

*На правах рукописи*

**Шаханов Антон Валерьевич**

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ NOS1 И NOS3  
И ОКСИДА АЗОТА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И  
ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ**

14.01.04 – внутренние болезни

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Рязань – 2017

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:**

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

**Официальные оппоненты:**

**Будневский Андрей Валериевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Купаев Виталий Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой семейной медицины ИПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**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](http://www.rzgmu.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
кандидат медицинских наук, доцент

Песков О.Д.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

В настоящее время внимание исследователей всего мира всё больше привлечено к проблеме коморбидности (Верткин А.Л., Скотников А.С., 2013; Kang S.-Y. et al., 2016; Lee K.S. et al., 2017; Chen W., 2017). Изучение коморбидной патологии способствует более детальному пониманию механизма развития болезней и разработке патогенетически обоснованной терапии, что особенно важно в отношении широко распространённых и социально-значимых заболеваний, к которым относятся, в первую очередь, болезни сердечно-сосудистой и дыхательной систем. По распространённости среди заболеваний дыхательной системы второе место после хронической обструктивной болезни лёгких занимает бронхиальная астма (БА), число больных которой в мире достигает 300 миллионов человек. Большой интерес представляет изучение сочетанной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни (ГБ). Среди пациентов, страдающих БА более половины страдают различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, среди которых основное место занимает гипертоническая болезнь (Белова И.В., Кулагин О.Л., Жестков А.В., 2013). Доля пациентов с бронхиальной астмой, страдающих артериальной гипертензией, составляет от 12.9% до 37.6% и увеличивается с возрастом. Многие вопросы, касающиеся клинического течения и патогенеза коморбидной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни, остаются открытыми.

Одним из возможных общих звеньев патогенеза БА и ГБ является нарушение выработки оксида азота (NO), который принимает участие во многих физиологических процессах. Так его синтез в клетках эндотелия регулирует тонус сосудов, кровоток и давление, а также контролирует адгезию тромбоцитов и пролиферацию гладкомышечных клеток (Петровский Ф.И. и др., 2002). Снижение выработки оксида азота эндотелием приводит к развитию эндотелиальной дисфункции и повышению артериального давления (Лямина С.В. и др., 2007). Показано, что оксид азота выполняет роль дополнительного

регулятора работы эпителия дыхательных путей, а в малых концентрациях препятствует бронхоспазму (Лев Н.С., 2000). Также оксид азота участвует в регуляции ионного транспорта и барьерной функции в эпителии (Han X. et al., 2004; Hardiman K.M. et al., 2004; Helms M.N. et al., 2005), синхронного движения ресничек в верхних дыхательных путях, секреции слизи и мукоцилиарного клиренса (Adler K.B., Li Y., 2001). Кроме того, при бронхиальной астме NO участвует в развитии воспаления, влияя на продукцию противовоспалительных медиаторов в эпителии и ингибируя функциональную активность Т-лимфоцитов (Eriksson U., 2005).

В организме человека оксид азота синтезируется группой цитохром Р-450-подобных гемопротеинов из L-аргинина – синтаз оксида азота (NO-синтаз), включающих три изофермента, кодируемых различными генами (Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G., 2001). Результаты генетических исследований показывают участие генов NO-синтаз в патогенезе множества заболеваний, среди которых БА и ГБ.

Таким образом, способность NO выступать в качестве физиологического регулятора или же возможного токсического агента может быть обусловлена активностью изоформ синтазы оксида азота, которая различается при наличии тех или иных мутаций генов NOS. Среди таких мутаций интересен мононуклеотидный полиморфизм гена NOS1 – 84G/A и гена NOS3 – 786C/T.

Представляется весьма актуальным изучение клинико-патогенетического значения оксида азота и полиморфизма генов NOS1 и NOS3 у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.

### **Цель исследования**

Оценить клиническое значение полиморфизма генов NOS1 и NOS3 и оксида азота у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.

### **Задачи исследования**

1. Изучить клинико-функциональные особенности сочетанного течения бронхиальной астмы смешанной формы и гипертонической болезни.

2. Оценить клиническое значение уровней метаболитов оксида азота в крови у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни.

3. Изучить особенности показателей выдыхаемой фракции оксида азота у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни.

4. Оценить клиническое значение полиморфизмов генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни.

5. Изучить взаимосвязь полиморфизма генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни с уровнем метаболитов оксида азота в крови и выдыхаемой фракцией оксида азота.

#### **Научная новизна**

1. Впервые изучено клиническое значение уровней метаболитов оксида азота в крови у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни и показана их связь с развитием сочетанной патологии.

2. Впервые проведена комплексная оценка показателей оксида азота у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни, включающая уровень метаболитов оксида азота в крови и измерение выдыхаемой фракции оксида азота.

3. Впервые изучена распространённость полиморфизма генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни в Рязанской области и изучено клиническое значение.

#### **Теоретическая значимость работы**

Полученные результаты расширяют представление о роли генетических факторов и оксида азота в формировании сочетанной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни и особенностях их клинического течения.

