

На правах рукописи

Пахомя Надежда Сергеевна

**ПОЛИМОРФИЗМ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ СЕРДЕЧНО-
СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ
АСТМОЙ ПРИ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ**

14.01.04 – Внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Рязань – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Урясьев Олег Михайлович**

Официальные оппоненты:

Будневский Андрей Валериевич – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой факультетской терапии

Купаев Виталий Иванович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой семейной медицины ИПО

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

Защита диссертации состоится « » 2018 года в « » часов на заседании диссертационного совета Д 208.084.04 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, адрес организации: 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026, г. Рязань, ул. Шевченко, д. 34) и на сайте www.rzgmu.ru.

Автореферат разослан « » _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Песков О.Д.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Полиморбидность постулируется как одна из проблем современной медицины (Верткин А.Л., 2013; Lee K.S. et al., 2017; Chen W., 2017).

Во всем мире наблюдается тенденция к увеличению заболеваемости бронхиальной астмой (БА) (Смирнова О.В., 2003; Авдеев С.Н., 2017; Gruenberg D., 2010). Проведенные эпидемиологические исследования показали, что в мире насчитывается около 300 миллионов больных БА (GINA, 2016). В настоящее время растет удельный вес больных БА, которые страдают различными сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), среди которых основное место занимает гипертоническая болезнь (ГБ) (Белова И.В., Кулагин О.Л., Жестков А.В., 2013). Распространенность артериальной гипертензии (АГ) у пациентов с БА в среднем составляет 34,3 % (Демко И.В., Гордеева Н.В., Петрова М.М., 2007), увеличиваясь с возрастом. Таким образом, в современной медицинской практике отмечается тенденция не только к нарастанию отдельных нозологических единиц внутри популяции, но и рост их сочетанного течения, особенно у больных старших возрастных групп, что взаимоотношает течение заболеваний и создает трудности диагностики и лечения (Бурсиков А.В., 2004; Кобякова О.С., 2006).

Большинство авторов утверждает, что БА является типичным многофакторным заболеванием, развитие которого обуславливается сложным взаимодействием множества генов и факторов внешней среды (Волкова Л.И., 2004; Демко И.В., 2007; Делягин В.М., 2012; Lee T.H., 2001). В настоящее время продолжается поиск характерных патологических и молекулярных особенностей фенотипов БА, в частности, на основе сочетанной патологии, которые могут стать базисом для разработки индивидуальной терапии и для прогнозирования течения (Nirav B.R., Prescott W.G., 2011). Однако, имеющиеся на сегодняшний день литературные данные не дают полного и однозначного ответа на вопрос о прогностической значимости генетических полиморфизмов

при изолированном течении БА и ГБ, а данные исследований при их сочетанном течении и вовсе малочисленны.

Цель исследования

Изучить клиническо-диагностическое значение полиморфизмов некоторых генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний у больных бронхиальной астмой при сопутствующей гипертонической болезни.

Задачи исследования

1. Оценить клинико-функциональные характеристики сочетанного течения бронхиальной астмы и гипертонической болезни.
2. Проанализировать особенности течения бронхиальной астмы при различных полиморфных вариантах генов сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с бронхиальной астмой при сочетанном течении с гипертонической болезнью.
3. Изучить особенности течения гипертонической болезни при различных полиморфных вариантах генов сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с бронхиальной астмой при сопутствующей гипертонической болезни.
4. Построить прогностическую модель оценки риска развития гипертонической болезни в зависимости от факторов риска и «задействованных» в развитии гипертонической болезни полиморфизмов генов сердечно-сосудистых заболеваний.

Научная новизна

1. Изучены генетические полиморфизмы генов сердечно-сосудистых заболеваний при изолированной бронхиальной астме и сочетанном течении бронхиальной астмы и гипертонической болезни.
2. Проанализирована и сопоставлена частота встречаемости различных генотипов изучаемых полиморфизмов генов сердечно-сосудистых заболеваний в группе пациентов с изолированной бронхиальной астмой и кардиореспираторной патологией.

3. Изучен вклад полиморфизмов изучаемых генов в реализацию гипертонической болезни и поражение органов-мишеней при гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой.
4. Выявлены полиморфизмы генов, ассоциированные со степенью контроля бронхиальной астмы, у пациентов с изолированной бронхиальной астмой и при сочетанном течении бронхиальной астмы и гипертонической болезни.
5. На основании медико-генетического анализа и факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний разработан алгоритм ранней диагностики гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной астмой.

Теоретическая значимость работы

Полученные результаты расширяют представление о роли генетических маркеров сердечно-сосудистых заболеваний в формировании синдрома взаимного отягощения при сочетанном течении бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Полученные данные могут послужить основой для разработки донозологической профилактики гипертонической болезни, дополняют имеющиеся и могут служить фундаментом для более углубленных дальнейших исследований, посвящённых изучению коморбидной патологии при бронхиальной астме.

