

На правах рукописи



НАУМОВА Ольга Вячеславовна

**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ
ДИСФУНКЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РТУТИ**

3.2.4 – медицина труда

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ангарск – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»

Научный руководитель: доктор медицинских наук, доцент
Кудаева Ирина Валерьевна

Научный консультант: доктор медицинских наук, доцент
Катаманова Елена Владимировна

Официальные оппоненты: **Валеева Эльвира Тимерьяновна**
доктор медицинских наук, доцент / Федеральное бюджетное учреждение науки «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», главный научный сотрудник отдела медицины труда

Кольдибекова Юлия Вячеславовна
кандидат биологических наук / Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, старший научный сотрудник с выполнением обязанностей заведующего лабораторией исследования метаболизма и фармакокинетики отдела биохимических и цитогенетических методов диагностики

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Защита состоится 22 декабря 2021 г., в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.176.01 (Д 001.012.01) при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова» (ФГБНУ «НИИ МТ») по адресу: 105275, г. Москва, проспект Буденного, д. 31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «НИИ МТ» и на официальном сайте ФГБНУ «НИИ МТ» - www.irioh.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор,

Рубцова Нина Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Неблагополучное состояние условий труда на ряде крупных химических предприятий Иркутской области в течение почти тридцати лет приводило к длительному интенсивному воздействию паров ртути на рабочих, что послужило причиной высокой распространенности хронической ртутной интоксикации (ХРИ) профессионального генеза. Это заболевание снижает качество жизни и является причиной стойкой утраты трудоспособности (Лахман О.Л. и др., 2009). Часто сопутствующей патологией при ХРИ являются заболевания сердечно-сосудистой системы (Андреева О.К., 2007; Катаманова Е.В., 2012). Сосудистые нарушения в виде церебрального атеросклероза отмечены в динамике развития токсической энцефалопатии при ХРИ, которые сохраняются, а нередко, прогрессируют, даже после прекращения контакта с токсикантом (Лахман О.Л. и др., 2010). Воздействие ртути может являться фактором риска для развития дисфункции эндотелия (ДЭ) (Guallar E. et al., 2002; Bautista L.E. et al., 2009; Houston M.C., 2011; Omanwar S. et al., 2011; Roman H.A. et al., 2011; Sherman L.S. et al., 2015; Wiggers G.A. et al., 2016; Al-Zubaidi E.S., Rabee A.M., 2017; Genchi G. et al., 2017), вызывать нарушения в липидном обмене (Кудаева И.В. и др., 2011), и влиять на вегетативную нервную систему и сосуды (Андреева О.К., 2002; Мещерягин В.А. и др., 2005; Wiggers G.A. et al., 2008; Houston M.C., 2011). ДЭ рассматривается в качестве одного из звеньев патологического процесса при развитии сахарного диабета, бронхиальной астмы, заболеваниях печени, ишемической болезни сердца, атеросклероза, артериальной гипертензии и других заболеваний (John S., Schmieder R.E., 2000; Домашенко М.А., 2006; Суслина З.А. и др., 2006; Андреева Е.О. и др., 2008; Михно В.А., Никитина И.Л., 2009; Pasarín M. et al., 2017; Konukoglu D., Uzun H., 2017; Siasos G. et al., 2018; Yeryomenko G.V., 2018; Vecchié A. et al., 2019; Khukhlina O.S. et al., 2019; Tuttolomondo A. et al., 2020).

При ДЭ происходит изменение проницаемости и адгезивности сосудистой стенки, расстройство тонуса сосудов, а также нарушение тромбогенности. В связи с этим, функциональное состояние эндотелия сосудов привлекает внимание многих исследователей (Лилли Л., 2003; Булатова И.А. и др., 2009; Власова С.П. и др., 2010; Воронина Л.П., 2011; Богомолова И.К., Михно В.А., 2011; Шевченко Ю.Л. и др., 2011; Шумакова В.А. и др., 2014).

К настоящему времени определены ряд маркеров ДЭ, к которым относятся факторы роста и повреждения сосудов, биологически активные вещества, регулирующие тонус сосудов, провоспалительные факторы, (Лысикова М.А. и др., 2004; Дуда А.И., 2005; Парамонов А.Д., 2005; Бережная Н.М., 2007; Смирнова О.А., 2008). Также широко обсуждается влияние генетических детерминант на функцию эндотелия сосудов (Котовская Ю.В., 2002; Досенко В.Е., 2005; Schelleman H. et al., 2007; Kirma C. et al., 2007; Конопка А. et al., 2011; Lin R. et al., 2012; Zhang X., 2012; Satyanarayana M.L. et al., 2013).