Полученные данные могут послужить основой для проведения дальнейших исследований, посвящённых изучению коморбидной патологии бронхиальной астмы.

### **Практическая значимость работы**

Результаты исследования позволили оценить распространённость полиморфизмов генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью. Выявление связи уровня метаболитов оксида азота в крови у больных с сочетанной патологией бронхиальной астмы и гипертонической болезнью позволит провести дальнейшие исследования и после разработки референтных значений применять данную методику в целях ранней диагностики гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой. Полученные сведения о связи T-аллеля полиморфизма NOS3 786C/T с повышенным риском развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой могут быть использованы для выявления больных из группы повышенного риска.

### **Степень достоверности результатов**

Достоверность и обоснованность результатов исследования базируется на глубоком анализе литературы по теме диссертации, достаточном объёме исследуемой выборки, строгом соблюдении применяемых методик и тщательной обработке полученных результатов с применением современных методов статистической обработки данных. Достоверность первичной документации исследования подтверждена их экспертной оценкой.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Течение гипертонической болезни у больных со смешанной формой бронхиальной астмы сопровождается более высокой степенью артериальной гипертензии по сравнению с больными с изолированной гипертонической болезнью. Наличие смешанной формы бронхиальной астмы у больных с гипертонической болезнью препятствует достижению целевых показателей артериального давления.

2. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных сочетанной патологией смешанной формы бронхиальной астмы и гипертонической болезни находится на промежуточных значениях относительно больных с изолированной бронхиальной астмой, имеющих наивысший уровень, и больных с изолированной гипертонической болезнью, у которых были зафиксированы наименьшие значения. Уровень метаболитов оксида азота в крови изменяется разнонаправленно, повышаясь при смешанной форме бронхиальной астмы и снижаясь при гипертонической болезни.

3. Сочетанное течение бронхиальной астмы смешанной формы и гипертонической болезни не оказывает влияния на уровень выдыхаемой фракции оксида азота по сравнению с изолированной бронхиальной астмой.

4. В развитии коморбидной патологии смешанной формы бронхиальной астмы и гипертонической болезни принимает участие полиморфизм NOS3 786C/T. Относительный риск развития коморбидной патологии смешанной формы бронхиальной астмы и гипертонической болезни по сравнению с изолированной бронхиальной астмой в 2,4 раза выше у носителей T-аллели полиморфизма NOS3 786C/T (95% CI: 1,04 – 5,56).

5. Уровень метаболитов оксида азота в крови ассоциирован с полиморфизмом NOS3 786C/T, при этом наличие C-аллели полиморфизма сопровождается более низкими показателями по сравнению с T-аллелью.

### **Внедрение результатов в практику**

Результаты работы внедрены в лечебно-диагностический процесс пульмонологического отделения ГБУ РО «Областная клиническая больница», терапевтического отделения госпиталя ФКУЗ «МСЧ МВД России по Рязанской области», терапевтического отделения ГБУ РО «Городская клиническая больница № 5», внедрены в учебный процесс кафедры факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней и кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

## **Апробация работы**

Основные положения диссертации представлены на ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова (Рязань, 2016), Всероссийской образовательно-научно-практической конференции студентов и молодых специалистов с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2017), межкафедральном совещания кафедр внутренних болезней и поликлинической терапии, госпитальной терапии, терапии ФДПО с курсом семейной медицины, факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (Рязань, 2017).

## **Объём и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 114 страницах машинописного текста, иллюстрирована 33 таблицами и 17 рисунками. Состоит из введения, 7 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 171 источник, в том числе 73 отечественных и 98 зарубежных авторов.

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе 6 – 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**

Исследование проводилось с января 2014 года по сентябрь 2016 года на кафедре факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России и выполнено в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения



медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2008 года, Национального стандарта Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика – Good Clinical Practice (GCP) ГОСТ Р 52379-2005». На проведение исследования получено одобрение Локального Этического Комитета ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

В исследование был включён 91 пациент, проходивший стационарное лечение в ГБУ РО «ОКБ» по поводу БА или ГБ. Все пациенты были представителями европеоидной расы, постоянно проживали на территории города Рязани и Рязанской области и не состояли в родстве. Пациенты были разделены на 3 группы. Основная группа включала 31 пациента, страдающего сочетанной патологией БА и ГБ. Группы сравнения включали по 30 пациентов с изолированной БА и изолированной ГБ соответственно. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

В исследования были включены пациенты, отвечающие критериям включения: пациент подписал добровольное информированное согласие на участие в данном исследовании; способен понимать процедуры исследования, а также адекватно сотрудничать с исследователем; возраст от 45 до 69 лет; диагноз «Бронхиальная астма, смешанная форма» и/или «Гипертоническая болезнь», установленный согласно глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы и рекомендаций Всероссийского научного общества кардиологов / Российского кардиологического общества соответственно. Больные БА включались в исследование после купирования обострения и отмены системных ГКС или перевода на поддерживающие дозы системных ГКС, если больной получал их до поступления в стационар.