Практическая значимость работы

Результаты исследования позволили оценить распространённость полиморфизмов генов Lys198Asn EDN1, Thr174Met AGT, Met235Thr AGT, C786T eNOS, Leu28Pro APOE, S447X LPL, Thr145Met GPIIb α , Asn363Ser GCCR у больных с изолированной бронхиальной астмой и у пациентов с бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.

Данные о связи полиморфизмов Asn363Ser GCCR, C786T eNOS с неконтролируемым течением бронхиальной астмы позволят провести дальнейшие исследования с целью разработки персонализированного подхода ведения пациентов с неконтролируемым течением бронхиальной астмы.

Полученные сведения о связи полиморфизмов T174M AGT, Lys198Asn EDN1 с ранним дебютом гипертонической болезни у пациентов с бронхиальной

астмой могут быть использованы для выявления лиц повышенного риска развития ГБ.

Степень достоверности результатов

Достоверность результатов работы обусловлена системной проработкой проблемы, достаточном объеме исследуемой выборки, достоверностью применяемых методов и тщательной обработкой полученных результатов. Имеет место качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике.

Положения, выносимые на защиту

1. Коморбидные заболевания существенно влияют на формирование неконтролируемого течения бронхиальной астмы. У пациентов с кардиореспираторной патологией регистрировалось достоверно более тяжелое течение бронхиальной астмы ($p=0,00069$).
2. Носительство генотипа AA полиморфизма Asn363Ser GCCR ассоциировалось с меньшим стажем бронхиальной астмы ($p=0,02$) в группе сочетанного течения бронхиальной астмы и гипертонической болезни.
3. С неконтролируемым течением бронхиальной астмы при сопутствующей гипертонической болезни ассоциированы генотип AS полиморфизма Asn363Ser GCCR ($p=0,008$) и генотип CT полиморфизма C786T гена eNOS ($p=0,009$). В противоположность, генотип AA полиморфизма Asn363Ser GCCR ($p=0,035$) и генотип TT полиморфизма C786T гена eNOS ($p=0,002$) следует рассматривать как протективные в отношении контроля бронхиальной астмы.
4. С ранним дебютом гипертонической болезни при бронхиальной астме ассоциированы: генотип TM полиморфизма T174M AGT ($p=0,013$), генотип TT полиморфизма Lys198Asn EDN1 ($p=0,018$).
5. У пациентов с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни генотипы SS и AS полиморфизма Asn363Ser GCCR оказывают воздействие на процесс ремоделирования миокарда ($p=0,011$ и $p=0,034$ соответственно), генотип SS ассоциируется с ранним дебютом гипертонической

болезни ($p=0,018$), что обусловлено тяжелым течением бронхиальной астмы у носителей данных генотипов с развитием синдрома «взаимного отягощения».

Внедрение результатов работы в практику

Результаты настоящего исследования внедрены в лечебно-диагностический процесс в лечебно-диагностический процесс пульмонологического отделения филиала №3 ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко», пульмонологического отделения Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Областная клиническая больница», в учебный процесс кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены на Юбилейной научной сессии, посвященной 20-летию Рязанской областной общественной организации «Ассоциация врачей-терапевтов» (Рязань, 2012); Шестой научно-практической конференции «Духовное и врачебное наследие святителя Луки (Войно-Ясенецкого)» (Москва-Купавна, 2014), Международной научно-практической конференции «Традиционная и инновационная наука: история, современное состояние, перспективы» (Уфа, 2018), межкафедральном совещания кафедр терапии и семейной медицины ФДПО с курсом медико-социальной экспертизы, поликлинической терапии и профилактической медицины, фтизиатрии с курсом лучевой диагностики, факультетской терапии, хирургии, акушерства и гинекологии ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (Рязань, 2018).

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 123 страницах машинописного текста, иллюстрирована 15 таблицами и 12 рисунками. Состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 197 источников, в том числе 69 отечественных и 128 зарубежных авторов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе, 5 – в журналах, включенных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В поперечное (cross-sectional studies) исследование были включены пациенты, находившиеся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении Государственное бюджетное учреждение Рязанской области «Областная клиническая больница» с 2012 по 2015 гг. с верифицированным диагнозом бронхиальной астмы, подписавшие информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование включено 90 пациентов. Все пациенты относились к европеоидной расе, были представителями российской популяции, проживали на территории г. Рязань и Рязанской области и не состояли в родстве.

Обследованные пациенты были разделены на 2 группы: в первую группу был включен 61 пациент с бронхиальной астмой и сопутствующей гипертонической болезнью, во вторую – 29 больных изолированной БА.

В исследования были включены пациенты, отвечающие критериям включения: способность понимать процедуры исследования, адекватно сотрудничать с исследователем; возраст от 18 до 70 лет; диагноз «Бронхиальная астма» и «Гипертоническая болезнь» (для пациентов основной группы), установленный согласно глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы и рекомендаций Российского кардиологического общества.

