

А.Г. Хотулева, Л.П. Кузьмина

БИОМАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ СИНТРОПИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

ФГБНУ «НИИ МТ», пр-т Буденного, д. 31, Москва, Россия, 105275

С целью поиска молекулярных маркеров воспаления, способствующих определению повышенного риска развития и прогнозированию тяжести течения синтропии профессиональной бронхиальной астмы (ПБА) и метаболического синдрома (МС), проведено обследование 140 человек с установленным диагнозом ПБА. По критериям IDF (2005) больные разделены на группу с сочетанием ПБА и МС и группу с ПБА без МС. Всем обследованным проведены исследования: биохимические (С-реактивный белок, лептин) и молекулярно-генетические (полиморфизм Gln223Arg гена рецептора лептина (LEPR), полиморфизм C174G гена интерлейкина-6 (IL-6), полиморфизм G308A гена фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α)) маркеров воспаления. Показано, что у пациентов с сочетанием бронхиальной астмы и метаболического синдрома выше активность воспалительных процессов (выше уровень С-реактивного белка, лептина), что клинически проявляется более тяжелым течением бронхолегочного заболевания. Выявлены молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные с более высокой активностью воспалительных процессов и, как следствие, с повышенным риском развития сочетания ПБА с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа (полиморфизмы гена LEPR, гена IL-6).

Ключевые слова: профессиональная бронхиальная астма, метаболический синдром, воспаление, биомаркеры, С-реактивный белок, лептин, интерлейкин-6.

A.G. Khotuleva, L.P. Kuz'mina. **Biomarkers of systemic inflammation in pathogenesis of syntropic occupational bronchial asthma and metabolic syndrome**

FSBSI «RIOH», 31, Prosp. Budennogo, Moscow, Russia, 105275

In search of inflammatory molecular markers helpful in detection of increased risk and prognosis of severity of syntropic occupational bronchial asthma and metabolic syndrome, the authors conducted a study covering 140 examinees with confirmed occupational bronchial asthma. According to IDF criteria (2005), the patients were assigned into a group with combined occupational bronchial asthma and metabolic syndrome, and a group of occupational bronchial asthma without metabolic syndrome. All the examinees underwent studies of inflammation markers — biochemical (C-reactive protein, leptine) and molecular-genetic (polymorphism of Gln223Arg gene of leptine receptor (LEPR), polymorphism of C174G gene of interleukin-6 (IL-6), polymorphism of G308A gene of (TNF- α) tumor necrosis factor alpha). Evidences are that the patients with combined bronchial asthma and metabolic syndrome demonstrate higher activity of inflammatory processes (higher level of C-reactive protein, leptine) — that manifests in clinically more severe course of bronchopulmonary disease. Molecular-genetic markers revealed are associated with higher activity of inflammation and therefore with increased risk of occupational bronchial asthma associated with metabolic syndrome and diabetes mellitus 2 type (polymorphisms of LEPR gene, IL-6 gene).

Key words: occupational bronchial asthma, metabolic syndrome, inflammation, biomarkers, C-reactive protein, leptine, interleukin-6.

В настоящее время важным вопросом научной и практической медицины является нозологическая синтропия, поскольку изучение проявлений сочетанной патологии может способствовать раскрытию механизмов формирования болезней и разработке патогенетически обоснованной терапии [3]. Это особенно актуально по отношению к таким широко распространенным заболеваниям и состояниям, как бронхиальная астма и метаболический синдром.

Бронхиальная астма и метаболический синдром связаны целым рядом патогенетических механизмов, которые приводят к формированию феномена взаимоотношения, ограничивающего достижение контролируемого течения бронхиальной астмы и повышаю-

щего риск развития сахарного диабета, заболеваний сердечно-сосудистой системы [5,6].

Одним из главных механизмов взаимосвязи профессиональной бронхиальной астмы (ПБА) и метаболического синдрома (МС) является развитие хронического системного воспалительного процесса. Жировая ткань при ожирении секретирует различные воспалительные цитокины, такие как лептин, интерлейкин-6 (IL-6), фактор некроза опухолей альфа (TNF- α) и др. [11]. Преобладание продукции этих провоспалительных медиаторов над противовоспалительными является главным механизмом, лежащим в основе неблагоприятных метаболических и сердечно-сосудистых последствий [8].