В исследование не включались пациенты, удовлетворяющие следующим критериям исключения: беременность и период лактации; пациенты, находящиеся в приступном периоде бронхиальной астмы; наличие патологии сердечно-сосудистой системы в фазе декомпенсации; наличие психозов и психиатрических заболеваний в анамнезе; наличие тяжёлых нарушений функции печени в анамнезе, сопровождающихся повышением АЛТ, АСТ,

общего билирубина, или щелочной фосфатазы более чем в 3 раза выше верхней границы нормы; наличие тяжёлых нарушений функции почек в анамнезе, сопровождающихся снижением скорости клубочковой фильтрации ниже 60 мл/мин (рассчитанной по формуле MDRD); наличие иных сопутствующих заболеваний и состояний, способных оказывать влияние на функцию дыхательной и сердечно-сосудистой систем и исследуемые показатели; злоупотребление и/или зависимость от психоактивных веществ и/или алкоголя.

Всем пациентам было выполнено клиническое обследование, спирометрия, измерение выдыхаемой фракции оксида азота и лабораторное исследование, включающее общеклинический анализ крови, измерение суммарных метаболитов оксида азота в крови и определение полиморфизма генов синтаз оксида азота – NOS1 84G/A и NOS3 786C/T. Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводилось на спирометре MicroLab MK8 фирмы Micro Medical (Великобритания) с использованием должных величин ECCS / ERS и автоматической интерпретацией результатов согласно рекомендациям ATS / ERS 2005. Спирометрия проводилась согласно рекомендациям Европейского Респираторного Общества. Определение уровня суммарных метаболитов оксида азота проводили в сыворотке крови фотоколориметрическим методом в реакции с реактивом Грисса в модификации Метельской В. А. на микропланшетном анализаторе StatFax 3200 (Awareness Technology, США) (Метельская В.А., Туманова Н.Г., 2005). Измерение содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO) проводилось электрохимическим методом с помощью портативной тест-системы NObreath фирмы Bedfont Scientific Ltd (Великобритания). Определение генетического полиморфизма генов синтаз оксида азота NOS1 84G/A и NOS3 786C/T проводилось на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории РязГМУ методом аллель специфичной ПЦР с последующим электрофоретическим разделением продуктов амплификации. Материалом для молекулярно-генетического анализа служили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» фирмы

ООО НПФ «Литех» (г. Москва). Определение сопоставимости распределения аллелей изучаемых полиморфизмов в исследуемой выборке по отношению к популяции проводилось путем оценки соответствия равновесию Харди-Вайнберга. Для оценки связи полиморфизма с развитием заболевания использовалась общая и мультипликативная модель наследования в зависимости от соответствия равновесию Харди-Вайнберга.

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась с использованием ПО Microsoft Excel 2016, StatSoft Statistica 10 и DoctorStat 1.9. Оценка распределения признаков производилась с использованием критерия Шапиро-Уилка. Оценка распределения признаков производилась с использованием критерия Шапиро-Уилка, при рассчитанном значении  $p > 0,05$  распределение признавалось нормальным. Описание количественных признаков дано в виде  $Me [Q25; Q75]$ , где  $Me$  – медиана, а  $Q25$  и  $Q75$  – значения нижнего и верхнего квартиля соответственно. Для сравнения групп по количественному признаку использованы критерии Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни. Сравнение относительных показателей качественных признаков (частот и долей) выполнено по критерию  $\chi^2$  Пирсона или точному критерию Фишера. Для количественной оценки зависимости вероятности исхода от наличия фактора применён показатель отношения шансов с 95% доверительным интервалом. Оценка взаимосвязи количественных признаков между собой приведена с использованием коэффициента корреляции  $r$  Спирмена. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

### **Клинико-демографическая характеристика исследуемых групп**

В исследование был включён 91 пациент: 43 мужчины (47%) и 48 женщин (53%) в возрасте от 45 до 69 лет. Медиана возраста пациентов составила 55 [50; 62] лет. Пациенты были разделены на три группы. В основную группу вошёл 31 пациент, страдающий сочетанной патологией БА и ГБ, в возрасте от 45 до 66 лет (медиана 58 [53; 62] года). Среди пациентов основной группы было 16 мужчин (52%) и 15 женщин (48%). В первую группу сравнения вошли 30 пациентов с изолированной БА, в возрасте от 45 до 64 лет