В исследование не включались пациенты, удовлетворяющие следующим критериям исключения: наличие значимых поражений клапанного аппарата сердца, кардиомиопатий; наличие ишемической болезни сердца в виде

стенокардии напряжения, перенесенных инфарктов миокарда, нарушений ритма, хронической сердечной недостаточности; анамнестические данные с указанием на тромбоэмболию легочной артерии, острое нарушение мозгового кровообращения; наличие острых воспалительных и хронических заболеваний в фазе обострения и неполной ремиссии; наличие онкологических заболеваний и болезней крови; сахарного диабета 1-го и 2-го типа; неконтролируемых заболевания щитовидной железы; наличие тяжелых нарушений функции почек в анамнезе, сопровождающихся снижением скорости клубочковой фильтрации ниже 60 мл/мин (рассчитанной по формуле СКД-EPI); наличие нарушений функции печени в анамнезе, сопровождавшихся повышением уровня трансаминаз, общего билирубина более чем в 3 раза выше верхней границы нормы; больные, страдающие психическими расстройствами и хроническим алкоголизмом; период беременности и лактации.

Полное соответствие пациентов вышеперечисленным критериям позволило изучить медико-генетические особенности течения бронхиальной астмы при сопутствующей гипертонической болезни у относительно однородной группы пациентов.

Всем пациентам были выполнены клиническое обследование, лабораторное исследование, включавшее общеклинический анализ крови, оценку липидного спектра, спирометрия, электрокардиография, эхокардиография, проведено генетическое исследование – определение полиморфизмов гена ангиотензиногена AGT (T174M, M235T), гена эндотелина-1 EDN1 (Lys198Asn), гена эндотелиальной синтазы оксида азота eNOS (C786T), гена аполипротеина E APOE (Leu28Pro), гена липопротеиновой липазы LPL (Ser477Ter), гена тромбоцитарного гликопротеина 1b, α -субъединицы GP1ba (Thr145Met), гена рецептора к глюкагону GCCR (Asn363Ser). Исследование функции внешнего дыхания проводилось с помощью спирографа Spirovit SP-1 “Schiller” (Швейцария). Спирометрия проводилась согласно рекомендаций Европейского Респираторного Общества. Электрокардиография выполнялась с помощью портативного трёхканального электрокардиографа SCHILLER

Cardiovit AT-1 по общепринятой методике. Трансторакальная эхокардиография проводилась всем пациентам на аппарате Vivid 3 Pro Vingmed technology (General electric, США) в одномерном и двухмерном режимах с применением непрерывноволнового и импульсноволнового доплера. Для определения ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) рассчитывали массу миокарда левого желудочка (ММЛЖ), подсчитывали индекс массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ), индексированный на площадь поверхности тела. Гипертрофию миокарда ЛЖ (ГЛЖ) определяли при ИММЛЖ > 124 г/м² у мужчин и при 109 г/м² – у женщин.

Биохимический анализ крови выполнялся для всех пациентов централизованно с помощью биохимического анализатора Reflotron-plus (Roche, Швейцария) с обязательной оценкой липидограммы: общего холестерина (ХС), холестерина высокой плотности (ЛПВП), холестерина низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов (ТГ). Определение генетических полиморфизмов исследуемых генов проводилось на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории РязГМУ методом ПЦР с электрофоретической схемой детекции результата «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», Россия) после выделения ДНК из лейкоцитов венозной крови.

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась с использованием ПО Microsoft Excel 2010, Statistica 10 и SAS JMP 10. Статистическая значимость различий значений признаков в двух группах определялась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. При сравнении категориальных переменных оценка значимости различия долей проводилась с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. При описании данных, распределение которых отличалось от нормального закона, рассчитывались медиана и квартили. Проверка гипотезы о распределении данных по нормальному закону производилась с помощью критерия согласия Шапиро-Уилка. Количественные данные в тексте представлены в виде «медиана (25-й процентиль; 75-й процентиль)». Статистическая значимость была зафиксирована на уровне 0,05. Для моделирования оценки риска артериальной

гипертензии у пациентов в зависимости от ряда показателей, использовались деревья классификаций. Для оценки качества построенных деревьев применялся ROC-анализ. Для определения диагностической ценности прогностической модели рассчитаны следующие операционные характеристики: диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность, диагностическая эффективность.

Клинико-демографическая характеристика исследуемых групп

В исследование было включено 90 пациентов. Пациенты разделены на 2 группы. В основную группу включен 61 пациент (25 мужчин (41%) и 36 женщин (59%)), страдающий БА и ГБ, в возрасте от 51 до 62 лет (медиана возраста 57 [51; 62] лет). В группу сравнения вошли 29 человек (16 мужчин (55%) и 13 женщин (45%)) с изолированной бронхиальной астмой в возрасте от 33 до 53 лет (медиана возраста 50 [33; 53] лет).

