerosis in miners with dusty lung pathology. *Meditsinskaya immunologiya*. 2017; 19(S): 416 (in Russian).
6. Korotenko O.Yu., Filimonov E.S., Panev N.I., Blazhina O.N. Structural and functional features and indices of left ventricular deformation in coal industry workers depending on the presence of arterial hypertension. *Gigiyena i sanitariya*. 2020; 99(7): 693–8. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-7-693-698> (in Russian).
7. Vasilyeva O.S., Kuzmina L.P., Kravchenko N.Yu. A role of molecular analysis for diagnosis and prevention of occupational lung diseases. *Pulmonologiya*. 2017; 27(2): 198–205. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2017-27-2-198-205> (in Russian).
8. Bezrukavnikova L.M., Anokhin N.N., Tsidilkovskaya E.S. Association of molecular genetic markers and oxidative stress indices in workers in contact with asbestos dust. *Med. truda i prom. ekol.* 2019; 59(9): 560. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2019-59-9-560-561> (in Russian).
9. Kade A.Kh., Zanin S.A., Gubareva E.A., Turovaya A.Yu., Bogdanova Yu.A., Apsalyamova S.O. et al. Physiological functions of the vascular endothelium. *Fundamentalnyye issledovaniya*. 2011; (11–3): 611–7 (in Russian).
10. Melnikova Yu.S., Makarova T.P. Endothelial dysfunction as the key link of chronic diseases pathogenesis. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; 96(4): 659–65. <https://doi.org/10.17750/KMJ2015-659> (in Russian).
11. Podolskaya A.A., Galyavich A.S., Maikova E.V., Kravtsova O.A.,

- Alimova F.K. The role of antioxidant system genes in the formation of coronary heart disease clinical phenotypes. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 94(2): 228–34. <https://doi.org/10.17816/KMJ1594> (in Russian).
12. Berg K.K., Madsen H.O., Garred P., Wiseth R., Gunnes S., Videm V. The additive contribution from inflammatory genetic markers on the severity of cardiovascular disease. *Scand J Immunol*. 2009; 69(1): 36–42. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2008.02187.x>
 13. Swerdlow D.I., Holmes M.V., Harrison S., Humphries S.E. The genetics of coronary heart disease. *Br Med Bull*. 2012; 102(1): S9–77. <https://doi.org/10.1093/bmb/lds009>
 14. Seeb J.E., Carvalho G., Hauser L., Naish K., Roberts S., Seeb L.W. Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in non-model organisms. *Mol Ecol Resour*. 2011; 11(S1): 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02979.x>
 15. Shpagina L.A., Gerasimenko O.N., Drobyshev V.A., Chachibaya Z.K. Genetical polymorphism of endothelial dysfunction and systemic hemostasis at patients with vibration disease combined with arterial hypertension. *Meditsina i obrazovanie v Sibiri*. 2015; (1): 35. Available at: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1658 (in Russian).
 16. Ahmed M., Rghigh A. Polymorphism in Endothelin-1 Gene: An Overview. *Curr Clin Pharmacol*. 2016; 11(3): 191–210. <https://doi.org/10.2174/1574884711666160701000900>
 17. Petyunina O.V., Kopytsya N.P. Risk factors and endothelin-1 (rs5370) gene polymorphism in patients with myocardial infarction with ST segment elevation. *Mir meditsiny i biologii*. 2019; (2): 100–4. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2019-2-68-100-104> (in Russian).
 18. Popov A.F., Schulz E.G., Hinz J., Schmitto J.D., Seipelt R., Koziol M.J. et al. Impact of endothelin-1 Lys198Asn polymorphism on coronary artery disease and endorgan damage in hypertensives. *Coron Artery Dis*. 2009; 19(7): 429–34. <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e32830936e5>
 19. Alyavi A.L., Aliakhunova M.Yu., Tulyaganova D.K., Khan T.A., Nazarova G.A., Imankulova D.A. et al. Features of the gene polymorphism of the vascular endothelial growth factor in patients with ischemic heart disease. *Vestnik nauki*. 2020; 4(9): 44–54. <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e32830936e5> (in Russian).
 20. Carmeliet P. VEGF gene therapy: stimulating angiogenesis or angioma-genesis? *Nature Med*. 2000; 6(10): 1102–3. <https://doi.org/10.1038/80430>