(медиана 53 [46; 58] года). Среди пациентов первой группы сравнения было 15 мужчин (50%) и 15 женщин (50%). Вторую группу сравнения составляли 30 пациентов с изолированной ГБ, в возрасте от 47 до 69 лет (медиана 58 [53; 62] года). Среди пациентов второй группы сравнения было 12 мужчин (40%) и 18 женщин (60%). Среди пациентов страдающих БА (основная группа и первая группа сравнения) течение средней тяжести встречалось у 17 человек (28%), тяжёлое течение заболевания у 44 человек (72%). В том числе в основной группе (БА и ГБ) – течение средней тяжести у 8 человек (26%), тяжёлое течение у 23 человек (74%), а в группе больных с изолированной БА течение средней тяжести заболевания встречалось у 9 человек (30%), тяжёлое течение заболевания у 21 человека (70%). Не выявлено различий в тяжести БА у пациентов в зависимости от наличия или отсутствия гипертонической болезни ( $p = 0,937$ ). Также не выявлено различий между степенями базисной терапии ( $p = 0,672$ ) и дозами ИГКС у больных БА в зависимости от наличия сопутствующей ГБ. Группы изолированной БА и сочетанной БА и ГБ не отличались по используемой противоастматической терапии ( $p = 0,745$ ) и статусу курения ( $p = 0,441$ ). Анализируя течение гипертонической болезни у пациентов основной группы (БА и ГБ) и второй группы сравнения (ГБ) установлено, что I стадия заболевания встречалась у 10 человек (16%), II стадия у 17 человек (28%), III стадия у 34 человек (56%). В том числе среди пациентов с сочетанным течением БА и ГБ: I стадия – 9 человек (29%), II стадия – 9 человек (29%), III стадия – 13 человек (42%). А в группе больных изолированной ГБ: I стадия – 1 человек (3%), II стадия – 8 человек (27%), III стадия – 21 человек (70%). Распределение пациентов по достигнутой степени АГ представлено в таблице 1.

При сравнении показателей функции внешнего дыхания между группами установлено, что у больных сочетанной патологией БА и ГБ по сравнению с группами сравнения отмечаются более низкие показатели ОФВ<sub>1</sub> и МОС<sub>75</sub>, однако не выявлено влияния наличия сочетанной патологии БА и ГБ на другие показатели функции внешнего дыхания.

**Таблица 1 – Распределение пациентов по достигнутой степени АГ**

Достигнутая степень артериальной гипертензии	Группа	
	БА и ГБ (n=31)	ГБ (n=30)
I	52%	80%
II	35%	20%
III	13%	0%

**Определение метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью**

При анализе уровня метаболитов оксида азота в крови в зависимости от пола пациентов, не выявлено различий между мужчинами и женщинами (71,6 [67,0; 82,0] мкмоль/л и 74,3 [70,4; 80,8] мкмоль/л соответственно). Установлена достоверная отрицательная корреляция средней силы между уровнем метаболитов оксида азота в крови и возрастом пациентов ( $r = -0,339402$ ,  $p = 0,001$ ), которая, однако, не наблюдается в отдельных группах пациентов.

Медиана уровня метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой имела наивысшее значение, составляя 75,6 [70,4; 80,8] мкмоль/л, больных БА в сочетании с ГБ – 72,4 [66,2; 81,2] мкмоль/л, а больных гипертонической болезнью – 60,0 [54,6; 62,7] мкмоль/л. Наблюдаемые различия уровней метаболитов оксида азота в крови в зависимости от заболевания были статистически значимы ( $p < 0,001$ ). Парные сравнения групп выявили значимые различия уровней метаболитов оксида азота в группе больных БА и группе больных с сочетанием БА и ГБ по сравнению с группой больных ГБ ( $p < 0,001$  и  $p < 0,001$ , соответственно). Различия между больными БА с сопутствующей ГБ и без неё были статистически не значимы ( $p = 0,188$ ).

При сравнении уровней метаболитов оксида азота в крови больных БА в зависимости от степени тяжести заболевания установлено не статистически значимое ( $p = 0,114$ ) превышение уровней метаболитов оксида азота у больных с тяжёлым течением БА по сравнению со среднетяжёлым течением БА (77,4 [71,6; 82,4] мкмоль/л против 72,4 [70,4; 73,9] мкмоль/л). Анализируя уровень

метаболитов оксида азота в крови больных БА в зависимости от степени базисной терапии установлено, что медиана уровня метаболитов оксида азота в крови больных БА, находящихся на 5 степени терапии имела наивысшее значение, составляя 80,8 [75,6; 82,6] мкмоль/л, на 4 степени – 77,4 [69,7; 78,9] мкмоль/л, а на 3 степени – 72,4 [70,4; 73,9] мкмоль/л. Отмеченная тенденция к росту уровней метаболитов оксида азота в зависимости от увеличения объёма базисной терапии, однако, не является статистически значимой ( $p = 0,1850$ ).

Сравнение уровней метаболитов оксида азота в крови больных ГБ показало наличие статистически значимой ( $p = 0,0244$ ) тенденции к снижению уровней метаболитов оксида азота в зависимости от стадии гипертонической болезни. Так медиана уровней оксида азота в крови у больных ГБ I стадии составила 73,5 [67,0; 79,3] мкмоль/л, II стадии – 66,6 [55,8; 81,2] мкмоль/л, III стадии – 60,8 [57,7; 67,7] мкмоль/л. Похожая тенденция отмечается и при анализе уровней метаболитов оксида азота в крови больных ГБ в зависимости от степени АГ: медиана уровня метаболитов оксида азота при I степени АГ составила 76,6 [64,5; 87,6] мкмоль/л, II степени АГ – 66,0 [57,7; 71,6] мкмоль/л, III степени АГ – 60,8 [58,5; 68,9] мкмоль/л. Однако различия между группами статистически незначимы ( $p = 0,1245$ ).