Значительные количества провоспалительных цитокинов, с одной стороны, могут модулировать иммунные реакции в легких; с другой стороны, хроническое устойчивое, хотя и невысокое по интенсивности, воспаление в жировой ткани влияет на готовность дыхательных путей к развитию обструкции [1].

В связи с вышесказанным целью настоящего исследования явился поиск молекулярных маркеров воспаления, способствующих определению повышенного риска развития и прогнозированию тяжести течения синдрома ПБА и МС для разработки научно обоснованной системы профилактических мероприятий.

Материал и методики. Для решения поставленных в работе задач обследовано 140 человек (97 женщин и 43 мужчины) в возрасте $56,6 \pm 10,6$ лет с установленным диагнозом профессиональная бронхиальная астма на базе клиники ФГБНУ «НИИ МТ». Все обследуемые в результате своей профессиональной деятельности имели контакт с веществами сенсибилизирующего и раздражающего действия, большинство из них являлись высокостажированными рабочими. Среди обследованных лиц преобладали рабочие строительных специальностей — 31,6% (в том числе сварщики — 12,5%, маляры и штукатуры-маляры — 10,8%). Также в состав обследованной группы входили рабочие металлургических предприятий — 15,8%, медицинские работники — 10,8%, работники химической промышленности — 6,7%, рабочие прядильных комбинатов — 5,8%, кондитеры — 5%, зоотехники — 5%, работники сельскохозяйственной промышленности — 4,2% и лица других профессий — 15,1%.

Пациенты с установленным диагнозом ПБА были разделены на две группы в зависимости от наличия метаболического синдрома, определяемого по критериям Международной федерации диабета (IDF, 2005): 82 пациента с сочетанием ПБА и МС и 58 больных ПБА без МС.

Больным ПБА было проведено общеклиническое обследование, включающее определение антропометрических показателей (окружность талии, рост, вес) и показателей функции внешнего дыхания (ФЖЕЛ, ОФВ₁). Также всем обследуемым проведены лабораторные исследования показателей углеводного и липидного обменов, определение уровней воспалительных маркеров (С-реактивного белка и лептина) и выявление полиморфизмов гена рецептора лептина (LEPR), гена интерлейкина-6 (IL-6) и фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α).

Биохимические показатели состояния липидного и углеводного обменов определяли спектрофотометрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе «Konelab 30i» с использованием тест-систем «Thermo Electron Corporation». Уровни С-реактивного белка и лептина в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов «СРБ-ИФА» ООО «ХЕМА» (Россия) и «Leptin Elisa» Diagnostics Biochem Canada Inc соответственно.

Выделение ДНК из цельной крови для последующего генотипирования проводили с использованием комплекта реагентов «АмплиПрайм ДНК-сорб-В». Выявление полиморфизма Gln223Arg гена LEPR (rs1137101) и полиморфизма G308A гена TNF- α (rs1800629) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, полиморфизма C174G гена IL-6 (rs1800795) методом ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации с использованием наборов реагентов НПФ «Литех».

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием электронных программ Microsoft Office Excel 2010, BIOSTAT. Был применен анализ количественных признаков, имеющих нормальное распределение, с использованием критерия Стьюдента, дисперсионного анализа, анализ качественных признаков с применением критерия χ^2 , анализ зависимостей с помощью коэффициента корреляции Пирсона. Связь между фактором риска и исходом оценивалась по показателю отношения шансов (ОШ). Результаты количественных показателей представлены в виде среднего значения плюс-минус стандартное отклонение ($M \pm sd$).

Результаты исследования и их обсуждение. При сравнении тяжести течения ПБА у группы с МС и без МС показано, что наличие МС ассоциировано с более тяжелым течением астмы: у обследуемых с МС в 81,7% наблюдается астма средне-тяжелого и тяжелого течения с дыхательной недостаточностью 2–3 степени, в то время как у больных ПБА без МС — только в 48,3%, а преобладают более легкие формы ($\chi^2=15,909$, $p<0,001$).