При изучении анамнестических и спирометрических данных у 27 больных основной исследуемой группы (44,3%) наблюдалась неконтролируемая БА, у 34 (55,7%) пациентов – частично контролируемая БА, полный контроль БА в основной группе не отмечен. В группе сравнения у 4 больных (13,8%) регистрировалась контролируемая БА, частично контролируемая и неконтролируемая БА в группе сравнения диагностированы у 20 пациентов (69,0%) и 5 пациентов (17,2%) соответственно. В группе пациентов с кардиореспираторной патологией отмечалось достоверно более тяжелое течение БА ($p = 0,00069$).

Относительно факторов риска ССЗ оценивались ИМТ и липидный спектр. Медиана ИМТ у больных изолированной БА и в группе сочетанного течения БА+ГБ составили 25,8 [21,5; 29,4] кг/м² и 28,1 [25,8; 33,8] кг/м² соответственно. Пациенты с коморбидной патологией имели достоверно более высокий ИМТ ($p=0,0058$). Анализируя результаты липидограммы в исследуемых группах выявлены статистически значимые различия ($p=0,0035$) в отношении уровня ЛПНП у пациентов основной группы и группы сравнения - 3,5 [3,07; 4,2] ммоль/л и 3,1 [2,61; 3,62] ммоль/л соответственно.

Таблица 1 – Частоты аллелей и генотипов изучаемых полиморфных вариантов генов в основной группе и группе сравнения

Ген	Полиморфизм	Распределение генотипов, n (%)			χ^2	p
		Генотип	Основная группа	Группа сравнения		
Ген ангиотензиногена (AGT)	Thr174Met	ТТ	29 (47,5%)	17 (58,6%)	0,9656	0,3258
		ТМ	26 (42,6%)	12 (41,4%)	0,0125	0,9111
		ММ	6 (9,8%)	0 (0%)	3,0562	0,0804
		Аллель Т	84 (68,9%)	46 (79,3%)	2,1431	0,1432
		Аллель М	38 (31,1%)	12 (20,7%)	2,1431	0,1432
	Met235Thr	ММ	29 (47,5%)	18 (62,1%)	1,6627	0,1972
		МТ	32 (52,5%)	11 (37,9%)	1,6627	0,1972
		Аллель М	90 (73,8%)	47 (81,0%)	1,1408	0,2855
	Аллель Т	32 (26,2%)	11 (19,0%)	1,1408	0,2855	
Ген эндотелина-1 (EDN1)	Lys198Asn	GG	40 (65,6%)	16 (55,2%)	0,9047	0,3415
		GT	18 (29,5%)	7 (24,1%)	0,2826	0,5950
		ТТ	3 (4,9%)	4 (13,8%)	2,1584	0,1418
		Аллель G	89 (78,8%)	39 (72,2%)	0,8728	0,3502
		Аллель T	24 (21,2%)	15 (27,8%)	0,8728	0,3502
Ген эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS)	C 786 T	ТТ	34 (55,7%)	20 (69,0%)	1,4330	0,2313
		ТC	27 (44,3%)	9 (31,0%)	1,4330	0,2313
		Аллель T	95 (77,9%)	49 (84,5%)	1,0748	0,2999
		Аллель C	27 (22,1%)	9 (15,5%)	1,0748	0,2999
Ген аполипопротеина E (APOE)	Leu 28 Pro	Leu28Leu	55 (90,2%)	25 (86,2%)	0,3116	0,5767
		Leu28Pro	6 (9,8%)	4 (13,8%)	0,3116	0,5767
		28Leu	116 (95%)	54 (93%)	0,2933	0,5881
		28Pro	6 (5%)	4 (7%)	0,2951	0,5870
Ген липопротеиновой липазы (LPL)	Ser477Ter	GG	14 (23,0%)	8 (27,6%)	0,2287	0,6325
		CG	47 (77,0%)	21 (72,4%)	0,2287	0,6325
		Аллель G	75 (61,5%)	37 (63,8%)	0,0898	0,7644
		Аллель C	47 (38,5%)	21 (36,2%)	0,0898	0,7644
Ген тромбоцитарного гликопротеина 1b, α -субъединицы (GP1b α)	Thr145Met	ТТ	29 (47,5%)	13 (44,8%)	0,0581	0,8095
		СТ	32 (52,5%)	16 (55,2%)	0,0581	0,8095
		Аллель T	90 (73,8%)	42 (72,4%)	0,0370	0,8475
		Аллель C	32 (26,2%)	16 (27,6%)	0,0370	0,8475
Ген рецептора к глюкагону (GCCR)	Asn363Ser	AA	50 (82,0%)	20 (68,97%)	1,9224	0,1656
		AS	8 (13,1%)	9 (31,03%)	4,1197	0,0424
		SS	3 (4,9%)	0 (0%)	1,4754	0,2245
		Аллель A	108 (88,5%)	49 (84,5%)	0,5762	0,4478
		Аллель S	14 (11,5%)	9 (15,5%)	0,5762	0,4478

Распространение частот полиморфных вариантов изучаемых генов достоверно не отличались в исследуемых группах, что предопределило проведение углубленного анализа с выявлением ассоциаций полиморфных вариантов генов с течением БА и ГБ (таблица 1). Распределение аллелей не соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p < 0,05$), что предопределило использование общей модели наследования для сравнения частот генотипов.