При анализе связи уровней метаболитов оксида азота в крови и показателей функции внешнего дыхания, и числа эозинофилов в общем анализе крови не выявлено значимой корреляции ни в одной из трёх групп.

### **Определение выдыхаемой фракции оксида азота у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью**

Не выявлено связи определяемой выдыхаемой фракции оксида азота с полом пациентов и возрастом. Так медиана FeNO у мужчин составила 16 [11; 21] ppb, а у женщин 16 [12; 21] ppb. Анализ корреляционной связи FeNO и возраста показал достоверное отсутствие связи ( $r = -0,088778$ ,  $p = 0,403$ )

При сравнении уровня FeNO по группам установлено, что медиана FeNO больных БА в сочетании с ГБ имела наивысшее значение, составляя 19 [14; 22] ppb, больных БА – 16 [12; 23] ppb и больных ГБ – 16 [9; 20] ppb. Несмотря на

то, что выявленные различия не были статистически значимы ( $p = 0,149$ ), обращает на себя внимание тенденция к более высоким значениям FeNO наблюдаемых у больных изолированной БА и больных с сочетанием БА и ГБ в сравнении с больными с изолированной ГБ.

Проведя сравнение уровней FeNO у больных БА и БА в сочетании с ГБ в зависимости от степени тяжести заболевания установлено отсутствие связи между FeNO и степенью тяжести БА в обеих группах ( $p = 0,504$ ,  $p = 0,187$ ). Аналогично в группе БА и группа БА и ГБ не установлено связи между объемом базисной терапии БА и уровнем FeNO ( $p = 0,641$ ,  $p = 0,154$ ). Также не выявлено различий между группой больных сочетанной патологией БА и ГБ и больных БА ни в одной из подгрупп в зависимости от степени тяжести БА и объема терапии, используемой для поддержания контроля.

Анализируя связь уровня FeNO, функции внешнего дыхания и числа эозинофилов в общем анализе крови у больных БА установлено наличие умеренной отрицательной статистически-значимой корреляции между уровнем FeNO и соотношением ОФВ1/ФЖЕЛ, а также уровнем FeNO и MOC25 ( $r = -0,467400$ ,  $p = 0,009207$  и  $r = -0,420379$ ,  $p = 0,020722$  соответственно). Аналогично в группе больных БА и ГБ выявлена умеренная отрицательная статистически-значимая корреляция между уровнем FeNO и MOC50 ( $r = -0,386665$ ,  $p = 0,031653$ ). В группе больных ГБ также определяется похожая корреляция между уровнем FeNO и MOC50, однако уровень её статистической значимости не достигает приемлемого ( $r = -0,319097$ ,  $p = 0,085658$ ).

### **Полиморфизм генов NOS1 и NOS3 у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью**

Исследование полиморфизма генов NOS1 и NOS3 произведено у 71 человека, среди которых 33 мужчины (46%) и 38 женщин (54%). Пациенты были распределены на 3 группы в зависимости от наличия заболевания. Основная группа включала 24 пациента, страдающего сочетанной патологией бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Группы сравнения – группа больных с изолированной бронхиальной астмой и группа больных с

изолированной гипертонической болезнью включали 23 и 24 пациента соответственно. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Среди 71 пациента геномная информация полиморфизма NOS1 84G/A распределилась следующим образом: GG-генотип – 18 человек (25%), GA-генотип – 24 человека (34%), AA-генотип – 29 человек (41%), аллель G – 42% (n=60), аллель A – 58% (n=82). Распределение не соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2 = 6,71$ ,  $p = 0,01$ ). Распределение генетической информации по исследуемым группам представлено в таблице 2.

**Таблица 2** – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма NOS1 84G/A по группам и их соответствие равновесию Харди-Вайнберга

Генотип / Аллель	БА и ГБ	БА	ГБ	p
GG	0,250	0,174	0,330	$\chi^2 = 2,13$ , $p = 0,712$
GA	0,375	0,391	0,250	
AA	0,375	0,435	0,417	
G	0,437	0,370	0,458	$\chi^2 = 4,19$ , $p = 0,123$
A	0,563	0,630	0,542	
Соответствие равновесию Харди-Вайнберга	$\chi^2 = 1,36$ , $p = 0,24$	$\chi^2 = 0,59$ , $p = 0,44$	$\chi^2 = 5,92$ , $p = 0,02$	

Не выявлено различия между больными основной группы и группой больных БА в частотах наблюдаемых генотипов ( $\chi^2 = 0,43$ ,  $p = 0,81$ ) и частотах определяемых аллелей ( $\chi^2 = 0,45$ ,  $p = 0,50$ ). Так же, как и при сравнении частот генотипов в паре БА и ГБ – БА, в паре БА и ГБ – ГБ не выявлено статистически значимых отличий в частотах генотипов ( $\chi^2 = 0,94$ ,  $p = 0,63$ ).