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на перечисленные факты, проблема изменения или нарушения функционирования эндотелия у работающих в условиях воздействия ртути и у пациентов с ХРИ изучена недостаточно. В частности, остается неизученным взаимодействие факторов сосудистого гемостаза с проявлениями дислипидемий у работающих в контакте с ртутью. Особый интерес представляет вопрос о роли воспалительной реакции и гомоцистеина в состоянии сосудистого эндотелия у лиц с ХРИ. Также мы не встретили в доступной литературе работ с комплексным анализом факторов, приводящих к нарушению функции эндотелия, с учетом индивидуальной экспозиционной нагрузки и генетических маркеров ДЭ, в процессе интоксикации ртутью.

Цель исследования: Установить закономерности и особенности проявления эндотелиальной дисфункции на разных этапах хронической интоксикации ртутью и при наличии сопутствующей сердечно-сосудистой патологии.

Задачи исследования:

1. Исследовать биохимические маркеры эндотелиальной дисфункции у рабочих, не имеющих диагноза профессионального заболевания и у лиц с хронической ртутной интоксикацией, в зависимости от наличия сердечно-сосудистой патологии.

2. Установить ассоциацию производственных факторов (стаж, экспозиционная нагрузка) с биохимическими маркерами эндотелиальной дисфункции при хроническом воздействии ртути.

3. Изучить полиморфизм генов, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией с концентрациями кодируемых ими продуктов у лиц, подвергшихся хроническому воздействию ртути.

Научная новизна и теоретическая значимость

Подтверждена роль производственных факторов (стаж, экспозиционная нагрузка) в развитии проатерогенных нарушений (индекс атерогенности, антитела к окисленным ЛПНП), содержании фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), и дисрегуляции выработки эндотелина-1 на донозологическом этапе и при начальных проявлениях интоксикации ртутью.

Установлены новые факты, характеризующие особенности проявления эндотелиальной дисфункции при воздействии ртути: дисрегуляция сосудистого тонуса, развитие проатерогенных нарушений и изменение в соотношении маркеров повреждения эндотелия.

Определена этапность изменений показателей эндотелиальной дисфункции при хронической интоксикации ртутью, характеризующаяся в донозологический период дисбалансом маркеров регуляции сосудистого тонуса (снижение синтеза оксида азота, увеличение продукции ангиотензина II, эндотелина-1, гистамина), молекул межклеточной адгезии sICAM-1 и проатерогенными нарушениями; в начальной стадии интоксикации ртутью – активацией продукции молекул сосудистой адгезии sVCAM-1 и эндотелина-1 при параллельном снижении экспрессии sICAM-1; в отдаленный период

хронической ртутной интоксикации – изменением концентрации серотонина с пониженных значений на повышенные.

Практическая значимость и внедрения в практику

На основе полученных результатов определены диагностические критерии, направленные на выявление ЭД у лиц, экспонированных ртутью, у пациентов с ХРИ и при развитии коморбидной сердечно-сосудистой патологии.

Материалы исследований позволили научно обосновать диагностические критерии, которые были использованы при разработке: «Способ прогнозирования значений индекса атерогенности у стажированных работающих, экспонированных ртутью» (патент РФ №2627587, 2016 г.); «Метод прогнозирования значений индекса атерогенности у стажированных работающих в условиях экспозиции ртутью» (методические рекомендации, утвержденные на заседании проблемной комиссии №45, 2017 г.)

В ходе выполнения диссертационной работы разработано учебное пособие «Липидный обмен при воздействии производственных факторов» и внедрено в образовательный процесс ИГМАПО – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ (акты внедрения от 05 марта и 03 апреля 2015), ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России (акты внедрения от 25 марта и 03 апреля 2015) и ФГБНУ «ВСИМЭИ» (акт внедрения от 16 января 2020 г.).