Оценка связи полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону GCCR со степенью контроля и стажем бронхиальной астмы

Установлено, что у носителей генотипа AS по полиморфизму Asn363Ser GCCR среди пациентов основной группы достоверно чаще ($p=0,008$) диагностировалась неконтролируемая бронхиальная астма, в то время как у носителей генотипа AA достоверно чаще ($p=0,035$) выявлялась частично контролируемая БА (таблица 2). В группе сравнения статистически значимых связей со степенью контроля БА в зависимости от генетического материала не получено.

Таблица 2 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма Asn363Ser гена GCCR в основной группе в зависимости от степени контроля БА

Степень контроля БА	Генотип			Аллели	
	AA	AS	SS	A	S
Частично контролируемая БА (n=37)	31 (91,2%)	1 (2,9%)	2 (5,9%)	63 (92,6%)	5 (7,4%)
Неконтролируемая БА (n=27)	19 (70,4%)	7 (25,9%)	1 (3,7%)	45 (83,3%)	9 (16,7%)
P	$\chi^2 = 4,4$ $p = 0,0358$	$\chi^2 = 6,98$ $p = 0,0083$	$\chi^2 = 0,15$ $p = 0,6959$	$\chi^2 = 2,57$ $p = 0,1089$	

Кроме того, носители генотипа AA по полиморфизму гена GCCR достоверно чаще ($p=0,002$) имели меньший стаж бронхиальной астмы, и, соответственно, лучшую степень контроля (таблица 3).

Полученные результаты позволяет рассматривать генотип AA как протективный в отношении контроля и прогрессирования бронхообструктивной патологии, а генотип SS как предиктор неблагоприятного течения БА.

Таблица 3 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма Asn363Ser гена GCCR в основной группе в зависимости от длительности заболевания БА основной группе

Длительность БА	Генотип			Аллели	
	AA	AS	SS	A	S
До 5 лет (n=17)	17 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	34 (100,0%)	0 (0,0%)
Более 5 лет (n=44)	33 (77,0%)	3 (6,8%)	8 (18,2%)	74 (84,1%)	14 (15,9%)
P	$\chi^2 = 5,19$ p = 0,0228	$\chi^2 = 1,2$ p = 0,2695	$\chi^2 = 3,6$ p = 0,0593	$\chi^2 = 6,11$ p = 0,0134	

Оценка связи полиморфизма T786C гена eNOS со степенью контроля и стажем бронхиальной астмы

Анализируя влияния полиморфизма T786C eNOS на степень контроля БА в группе пациентов с изолированной БА отмечено, что у носителей TT-генотипа по полиморфизму T786C eNOS достоверно чаще (p=0,0017) выявлялась контролируемая и частично контролируемая БА, тогда как неконтролируемая бронхиальная астма достоверно чаще (p = 0,0093) диагностировалась у носителей TC-генотипа (таблица 4).

Таблица 4 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма T786C гена eNOS в контрольной группе в зависимости от степени контроля БА

Степень контроля БА	Генотип		Аллели	
	TT	TC	T	C
Контролируемая БА (n=4)	4 (100%)	0 (0%)	8 (100%)	0 (0%)
Частично контролируемая БА (n=20)	16 (80,%)	4 (20,0%)	36 (90,0%)	4 (10,0%)
Неконтролируемая БА (n=5)	0 (0,0%)	5 (100,0%)	5 (50,0%)	5 (50,0%)
P	$\chi^2 = 9,9$ p = 0,0017	$\chi^2 = 6,8$ p = 0,0093	$\chi^2 = 11,47$ p = 0,0032	

Полученные результаты позволяют предположить предикторную роль генотипа TC полиморфизма T786C eNOS в формировании неконтролируемого течения БА, в противоположность генотип TT следует рассматривать как протективный в отношении прогрессирования и прогноза БА.

Гены-кандидаты, ассоциированные с ранним началом гипертонической болезни при бронхиальной астме

Для выявления ассоциативной связи полиморфизма генов с артериальной гипертензией пациенты группы БА-ГБ были разделены на 2 подгруппы – подгруппа с ранним и поздним дебютом ГБ. Под «ранним» началом ГБ понимали возникновение заболевания в возрасте менее 45 лет у мужчин и менее 55 лет у женщин. В обследованной группе было 22 пациента с ранним началом ГБ (20 женщин (90,9%) и 2 мужчин (9,1%)) и 39 больных (16 женщин (41,0%) и 23 мужчин (59,0%)) с поздним началом ГБ. Медиана возраста подгруппы больных с ранним дебютом ГБ составила 49,5 [45; 52] лет, в группе позднего дебюта – 61 [58; 65] лет.