Аналогично при сравнении всех трёх исследуемых групп между собой в рамках общей модели наследования не определяется достоверного отличия частот генотипов в зависимости от группы пациентов ( $\chi^2 = 2,13$ ,  $p = 0,712$ ). Однако при этом обращает на себя внимания тенденция к увеличению доли



генотипа GG полиморфизма NOS1 84G/A в ряду БА – БА и ГБ – ГБ (0,174 – 0,250 – 0,330), что может указывать на его связь с исследуемой патологией.

Для оценки влияния полиморфизма NOS1 84G/A на течение БА больные распределены на группы по степеням тяжести и ступеням базисной терапии. Установлено, что у больных генетический полиморфизм гена NOS1 не оказывает статистически значимого влияния на тяжесть течения БА и степень базисной терапии, однако отмечается тенденция к увеличению частоты выявления генотипа GG как с увеличением тяжести БА, так и с увеличением объема базисной терапии.

Оценивая связь полиморфизма NOS1 84G/A и течения ГБ, больные были разделены на группы в зависимости от стадии и степени ГБ. Не установлено статистически значимого влияния определяемого генотипа или аллели полиморфизма на стадию или степень ГБ у пациентов.

Выполнен анализ влияния генотипа NOS1 84G/A на функцию внешнего дыхания больных бронхиальной астмой. Для всех генотипов и всех показателей ФВД показано отсутствие влияния полиморфизма NOS1 84 G/A.

При сравнении уровней метаболитов оксида азота в зависимости от генотипа NOS1 84G/A установлено, что медиана уровня метаболитов оксида азота в крови пациентов-носителей генотипа GG составляла 66,2 [54,6; 82,4] мкмоль/л, генотипа GA – 68,9 [59,6; 74,9] мкмоль/л, генотипа AA – 68,9 [60,4; 74,3] мкмоль/л. Определяемые различия носили статистически незначимый характер ( $p = 0,990$ ), что позволяет считать, что полиморфизм NOS1 84G/A не оказывает ощутимого влияния на уровень метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью. Аналогичные результаты получены и при анализе влияния полиморфизма NOS1 84G/A на уровень суммарных метаболитов оксида азота в отдельных группах.

Оценивая влияние полиморфизма NOS1 84G/A на уровень выдыхаемой фракции оксида азота, определено, что медиана FeNO у больных носителей GG-генотипа составила 14 [9; 16] ppb, GA-генотипа – 16 [13; 20] ppb, AA-генотипа – 17 [13; 22] ppb. Указанные различия были статистически не значимы

( $p = 0,172$ ) и кроме того находятся в пределах погрешности измерений тест-системы NOBreath. Аналогичные результаты получены и при анализе влияния полиморфизма NOS1 84G/A на уровень FeNO в отдельных группах.

Среди 71 пациента геномная информация полиморфизма NOS3 786C/T распределилась следующим образом: СС-генотип – 9 человек (12%), СТ-генотип – 31 человек (44%), ТТ-генотип – 31 человек (44%), аллель С – 35% ( $n=49$ ), аллель Т – 65% ( $n=93$ ), что соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2 = 0,08$ ,  $p = 0,77$ ). Распределение генетической информации по исследуемым группам представлено в таблице 3.

**Таблица 3** – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма NOS3 786C/T по группам и их соответствие равновесию Харди-Вайнберга

Генотип / Аллель	БА и ГБ	БА	ГБ	p
СС	0,083	0,261	0,042	$\chi^2 = 10,49$ , $p = 0,03$
СТ	0,458	0,522	0,333	
ТТ	0,458	0,217	0,625	
С	0,313	0,522	0,208	$\chi^2 = 10,55$ , $p = 0,005$
Т	0,688	0,478	0,792	
Соответствие равновесию Харди-Вайнберга	$\chi^2 = 0,11$ , $p = 0,74$	$\chi^2 = 0,05$ , $p = 0,83$	$\chi^2 = 0,00$ , $p = 0,96$	

Установлено, что исследуемые группы достоверно отличаются друг от друга как по распределению аллелей ( $\chi^2 = 10,55$ ,  $p = 0,005$ ), так и по распределению отдельных генотипов ( $\chi^2 = 10,49$ ,  $p = 0,03$ ). Обращает на себя внимание, что распределение генетической информации в основной группе находятся в промежуточном состоянии между больными с изолированной бронхиальной астмой и изолированной гипертонической болезнью.

Сравнивая группу больных с коморбидной патологией БА и ГБ и группу больных с изолированной БА установлено достоверное увеличение частоты встречаемости Т-аллели и снижение встречаемости С-аллели ( $\chi^2 = 4,24$ ,

$p = 0,04$ ). Рассчитывая относительный риск, установлено, что Т-аллель полиморфизма NOS3 786С/Т в 2,4 раза увеличивает шанс развития сочетанной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни по сравнению с изолированной БА (OR = 2,40, 95% CI: 1,04 – 5,56).