Методология и методы исследования. В качестве основной методологии приняты системные клинико-экспериментальные исследования, включающие поперечное наблюдение за группами работников, подвергавшихся вредному влиянию паров металлической ртути на производстве. В работе использованы теоретические и эмпирические методы исследований. Основным теоретическим методом исследований являлся математический анализ, эмпирическими – биохимические методы исследования. Были применены результаты гигиенических (оценка экспозиционной нагрузки токсикантов на организм работающих) и аналитических (анализ результатов углубленных медицинских осмотров) исследований. Был проведен комплекс исследований:

аналитические (анализ результатов углубленных медицинских осмотров для выявления сопутствующей сердечно-сосудистой патологии) и лабораторные (оценка биохимических и молекулярных маркеров эндотелиальной дисфункции, изучение полиморфизмов генов-кандидатов ЭД у лиц, экспонированных парами металлической ртути). Это позволило установить связи между неблагоприятными условиями труда (хроническое воздействие паров металлической ртути) и маркерами эндотелиальной дисфункции, а также разработать и обосновать критерии ее диагностики.

Положения, выносимые на защиту:

1. Установлен вклад производственных факторов (стаж, экспозиционная нагрузка) в формировании эндотелиальной дисфункции, проявляющийся у стажированных лиц, экспонированных ртутью, в нарушении липидного обмена (индекс атерогенности, антитела к окисленным ЛПНП) и содержании фактора роста эндотелия сосудов VEGF; у пациентов с I, I-II стадией хронической ртутной интоксикации – в изменении концентрации эндотелина-1 и фактора роста эндотелия сосудов VEGF; в постконтактном периоде данный вклад отсутствует. Воздействие ртути на изменение концентрации маркеров ЭД осуществляется, в том числе, посредством влияния на полиморфные варианты генов-кандидатов развития сердечно-сосудистых заболеваний (*AGT Met235Thr* и *Thr174Met*; *EDNI Lys198Asn*; *NOS3 T786C*).

2. Закономерности проявления эндотелиальной дисфункции при хроническом воздействии ртути на всех этапах развития интоксикации проявляются в снижении синтеза оксида азота, увеличении продукции ангиотензина II и гистамина, нарушении липидного обмена и дисрегуляции выработки эндотелина-1. Прогрессирование хронической ртутной интоксикации сопровождается нарастанием уровня молекул сосудистой адгезии sVCAM-1, постепенным снижением содержания молекул межклеточной адгезии sICAM-1 до референсных значений и изменением концентрации серотонина с пониженных значений на повышенные.

3. Диагностическими критериями эндотелиальной дисфункции при хроническом воздействии ртути у лиц с сердечно-сосудистой патологией являются: низкий уровень серотонина и ХС ЛПВП, высокая концентрация ангиотензина II, фактора Виллебранда, молекул межклеточной адгезии sICAM-1, фактора роста эндотелия сосудов VEGF и индекса атерогенности.

Степень достоверности и апробация результатов исследования.

Достоверность результатов проведенного исследования подтверждается достаточным объемом исследований, применением современных и соответствующих поставленным задачам методов исследования и статистической обработки. Основные результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых Экологические и медицинские проблемы Сибири (Ангарск, 2012); Всероссийской научной конференции молодых ученых «Медико-биологические аспекты химической безопасности» (Санкт-Петербург, 2013); I Международной научно-практической интернет-конференции «Липидология – наука XXI века» (Казань, 2013); в школе-семинаре «Методические подходы к иммуно-биохимической диагностике профессионально и экологически обусловленной патологии с позиций доказательной медицины» (Ангарск-Иркутск, 2014); Втором международном симпозиуме «Ртуть в биосфере: эколого-геохимические аспекты» (Новосибирск, 2015); на XIII Всероссийском конгрессе с международным участием «Профессия и здоровье» (Новосибирск, 2015); На 3-ем Международном Молодежном Форуме «Профессия и здоровье» (Суздаль, 2020); на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Экология и здоровье населения» (Ангарск. 2021).

Личный вклад автора. Автором осуществлено планирование, организация, отбор проб и проведение исследований, осуществлена выкопировка результатов медицинских осмотров и данных из историй болезни, сформулированы цель и задачи, определены объем и методы работы, выполнена статистическая обработка, анализ и обобщение полученных данных.