Выраженность системного воспалительного процесса, лежащего в основе взаимосвязи ПБА и МС, была изучена по уровню С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови в связи с тем, что СРБ является одним из наиболее чувствительных маркеров системного воспаления. У лиц с сочетанием ПБА и МС уровень СРБ ($9,3 \pm 11,5$ мг/л) повышен в большей степени ($t=2,169$, $p<0,05$), чем у обследуемых без МС ($5,4 \pm 5,9$ мг/л). Это свидетельствует о более выраженном системном воспалении при сочетании ПБА и МС, при этом уровень СРБ коррелирует с индексом массы тела (ИМТ) ($r=0,251$, $p<0,05$). Таким образом, воспалительные процессы, существующие и при ПБА, и при ожирении, могут оказывать друг на друга взаимно усиливающее влияние.

Лептин, один из адипокинов, выделяемых жировой тканью, способен поддерживать воспалительный процесс при ПБА путем стимуляции клеточного иммунного ответа с увеличением продукции провоспалительных цитокинов. Лептин влияет на Т-клеточный иммунитет, изменение которого проявляется синтезом провоспалительных цитокинов за счет стимуляции Т-хелперов. Также одним из эффектов лептина является влияние на воспаление через усиление синтеза и высвобождения лейкотриенов альвеолярными макрофагами и лимфоцитами [7]. Провоспалительные функ-

ции лептина приводят к тому, что постоянно нарастающий объем жировой ткани становится не просто метаболически активным элементом организма, но и постоянным источником факторов, поддерживающих системное воспаление, которое, в свою очередь, может утяжелить клиническое течение астмы [4].

Таким образом, лептин может участвовать в патогенезе ПБА, оказывая как прямое действие на эпителий бронхов, что приводит к гиперреактивности бронхов, так и потенцируя воспаление дыхательных путей в связи с его провоспалительным действием. Уровень лептина в группе больных ПБА ($39,4 \pm 38,9$ нг/мл) достоверно выше ($t=2,263$, $p<0,05$), чем в контрольной группе ($24,7 \pm 17,3$ нг/мл), включающей 40 практически здоровых лиц с ИМТ, сопоставимым с основной группой. Это может быть связано с применением при ПБА глюкокортикостероидов (ГКС), которые стимулируют секрецию лептина. При этом уровни лептина у получающих терапию системными ГКС выше, чем у не получающих системные ГКС, хотя группы сопоставимы по ИМТ и полу (рис. 1).

Уровень лептина в сыворотке у больных ПБА коррелирует с ИМТ ($r=0,558$, $p<0,05$), при этом имеются выраженные половые различия ($t=3,199$, $p<0,01$): у женщин уровни лептина в 3,45 раза выше ($40,8 \pm 40,9$ нг/мл), чем у мужчин ($11,8 \pm 8,9$ нг/мл), что связано с большим содержанием общего жира в организме женщин, стимулирующим действием эстрогенов и ингибирующим действием андрогенов на образование лептина.

Также выявлена положительная корреляционная связь между уровнем лептина и С-реактивного белка ($r=0,241$, $p<0,05$), являющегося известным маркером воспаления, что подтверждает зависимость уровня лептина от активности воспалительных процессов. При этом лептин, являясь адипокином, более специфично характеризует метаболическую активность именно жировой ткани.

Большой разброс значений уровня лептина в сыворотке крови у больных ПБА объясняется тем, что экспрессия и секреция лептина регулируется различными факторами: количеством жировой ткани, гене-

тическими факторами, влиянием гормонов и других биологически активных веществ: образование лептина увеличивается под влиянием инсулина, глюкокортикоидов, TNF- α , эстрогенов, а снижается посредством β 3-адренергической активности, андрогенов, свободных жирных кислот, гормона роста.