Для оценки влияния полиморфизма NOS3 786С/Т на течение бронхиальной астмы больные распределены на группы по степеням тяжести и ступеням базисной терапии. Результаты представлены в таблицах. Не установлено статистически значимого влияния определяемой генетической информации полиморфизма NOS3 786С/Т на тяжесть бронхиальной астмы и объём базисной терапии требуемой для поддержания контроля БА.

Изучая связь полиморфизма NOS3 786С/Т и течения гипертонической болезни у пациентов, больные были разделены на группы в зависимости от стадии и степени ГБ. Не выявлено статистически значимого влияния определяемого генотипа или аллели полиморфизма на стадию или степень гипертонической болезни у пациентов.

Для оценки возможного влияния полиморфизма NOS3 786С/Т на ФВД у больных БА было выделено на три подгруппы в зависимости от определённого генотипа. Результаты сравнения представлены в таблице 4. Влияние генотипа на ФВД оказалось статистически значимым только для МОС25 ( $p = 0,029$ ): наличие генотипа ТТ сопровождалось более высоким уровнем по сравнению с генотипами СТ и СС. Кроме этого обращает на себя внимание тенденция к снижению ФЖЕЛ, ОФВ1, МОС50 в ряду генотипов ТТ – СТ – СС.

Анализируя взаимосвязь между генотипом NOS3 786С/Т и уровнем метаболитов оксида азота в крови установлено, что медиана уровня метаболитов оксида азота в крови пациентов-носителей генотипа СС составляла 69,7 [60,0; 70,4] мкмоль/л, генотипа СТ – 68,9 [57,7; 77,4] мкмоль/л, генотипа ТТ – 67,7 [59,7; 79,3] мкмоль/л.

**Таблица 4** – Показатели функции внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой в зависимости от генотипа NOS3 786С/Т

Генотип	СС	СТ	ТТ	р
ФЖЕЛ	70 [68; 73]	86 [71; 92]	81 [71; 91]	0,096
ОФВ1	70 [69; 78,5]	82 [74; 84]	82 [77; 89]	0,083
ОФВ1/ФЖЕЛ	82 [78; 88]	80 [76; 83]	87 [79; 100]	0,083
МОС25	79 [65; 100]	77 [68; 85]	99 [79; 110]	0,029
МОС50	75 [64; 87]	63 [59; 84]	66 [64; 90]	0,510
МОС75	62 [56; 93]	57 [53; 75]	67 [61; 96]	0,158

Результаты оценки влияния полиморфизма NOS3 786С/Т на уровень суммарных метаболитов оксида азота в отдельных группах представлены в таблице 5. Во всех группах отмечается тенденция к более низким значениям среди носителей генотипа СС.

**Таблица 5** – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от генотипа NOS3 786С/Т по группам, мкмоль/л

Генотип	БА и ГБ	БА	ГБ
СС	59,5 [58,9; 60,0]	70,1 [69,7; 73,5]	43,9 [43,9; 43,9]
СТ	68,1 [60,8; 72,0]	75,8 [70,1; 79,7]	55,6 [51,6; 57,7]
ТТ	79,3 [72,4; 84,3]	78,9 [77,0; 90,5]	60,4 [57,0; 65,4]
р	0,033	0,090	0,024

Оценивая влияние полиморфизма NOS3 786С/Т на уровень выдыхаемой фракции оксида азота, определено, что медиана FeNO у больных носителей СС-генотипа составила 15 [9; 23] ppb, СТ-генотипа – 16 [13; 20] ppb, ТТ-генотипа – 16 [9; 20] ppb.

Полученные различия не были статистически значимы ( $p = 0,834$ ), и кроме того находятся в пределах погрешности измерений тест-системы NObreath. Аналогичные результаты получены и при анализе влияния полиморфизма NOS3 786С/Т на уровень FeNO в отдельных группах.

## ВЫВОДЫ

1. Сочетанное течение смешанной формы бронхиальной астмы и гипертонической болезни препятствует достижению целевых значений артериального давления и сопровождается более высокой степенью артериальной гипертензии по сравнению с изолированной гипертонической болезнью.

2. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных с изолированной бронхиальной астмой выше, чем в крови больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни выше, чем в крови больных с изолированной гипертонической болезнью.

3. У пациентов с изолированной гипертонической болезнью отмечается снижение уровня метаболитов оксида азота в крови с увеличением стадии гипертонической болезни и степени артериальной гипертензии ( $p = 0,0244$ ). Степень тяжести и объём базисной терапии бронхиальной астмы не оказывает достоверного влияния на уровень метаболитов оксида азота в крови.

4. Уровень выдыхаемой фракции оксида азота у больных бронхиальной астмой не зависит от наличия гипертонической болезни.