Совместно с сотрудниками лаборатории эколого-гигиенических исследований рассчитана экспозиционная нагрузка, совместно с сотрудниками лаборатории иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований в гигиене осуществлены биохимические и молекулярно-генетические исследования. Доля участия в накоплении материала составляет около 85%, в обобщении материала – до 100%.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 1 учебное пособие, 1 патент, 1 методические рекомендации, 28 печатных работ (14 статей в журналах, 14 статей и тезисов в сборниках материалов конференций), в том числе, 11 – в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационных работ, из которых 10 входят в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных материалам, методам и результатам собственных исследований, заключения и выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Работа изложена на 150 страницах машинописного текста, иллюстрирована 28 таблицами, 22 рисунками. Список литературы включает 261 источник, в том числе 115 отечественных и 146 иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **главе первой** приведен обзор отечественных и зарубежных публикаций, посвященных современным представлениям об эндотелиальной дисфункции (ЭД), механизмах ее развития и клинических проявлений. Рассмотрены возможные механизмы влияния ртути и вклад генетических полиморфизмов в развитие эндотелиальной дисфункции. В **главе второй** представлены материалы и методы исследования, которые включают описание групп и характеристику условий труда обследованных лиц. Были сформированы две основных когорты: стажированные работники, находящиеся в контакте с ртутью, со стажем работы во вредных условиях труда более 5 лет

(113 чел.) но не имеющие профессионального заболевания; пациенты с установленным диагнозом ХРИ разной степени выраженности (бывшие сотрудники ООО «Усольехимпром» и работающие ОАО «Саянскхимпласт» – 59 чел.). Были выделены следующие группы: практически здоровые лица без наличия сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) (1 группа); лица с ССЗ – артериальной гипертонией (АГ) или ишемической болезнью сердца (ИБС) (2 группа). В зависимости от наличия ССЗ все обследованные лица с ХРИ были разделены на группы с сопутствующими ССЗ (АГ, ИБС) – 4 и 6 группы; и без таковой – 3 и 5 группы. В соответствии с Руководством Р.2.2.2006-05 по оценке содержания вредных химических веществ в воздухе рабочей зоны, труд рабочих всех профессиональных групп (по степени вредности и опасности) в выделенных производствах ООО «Усольехимпром» и ОАО «Саянскхимпласт» следует квалифицировать как вредный второй степени (класс 3.2). Группу сравнения составили лица с АГ или ИБС, не имеющие в профессиональной деятельности контакта с вредными производственными факторами – 21 человек (Таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика обследуемых групп; Med (Q₂₅-Q₇₅)

Группа	Возраст, лет	Стаж, лет	Экспозиционная нагрузка, мг
1	37	11	0,9
Стажированные без ССЗ, n=83	33-47	9-14	0,6-1,4
2	52*	17*	2*
Стажированные с ССЗ, n=30	44-55	11-28	1-3
3	50*	24*	6*
ХРИ без ССЗ, n=9	47-51	16-26	2-7
4	50*	23*	3*
ХРИ с ССЗ, n=8	45-55	19-27	2-8
5	55*	15	4 ^{*^}
ХРИотд. без ССЗ, n=18	51-56	11-19	3-7
6	55*	16	4 ^{*^}
ХРИотд. с ССЗ, n=24	50-58	11-20	3-6
Группа сравнения с ССЗ. n=21	46 44-50	-	-
<i>p</i>	0,000	0,99	0,99

Примечание: *p* – уровень статистической значимости по ANOVA Краскела-Уоллиса ($p < 0,05$); * и ^ - различия статистически значимы по U-критерий Манна-Уитни ($p < 0,003$) по сравнению с 1 и 2 группой соответственно.

Биохимические методы исследования включали определение содержания эндотелина-1 (ЭТ-1), серотонина, гистамина, ангиотензина II, hsCRP, гомоцистеина, фактора Виллебранда, sICAM-1, sVCAM-1, VEGF и антител к окисленным ЛПНП (АТ к окЛПНП) методом иммуноферментного анализа при помощи соответствующих тест-систем. Суммарное содержание стабильных метаболитов оксида азота (нитриты и нитраты (NO_x)) определяли спектрофотометрическим методом. На биохимическом анализаторе «Labio 2000» «Mindray», Китай) определяли уровни общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицеридов (ТГ) и фосфолипидов (ФЛ), используя соответствующие тест-системы. Выявление содержания холестерина липопротеидов низкой и очень низкой плотности (ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП) проводили расчетным методом по формулам Фридвальда. Индекс атерогенности (ИА) рассчитывали отношением суммы атерогенных фракций к неатерогенным. Исследование полиморфизмов генов эндотелина-1 (*EDNI* Lys198Asn), эндотелиальной синтазы оксида азота (*NOS3* T786C), ангиотензиногена (*AGT* Thr174Met и Met235Thr) проводилось методом ПЦР с использованием коммерческих комплектов реагентов «SNP-экспресс» (ООО НПФ «Литех», Россия).