В связи с тем, что функции лептина осуществляются с помощью связывания с лептиновым рецептором (LEPR), генетический полиморфизм Gln223Arg которого приводит к изменению функциональных особенностей рецептора, в работе была изучена роль данного полиморфизма в развитии сочетания ПБА и МС. Генотип Arg/Gln гена LEPR выявлен у 46,6% обследованных, генотип Gln/Gln — у 25%, что соотносится с данными распространенности этого полиморфизма в европейской популяции. У женщин, гомо- и гетерозиготных по аллели Gln, уровень лептина в сыворотке составляет $61,4 \pm 8,1$ нг/мл, что достоверно выше ($t=2,379$, $p<0,05$), чем у женщин с генотипом Arg/Arg — $33,8 \pm 5,8$ нг/мл. Это может свидетельствовать о том, что носители аллели Gln в связи с функциональными особенностями лептинового рецептора находятся в группе риска развития гиперлептинемии и лептинорезистентности, что играет важную роль как в формировании МС, так и в патогенезе ПБА. У мужчин данной закономерности не было выявлено, что может быть связано с небольшим количеством обследуемых.

У больных ПБА выявлена ассоциация аллели Gln с более высоким ИМТ и более низким уровнем ЛПВП: у лиц с генотипами Arg/Gln и Gln/Gln ИМТ составлял $31,1 \pm 6,7$ кг/м², с генотипом Arg/Arg — $28,1 \pm 4,7$ кг/м² ($t=2,064$, $p<0,05$), уровень ЛПВП — $1,28 \pm 0,33$ ммоль/л и $1,51 \pm 0,45$ ммоль/л соответственно ($t=2,648$, $p<0,05$), что свидетельствует об ассоциации аллели Gln с такими компонентами метаболического синдрома, как ожирение и нарушения липидного обмена.

Фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α) — провоспалительный цитокин, он стимулирует хемотаксис нейтрофилов в очаг воспаления. TNF- α участвует в хронизации воспалительного процесса за счет повышения адгезии макрофагов и опосредованно через фактор активации тромбоцитов и индукции синтеза

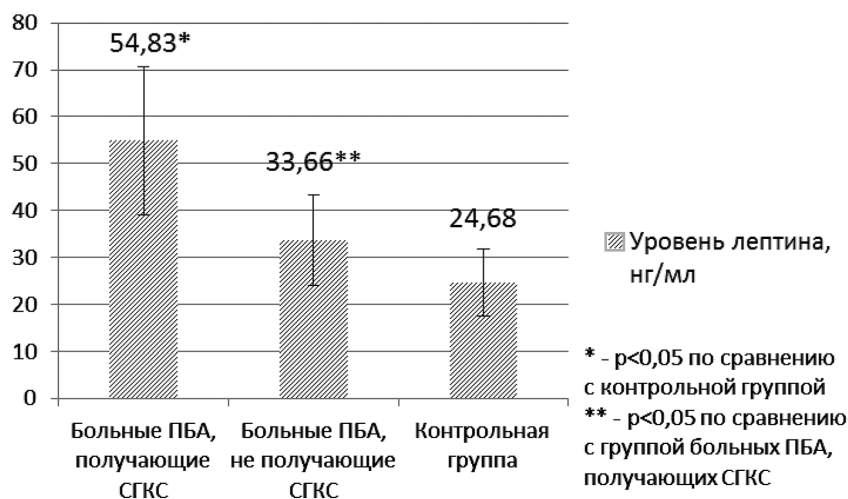


Рис. 1. Уровень лептина у больных профессиональной бронхиальной астмой в зависимости от наличия терапии системными глюкокортикостероидами

Таблица

Ассоциация компонентов метаболического синдрома у больных профессиональной бронхиальной астмой с наличием полиморфизма С174G гена IL-6

Показатель	Больные ПБА с генотипом GG гена IL-6	Больные ПБА с генотипом CC гена IL-6	Достоверность различий
ИМТ, кг/м ²	28,9±5,7	32,4±5,2	p<0,05
Глюкоза, ммоль/л	5,5±0,8	6,4±1,2	p<0,001
Холестерин, ммоль/л	5,7±1,0	6,3±1,3	p<0,05
ЛПНП, ммоль/л	3,5±0,8	4,2±1,2	p<0,01
C-реактивный белок, мг/л	6,5±6,3	11,1±11,3	p<0,05