Таблица 5 – Частоты аллелей и генотипов генов ангиотензиногена, рецептора к глюкагону и эндотелина-1 в группе БА-ГБ при раннем и позднем дебюте ГБ

Генотипы	Больные с поздним началом ГБ (n=39)	Больные с ранним началом ГБ (n=22)	χ^2	Уровень Р
Полиморфный маркер M174T гена ангиотензиногена AGT				
ТТ	21 (53,8%)	8 (36,4%)	1,7238	0,1892
ТМ	12 (30,8%)	14 (63,4%)	6,2130	0,0127
ММ	6 (15,4%)	0 (0,0%)	3,7538	0,0527
Аллель Т	54 (69,2%)	30 (68,2%)	0,0144	0,9044
Аллель М	24 (30,8%)	14 (31,8%)		
Полиморфный маркер Ans363Ser гена рецептора к глюкагону GCCR				
АА	33 (84,6%)	17 (77,3%)	0,5131	0,4738
AS	6 (15,4%)	2 (9,1%)	0,4889	0,4844
SS	0 (0,0%)	3 (13,6%)	5,5933	0,0180
Аллель А	72 (92,3%)	36 (81,8%)	3,0470	0,0809
Аллель S	6 (7,7%)	8 (18,2%)		
Полиморфный маркер Lys198Asn гена эндотелина-1 (EDN1)				
GG	25 (64,1%)	15 (68,2%)	0,1037	0,7475
GT	14 (35,9%)	4 (18,2%)	2,1222	0,1452
ТТ	0 (0,0%)	3 (13,6%)	5,5933	0,0180
Аллель G	64 (82,1%)	34 (77,3%)	0,4065	0,5238
Аллель Т	14 (17,9%)	10 (22,7%)		

В группе позднего дебюта ГБ отмечены достоверно большие ($p < 0,05$) показатели эхокардиографии, характеризующие гипертрофию миокарда левого желудочка (ТЗСЛЖ, ТМЖП, ММЛЖ, ИММЛЖ). Кроме того, у лиц с БА при позднем дебюте ГБ регистрировались достоверно большие значения общего холестерина ($p=0,0002$) и его атерогенных фракций (ЛПНП) ($p=0,0003$).

Распределение частот аллелей и генотипов изучаемых полиморфизмов генов-кандидатов, ассоциированных с ранним началом ГБ у больных БА, представлено в таблице 5.

Анализ вклада полиморфизма T174M гена ангиотензиногена (AGT) в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме

При попарном сравнении частот генотипов значимо различались частоты полиморфизма T174M гена AGT ($p=0,013$) у пациентов с ранним дебютом ГБ при сопутствующей БА по TM-генотипу (таблица 5), что подтверждает предикторную роль данного полиморфизма в развитии гипертонической болезни.

Анализ вклада полиморфизма Lys198Asn гена эндотелина (EDN1) в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме

При проведении статистического анализа в подгруппе раннего начала достоверно чаще ($p=0,018$) встречался патологический гомозиготный TT-генотип (таблица 5). Частота встречаемости гетерозиготного GT генотипа достоверно не отличалась в исследуемых подгруппах, однако в группе позднего начала ГБ доля гетерозиготного генотипа в 2 раза превышала таковую в группе раннего дебюта ГБ. Полученные данные могут указывать на связь TT генотипа с ранним развитием ГБ у больных БА.

Анализ вклада полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону GCCR в развитие артериальной гипертензии при бронхиальной астме

При сравнении частот генотипов полиморфизма Asn363Ser GCCR выявлена ассоциация генотипа SS полиморфного маркера гена GCCR с ранним началом ГБ при сопутствующей БА ($p=0,018$) (таблица 5).

Нами также проведена оценка влияния генетических маркеров на развитие ГЛЖ. Для этого пациенты разделены на подгруппы БА- ГБ 1 стадии (20 пациентов (32,8%)) и БА- ГБ 2 стадии (41 пациент (67,2%)). При сравнении частот генотипов полиморфизма Asn363Ser GCCR в исследуемых подгруппах 2 стадия ГБ ассоциировалась с носительством AS- ($p=0,034$) и SS-генотипов ($p=0,011$) (таблица 6). Однако, по нашему мнению, полученные данные не столько отражают вклад данного полиморфизма гена GCCR в реализацию АГ с формированием ГЛЖ, сколько связаны с более тяжелым течением БА при сопутствующей ГБ, отсутствием должного контроля БА у носителей патологического гомозиготного SS генотипа, и, как следствие, развитием синдрома «взаимного отягощения».

Таблица 6 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма Asn363Ser гена рецептора к глюкагону (GCCR) у больных БА в зависимости от стадии ГБ

Генотип	1 стадия ГБ (n=20)	2 стадия ГБ (n=41)	χ^2	P
AA	20 (100,0%)	30 (73,2%)	0,185	0,6670
AS	0 (0%)	8 (19,5%)	4,492	0,0341
SS	0 (0%)	3 (7,3%)	6,468	0,011
Аллель А	40 (100%)	68 (82,9%)	7,715	0,0055
Аллель S	0 (0%)	14 (17,1%)		

Прогнозирование риска развития гипертонической болезни при бронхиальной астме

Конечным этапом нашего исследования явилась разработка модели прогнозирования риска развития ГБ при БА. Для получения наглядной модели классификации использован метод «деревьев классификации».