Статистическую обработку и анализ результатов проводили с помощью программы STATISTICA 6.1 Stat_Soft® Inc. Использовали критерий Шапиро-Уилкса, анализ ANOVA Краскела-Уоллиса, метод U-критерия Манна-Уитни с применением поправки Бонферрони, коэффициент ранговой корреляции Спирмена, χ^2 Пирсона с поправкой Йетса, 95% доверительный интервал (ДИ), отношение шансов. Результаты исследований представлены в виде значений: медианы (Med) и интерквартильного диапазона верхнего (Q25) и нижнего (Q75).

В главе третьей представлены результаты собственных исследований, которые включают подглавы биохимические показатели ДЭ: у стажированных рабочих, экспонированных ртутью; у лиц с впервые установленным диагнозом ХРИ; у лиц с ХРИ в отдаленном периоде; результаты исследований генов-маркеров ЭД у обследованных лиц; особенности проявления маркеров ЭД у

лиц с ССЗ при воздействии ртути; разработку способа прогнозирования значений ИА у стажированных работающих в условиях экспозиции ртутью.

На первом этапе исследования были установлены закономерности проявления ЭД при хроническом воздействии ртути на разных этапах развития интоксикации. Нами отмечены как у стажированных работающих в условиях контакта с ртутью, так и у пациентов с диагнозом ХРИ нарушения в концентрации биохимических маркеров ЭД, которые выражались в снижении уровня оксида азота в 57-89% случаев, повышении содержания гистамина – в 50-95%, ангиотензина II – в 77-100%, гомоцистеина в 39-66%, и эндотелина-1 у 29-72% обследуемых (Таблица 2).

Таблица 2 – Содержание маркеров эндотелиальной дисфункции в крови у лиц, экспонированных ртутью; Med (Q25-Q75)

Показатель ед. изм.	Ангиотензин II нг/мл	Эндотелин-1 фмоль/мл	NO _x мкмоль/л	Гистамин нг/мл	Гомоцистеин мкмоль/л
Референсный уровень	0,01-0,06	0,26-1,0	32,5-45,6	<1,0	5-15
1 Стажированные без ССЗ	0,406 (0,029-2,249)	0,72 (0,48-1,36)	27,7 (14,6-44,9)	2,39 (1,57-2,89)	19,1 (13,4-28,6)
2 Стажированные с ССЗ	0,481 (0,003-4,601)	1,24* (1,02-2,10)	25,2 (7,9-42,9)	2,36 (1,48-3,03)	19,2 (13,1-22,1)
3 ХРИ без ССЗ	0,355 (0,273-0,481)	1,04 (0,91-1,38)	29,3 (26,2-34,1)	1,69 (1,59-1,98)	16,3 (12,4-22,8)
4 ХРИ с ССЗ	0,703 (0,351-2,500)	1,75 (0,99-2,59)	24,5 (19,1-30,1)	2,87 (1,19-4,93)	13,5 (11,1-20,3)
5 ХРИотд. без ССЗ	0,244 (0,001-0,530)	1,04 (0,93-1,23)	24,2 (20,2-26,8)	1,12* (0,50-1,50)	14,4 (10,5-15,7)
6 ХРИотд. с ССЗ	0,427 (0,269-0,905)	1,19 (0,95-1,56)	25,8 (21,1-29,0)	1,05*^ (0,58-2,73)	17,2 (12,7-25,1)
<i>p</i>	0,316	0,004	0,222	0,0002	0,113

Примечание: *p* – уровень статистической значимости по ANOVA Краскела-Уоллиса ($p < 0,05$); * и ^- различия статистически значимы по U-критерий Манна-Уитни ($p < 0,003$) по сравнению с группой 1 и группой 2 соответственно.

Изучение показателей липидного обмена показало наличие дислипидемии у обследованных, сопровождавшейся увеличением содержания АТ к оКЛПНП у 33-63% лиц. Среднее содержание ОХ было выше референсного уровня у всех пациентов с сопутствующими ССЗ. В то же время, наблюдались высокие значения ИА у стажированных рабочих и у лиц в отдаленном периоде

интоксикации с ССЗ и без таковых (Таблица 4). Следует отметить, что у всех стажированных работников было выявлено снижение уровня серотонина по сравнению с таковым у пациентов с ХРИ. Также у стажированных без ССЗ было выявлено статистически значимое увеличение уровня sICAM-1, которое можно рассматривать как компенсаторный механизм сдерживания развития воспалительной реакции на эндотелии (Таблица 3).