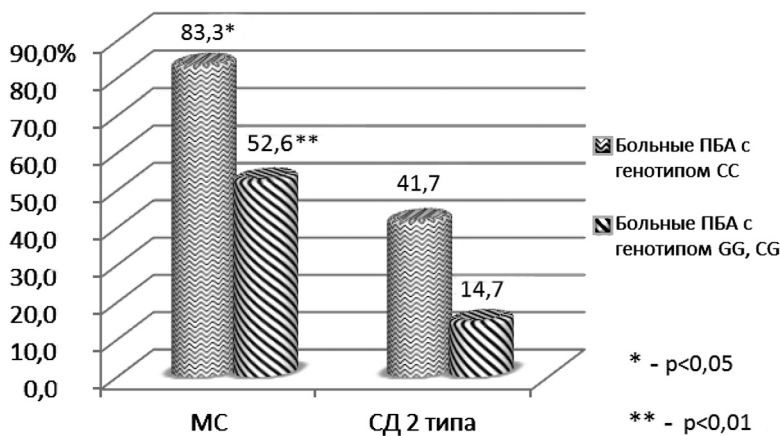


Рис. 2. Частота встречаемости метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа у больных профессиональной бронхиальной астмой в зависимости от генотипа интерлейкина-6

оксида азота [2]. Доказана роль этого цитокина в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, высокие концентрации TNF-α способствуют колебаниям артериального давления, возникновению внутрисосудистого тромбоза, изменению концентрации глюкозы в крови [9].

При исследовании полиморфизма G308A гена TNF-α у больных ПБА генотипы AA и AG, ассоциированные с повышенным уровнем данного цитокина, были выявлены у 28,8% обследуемых, что соотносится с данными распространенности этого полиморфизма в европейской популяции. Ассоциации данного полиморфизма с тяжестью течения ПБА, компонентами метаболического синдрома не выявлено.

Также одним из цитокинов, выделяемых жировой тканью и оказывающих различные эффекты на регуляцию воспалительных процессов при ожирении, является интерлейкин-6 (IL-6). IL-6 является многофункциональным цитокином, несмотря на его противовоспалительные эффекты при хроническом воспалении он обладает провоспалительным действием. Продуцируемый адипоцитами IL-6 инициирует сосудистое воспаление и запускает синтез СРБ клетками печени [10]. При этом уровень IL-6 в сыворотке крови зависит от наличия полиморфизма С174G гена IL-6, который влияет на экспрессию данного цитокина.

При исследовании полиморфизма С174G гена IL-6 у больных ПБА генотип CC гена IL-6 был выявлен у 20,2% обследуемых, генотип CG — у 51,2%, что соотносится с данными распространенности этого полиморфизма в европейской популяции. Показано, что

наличие генотипа CC, характеризующегося гиперпродукцией IL-6, повышает риск развития метаболического синдрома в 4,6 раза (ОШ=4,6, 95% ДИ=1,463–14,467, p<0,05) и сахарного диабета 2 типа в 4,2 раза (ОШ=4,184, 95% ДИ=1,555–11,258, p<0,05) (рис. 2).

Показана ассоциация генотипа CC гена IL-6 с ожирением, нарушениями углеводного и липидного обмена, большей активностью воспалительных процессов (табл.).

При анализе клинического течения ПБА в зависимости от генотипа IL-6 выявлена связь между более тяжелым течением (дыхательная недостаточность 2–3-й степени) и аллелем С, что может быть связано как с большей распространенностью в данной группе МС, так участием IL-6 в патогенезе ПБА.

Заключение. ПБА и МС связаны целым рядом патогенетических механизмов и могут взаимно потенцировать друг друга, что обуславливает актуальность изучения патогенеза данного сочетания. В связи с высокой распространенностью синдрома ПБА и МС, характеризующейся более выраженными процессами системного воспаления, которые отягощают клиническое течение данных патологий, мероприятия, направленные на профилактику МС как у больных с уже диагностированной ПБА, так и у групп риска развития ПБА являются в то же время и мерами профилактики прогрессирования ПБА.

Выявленная у больных ПБА гиперлептинемия свидетельствует об участии лептина в патогенезе ПБА, при этом лептин может служить маркером системного воспаления для прогнозирования тяжести течения ПБА.