5. Частота встречаемости Т-аллели полиморфизма NOS3 786С/Т у больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни выше, чем у больных с изолированной бронхиальной астмой ( $p = 0,04$ ). Наличие Т-аллели полиморфизма NOS3 786С/Т ассоциировано с более высокой частотой развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой (OR = 2,40, 95% CI: 1,04 – 5,56).

6. С-аллель полиморфизма NOS3 786С/Т ассоциирована с более низким уровнем метаболитов оксида азота в крови у больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезнью, по сравнению с Т-аллелью.

При этом уровень метаболитов оксида азота в крови возрастает в ряду генотипов СС < СТ < ТТ ( $p = 0,033$ ,  $p = 0,024$ ).

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Пациенты с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни реже достигают целевых показателей артериального давления по сравнению с пациентами с изолированной гипертонической болезнью, поэтому имеют более высокий риск сердечно-сосудистых осложнений и требуют активного наблюдения в рамках диспансерных мероприятий для их предотвращения.

2. Измерение уровня метаболитов оксида азота в крови может быть рекомендовано как дополнительный диагностический метод при обследовании больных с гипертонической болезнью, при этом пониженный уровень метаболитов оксида азота соответствуют более высокой стадии гипертонической болезни.

3. Измерение выдыхаемой фракции оксида азота может быть использовано как у пациентов с изолированной бронхиальной астмой, так и в сочетании с гипертонической болезнью.

4. Оценка полиморфизма NOS3 786С/Т может быть использована для выявления больных бронхиальной астмой с повышенным риском развития гипертонической болезни. При этом Т-аллель полиморфизма NOS3 786С/Т ассоциирована с увеличением частоты развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой в 2,4 раза.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Урясьев, О.М. Роль полиморфизмов некоторых генов в реализации артериальной гипертензии [Текст] / О.М. Урясьев, Н.С. Пахомя, **А.В. Шаханов** // **Земский врач**. — 2014. — № 3-4 (24). — С. 21-24.

2. Урясьев, О.М. Выдыхаемый оксид азота как дополнительный диагностический инструмент в амбулаторной практике [Текст] / О.М. Урясьев,

А.И. Рогачиков, **А.В. Шаханов** // **Земский врач**. — 2015. — № 1 (25). — С. 32-36.

3. Урясьев, О.М. Генетические факторы в развитии бронхиальной астмы: значение синтаз оксида азота [Текст] / О.М. Урясьев, **А.В. Шаханов**, А.И. Рогачиков // **Земский врач**. — 2015. — № 1 (25). — С. 20-23.

4. Урясьев, О.М. Генетические факторы в развитии бронхиальной астмы: значение синтаз оксида азота [Текст] / О.М. Урясьев, **А.В. Шаханов**, А.И. Рогачиков // Факультетская клиника: сборник научных трудов. — Рязань: ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, 2016. — С. 174-178.

5. **Шаханов, А.В.** Определение метаболитов оксида азота в плазме крови у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью [Текст] / А.В. Шаханов // Материалы ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. — Рязань: РязГМУ, 2016. — С. 294-296.

6. Клинико-патогенетическое значение определения оксида азота в крови пациентов с бронхиальной астмой и гипертонической болезнью [Текст] / **А.В. Шаханов** [и др.] // **Казанский медицинский журнал**. — 2017. — Т. 98, № 4. — С. 492-496. (Соавт.: Э.С. Бельских, В.А. Луняков, О.М. Урясьев).

7. Определение оксида азота в крови больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью [Текст] / **А.В. Шаханов** [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2017. — Т. 16, № 5. — С. 309. (Соавт.: М.Ю. Гольдин, Л.В. Бурцева, О.М. Урясьев).

8. Урясьев, О.М. Роль полиморфизма синтаз оксида азота в формировании коморбидной патологии - бронхиальной астмы и гипертонической болезни [Текст] / О.М. Урясьев, **А.В. Шаханов** // **Казанский медицинский журнал**. — 2017. — Т. 98, № 2. — С. 226-232.

9. **Шаханов, А.В.** Полиморфизм генов синтаз оксида азота у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью [Текст] / А.В. Шаханов, А.А. Никифоров, О.М. Урясьев // **Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова**. — 2017. — Т. 25, № 3. — С. 378-390.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ — артериальная гипертензия

АД — артериальное давление

БА — бронхиальная астма

ГБ — гипертоническая болезнь

ГКС — глюкокортикостероиды

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГКС — ингаляционные глюкокортикостероиды

МОС25 — мгновенная объёмная скорость после выдоха 25% ФЖЕЛ

МОС50 — мгновенная объёмная скорость после выдоха 50% ФЖЕЛ

МОС75 — мгновенная объёмная скорость после выдоха 75% ФЖЕЛ

ОФВ1 — объём форсированного выдоха за первую секунду

ФВД — функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких

ATS — Американское Торакальное Общество

ECCS — European Community for Coal and Steel / Европейское Объединение Стали и Угля

ERS — European Respiratory Society / Европейское респираторное общество

FeNO — выдыхаемая фракция оксида азота

NO — оксид азота

NO-синтаза — синтаза оксида азота