Посредством однофакторного регрессионного анализа для построения модели стратификации риска развития гипертонической болезни у больных БА проведена оценка абсолютного и относительного риска развития гипертонической болезни с расчетом значимости каждого фактора с помощью критерия χ^2 Пирсона. При анализе показателей исследуемых групп выяснилось, что риск возникновения ГБ значительно выше у лиц с ИМТ $\geq 23,5$ кг/м² - ОР

2,13 (95% ДИ 1,11-4,12, $p < 0,0015$), в возрасте старше 55 лет – ОР 1,81 (95% ДИ 1,32-2,47, $p < 0,0001$), с тяжелым течением БА - ОР 1,65 (95% ДИ 1,14-2,37, $p < 0,0019$) и/или неконтролируемым ее течением - ОР 1,44 (95% ДИ 1,11-1,87, $p < 0,0123$). Признаки, прошедшие однофакторный анализ, были включены в многофакторный анализ, из генетических маркеров выбраны полиморфизмы T174M и M235T AGT, в связи с этим смоделировано 2 дерева решений.

Результаты моделирования с отражением прогнозирования риска развития ГБ у лиц с БА в зависимости от степени контроля и длительности БА, параметров ИМТ и наличия различных генотипов полиморфизма T174M гена AGT отражены в таблице 7.

Таблица 7 – Результат моделирования и прогнозирования

№	Правило	Объем выборки	Риск развития ГБ
1	Неконтролируемая БА & длительность БА более 10 лет	11	100,0%
2	частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ \geq 23,5 & MM/ TM генотип T174M AGT	19	89,5%
3	Неконтролируемая БА & длительность БА до 10 лет	21	76,20%
4	частично контролируема / контролируемая БА & ИМТ \geq 23,5 & TT генотип T174M AGT	27	56%
5	частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ $<$ 23,5	12	16,7%

Данная модель обладает чувствительностью 72,1% и специфичностью 75,9% в отношении диагностики ГБ у лиц с БА (площадь под кривой AuROC=0,812). Прогностическая ценность положительного результата данной модели составила 86,3%, отрицательного результата – 56,4%.

Результаты моделирования и прогнозирования гипертонической болезни у носителей различных генотипов полиморфизма M235T гена AGT, страдающих бронхиальной астмой, в зависимости от тех же клинических факторов представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Результат моделирования и прогнозирование

№	Правило	Объем выборки	Риск развития ГБ
1	Неконтролируемая БА & длительность БА более 10 лет	11	100,0%
2	частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ \geq 23,5 & МТ генотип M235T AGT	18	83,3%
3	Неконтролируемая БА & длительность БА до 10 лет	21	76,20%
4	частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ \geq 23,5 & ММ генотип M235T AGT	28	61%
5	частично контролируемая / контролируемая БА & ИМТ $<$ 23,5	12	16,7%

Данная модель обладает чувствительностью 68,9% и специфичностью 72,4% в отношении диагностики ГБ у лиц с БА (площадь под кривой AuROC=0,78). Прогностическая ценность положительного результата данной модели составила 84,0%, отрицательного результата – 52,5%.

Статистический анализ показывает, что группу высокого риска ГБ составляют пациенты с неконтролируемой БА, ее длительностью более 10 лет, ИМТ \geq 23,5², носители генотипа ММ и генотипа ТМ полиморфизма T174M и генотипа МТ полиморфизма M235T гена AGT.

ВЫВОДЫ

1. Коморбидные заболевания существенно влияют на формирование неконтролируемого течения бронхиальной астмы. У пациентов с кардиореспираторной патологией регистрировалось достоверно более тяжелое течение бронхиальной астмы ($p=0,00069$).
2. Носительство генотипа АА полиморфизма Asn363Ser GCCR ассоциировалось с меньшим стажем бронхиальной астмы в группе сочетанного течения бронхиальной астмы и гипертонической болезни ($p=0,02$).
3. С неконтролируемым течением бронхиальной астмы при сопутствующей гипертонической болезни ассоциированы генотип AS полиморфизма Asn363Ser

GCCR ($p=0,008$) и генотип СТ полиморфизма C786T гена eNOS ($p=0,009$). В противоположность, генотип AA полиморфизма Asn363Ser GCCR ($p=0,035$) и генотип ТТ полиморфизма C786T гена eNOS ($p=0,002$) следует рассматривать как протективные в отношении контроля бронхиальной астмы.

4. С ранним дебютом гипертонической болезни при бронхиальной астме ассоциированы: генотип ТМ полиморфизма T174M AGT ($p=0,013$), генотип ТТ полиморфизма Lys198Asn EDN1 ($p=0,018$).