На основании проведенных исследований показана роль генетических факторов в патогенезе активации воспалительных процессов при синтропии ПБА и МС. Так аллель Gln гена LEPR является фактором риска развития метаболического синдрома, наличие которогоотягощает течение ПБА, и может служить показателем, определяющим индивидуальный риск развития МС в связи с развитием гиперлептинемии и лептинорезистентности. Показана роль полиморфизма C174G гена IL6 в механизмах развития сочетания ПБА и МС. Аллель С гена IL6 является фактором риска развития метаболического синдрома, сахарного диабета и может служить показателем, определяющим индивидуальный риск развития синтропии ПБА и МС в связи с активированием воспалительных процессов.

Таким образом, выявленный комплекс молекулярных маркеров системного воспаления можно использовать для оценки персонифицированного прогноза развития и прогрессирования сочетания ПБА и МС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (см. REFERENCES стр. 7–11)

1. Астафьева Н.Г., Гамова И.В., Удовиченко Е.Н. и др. // Леч. врач. — 2014. — №5. — С. 100–107.
2. Корытина Г.Ф., Целоусова О.С., Ахмадишина Л.З. и др. // Мед. генетика. — 2008. — Т. 2. — С. 17–25.
3. Урысьев О.М., Панфилов Ю.А. // Междунар. эндокринологич. ж-л. — 2008. — № 3 (15). — С. 15–25.
4. Цибулькина В.Н., Цибулькин Н.А. // Практич. мед. Акушерство. Гинекология. Эндокринология. — 2011. — № 6 (54). — С. 36–41.
5. Чернявская Г.М. // Клинич. мед. — 2003. — № 3. — С. 23–25.
6. Яковлева О.Я., Жамба А.О., Мазур Ю.В. // Рациональная фармакотерапия. — 2008. — № 1 (06). — С. 64–67.

REFERENCES

1. Astaf'eva N.G., Gamova I.V., Udovichenko E.N., et al. // Lechashchiiy vrach. — 2014. — 5. — P. 100–107 (in Russian).
2. Korytina G.F., Tselousova O.S., Akhmadishina L.Z., et al. // Meditsinskaya genetika. — 2008. — Vol. 2: 17–25 (in Russian).
3. Uryas'ev O.M., Panfilov Yu.A. // Mezhdunarodnyy endokrinologicheskiiy J. — 2008. — 3 (15). — P. 15–25 (in Russian).
4. Tsibul'kina V.N., Tsibul'kin N.A. // Prakticheskaya meditsina. Akusherstvo. Ginekologiya. Endokrinologiya. — 2011. — 6 (54). — P. 36–41 (in Russian).
5. Chernyavskaya G.M. // Klinicheskaya meditsina. — 2003. — 3. — P. 23–25 (in Russian).
6. Yakovleva O.Ya., Zhamba A.O., Mazur Yu.V. // Ratsional'naya farmakoterapiya. — 2008. — 1 (06). — P. 64–67 (in Russian).
7. De Rosa V., Procaccini C., Cali G. et al. // Immunity. — 2007. — Vol. 26. — №2. — P. 241–255.
8. Itoh M., Suganami T., Hachiya R. et al. // Int. J. Inflam. — 2011. — V. 2011. — P. 1–8.
9. Popa C., Netea M.G., Riel P. et al. // J Lipid Res. — 2007. — Vol. 48. — P. 751–762.
10. Steensberg A. // Exerc Immunol Rev. — 2003. — Vol. 9. — P. 40–47.
11. Trautwein P., Wood I.S. // Biochem. Soc. Trans. — 2005. — № 23. — P. 1078–1081.

Поступила 29.03.2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Хотулева Анастасия Григорьевна (Khotuleva A.G.),
мл. науч. сотр. лаб. мед.-биолог. иссл. клиники ФГБНУ
«НИИ МТ». E-mail: hotuleva_an@mail.ru.
- Кузьмина Людмила Павловна (Kuz'mina L.P.),
зав. клин. отд. проф. и произв. обусл. заболеваний, зав. лаб.
медико-биолог. иссл. клиники ФГБНУ «НИИ МТ», д-р
биол. наук, проф. E-mail: lpkuzmina@mail.ru.