5. У пациентов с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни генотипы SS и AS полиморфизма Asn363Ser GCCR оказывают воздействие на процесс ремоделирования миокарда ($p=0,011$ и $p=0,034$ соответственно), генотип SS ассоциируется с ранним дебютом гипертонической болезни ($p=0,018$), что обусловлено тяжелым течением бронхиальной астмы у носителей данных генотипов с развитием синдрома «взаимного отягощения».

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни отмечается достоверно более тяжелое течение бронхиальной астмы, что предопределяет более детальное обследование и тщательное наблюдение данной группы пациентов.

2. Оценка полиморфизмов Asn363Ser GCCR, C786T eNOS могут быть использованы для выявления группы риска неконтролируемого течения бронхиальной астмы.

3. Оценку полиморфизмов T174M AGT, Lys198Asn EDN1 можно рекомендовать для выявления больных бронхиальной астмой с повышенным риском развития гипертонической болезни.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Пахомя Н.С.** Диастолическая дисфункция миокарда у больных бронхиальной астмой с сопутствующей артериальной гипертензией [Текст] / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев, И.Н. Ходюшина // От профилактики к высоким технологиям: материалы съезда / под ред. Р.Г. Оганова [и др.]. – Рязань: Узоречье, 2011. – С.131-134.
2. Урясьев, О.М. Трудности терапии у больных бронхиальной астмой с сопутствующей сердечно-сосудистой патологией [Текст] / О.М. Урясьев, А.А. Аверин, **Н.С. Пахомя** // **Справочник врача общей практики.** – 2012. – №3. – С.29-36.
3. **Пахомя, Н.С.** Ассоциация полиморфизмов гена ангиотензиногена AGT 174 и 235 с течением бронхиальной астмы у больных с сопутствующей гипертонической болезнью [Текст] / Н.С. Пахомя // Сочетанная патология в клинической практике: сборник научных трудов, посвященный 70-летию кафедры факультетской терапии / под ред. О.М. Урясьева; ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: РИО РязГМУ, 2013. – Вып.2. – С.89-91.
4. **Пахомя, Н.С.** Роль полиморфизмов некоторых генов в реализации артериальной гипертензии [Текст] / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев, А.В. Шаханов // **Земский врач.** – 2014. – № 3-4 (24). – С. 21-24.
5. **Пахомя, Н.С.** Роль синтаз оксида азота при заболеваниях внутренних органов (артериальная гипертензия, бронхиальная астма) [Текст] / Н.С. Пахомя // Духовное и врачебное наследие Святителя Луки (Войно-Ясенецкого): сборник материалов Шестой научно-практической конференции, посвященной духовному и врачебному наследию Святителя Луки (Войно-Ясенецкого) / под ред. д.м.н., проф. генерал-майора м/с И.Б. Максимова; д.м.н. п-ка м/с В.М. Мануйлова. – М.: Филиал №3 (32 Центральный военно-морской госпиталь) ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им.акад. Н.Н.Бурденко» МО РФ, 2014. – С.311-314.
6. **Пахомя, Н.С.** Генетические аспекты ишемической болезни сердца [Текст] / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев, Ю.А. Панфилов // **Российский медико-**

биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2015. – №4. – С.126-132.

7. **Пахомя, Н.С.** Полиморфизм некоторых генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний у больных бронхиальной астмой с сопутствующей гипертонической болезнью [Текст] / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев // **Земский врач. – 2015. – №4 (28). – С. 24-29.**

8. **Пахомя, Н.С.** Полиморфизм T174M гена ангиотензиногена у больных артериальной гипертензией и бронхообструктивной патологией [Текст] / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев // X Национальный конгресс терапевтов: сборник материалов. – М., 2015. – С. 123.

9. **Пахомя, Н.С.** Структурно-функциональное ремоделирование миокарда у больных бронхиальной астмой с сопутствующей сердечно-сосудистой патологией [Текст] / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев // **Земский врач. – 2015. – №1 (25). – С. 28-31.**

10. **Пахомя, Н.С.** Оценка клинико-генетических факторов развития артериальной гипертензии у больных бронхиальной астмой [Текст] / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев // Традиционная и инновационная наука: история, современное состояние, перспективы: сборник статей Международной научно – практической конференции (Уфа, 17 августа 2018 г.): в 2 ч. – Уфа: ОМЕГА САЙНС, 2018. – Ч. 2. – С.179-184.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

БА – бронхиальная астма

ГБ – гипертоническая болезнь

ГЛЖ – гипертрофия левого желудочка

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка

ИМТ – индекс массы тела

ЛЖ – левый желудочек

ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка
ПЦР – полимеразная цепная реакция
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
ТГ – триглицериды
ТЗСЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка
ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки
ХС – общий холестерин
ЭКГ – электрокардиография
ЭхоКГ – эхокардиография
АГТ – ангиотензиноген
АПОЕ – аполипопротеин Е
EDN1 – эндотелин-1
eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота
GCCR – ген рецептора к глюкагону
GINA – Global Initiative for Asthma
GPI α – гликопротеин I α -субъединицы
SNP – полиморфизм единичного нуклеотидного сайта