На следующем этапе исследования были выявлены особенности в содержании маркеров ЭД при ХРИ, которые заключались в следующем: в обеих когортах отдаленного периода ХРИ были установлены повышенные уровни sVCAM-1 и серотонина, а содержание hsCRP находилось на уровне пороговых значений риска развития ССЗ (Таблица 3). Среди показателей липидного обмена у лиц с ХРИ наиболее выраженные изменения касались уровня ТГ, отклонения в содержании которых отмечались у 25–55% обследуемых с ССЗ. Отмеченные нарушения липидного обмена сопровождались компенсаторным увеличением уровня ФЛ во всех группах с ХРИ (Таблица 4). Полученные результаты свидетельствуют о стимуляции процессов адгезии лейкоцитов на сосудистой стенке и ее повреждении у данных пациентов с ХРИ.

Таблица 3 – Особенности в содержании маркеров эндотелиальной дисфункции у пациентов с хронической ртутной интоксикацией; Med (Q25-Q75)

Показатель ед. изм.	Серотонин нг/мл	hsCRP мг/л	sVCAM-1 нг/мл	sICAM-1 нг/мл
Референсный уровень	40-400	0,068 – 3	300 – 1000	150 – 500
1 группа Стажированные без ССЗ	58,8 (23,2-151,5)	1,9 (1,0-3,3)	663 (366-1097)	657 (499-758)
2 группа Стажированные с ССЗ	33,9 (15,3-139,9)	2,3 (0,7-3,5)	791 (562-1006)	453 (226-641)
3 группа ХРИ без ССЗ	298* (50-957)	2,5 (2,0-3,1)	1034 (923-1828)	302* (190-468)
4 группа ХРИ с ССЗ	3042^ (234-6237)	2,3 (1,5-4,0)	533 (316-776)	351 (241-494)
5 группа ХРИотд. без ССЗ	94,1^ (74-217)	3,0 (1,8-4,2)	1438* (709-1968)	416* (353-499)
6 группа ХРИотд. с ССЗ	661*^ (107-6162)	2,9 (1,6-4,3)	1044 (479-2244)	373* (304-518)
<i>p</i>	0,0000	0,309	0,083	0,426

Примечание: см. табл. 2.

Таблица 4 – Показатели липидного обмена у рабочих, экспонированных ртутью; Med (Q25-Q75)

Показатель, ед. изм.	Общий холестерин, ммоль/л	ХС ЛПВП, ммоль/л	ХС ЛПНП, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	Индекс атерогенности	Фосфолипиды, ммоль/л	АТ к окЛПНП, Ед/мл
Референсный уровень	≤ 5,17	≥ 0,90	0,30 – 3,80	0,34 – 1,82	2,0 – 4,0	1,93 – 3,22	≤ 30,0
1 группа Стажированные без ССЗ	4,80 (4,20-5,40)	0,99 (0,84-1,15)	3,26 (2,78-3,83)	0,97 (0,77-1,39)	4,1 (2,9-5,1)	2,8 (2,4-3,2)	25,8 (18,2-37,6)
2 группа Стажированные с ССЗ	5,30 (4,50-6,00)	0,97 (0,89-1,12)	3,54 (3,12-4,16)	0,98 (0,77-1,52)	4,3 (3,6-5,4)	3,1 (2,5-3,5)	28,7 (19,2-46,5)
3 группа ХРИ без ССЗ	5,40 (5,10-6,00)	1,19 (1,04-1,25)	3,52 (3,31-3,70)	1,24* (1,10-1,58)	3,3 (3,0-3,5)	3,2 (3,1-3,4)	38,6 (26,4-50,5)
4 группа ХРИ с ССЗ	5,27 (4,44-5,60)	1,23 (0,93-1,49)	3,04 (2,61-3,72)	1,47 (1,31-2,37)	3,2 (2,7-4,7)	3,3 (3,1-3,5)	27,4 (22,7-52,3)
5 группа ХРИотд. без ССЗ	4,90 (4,20-6,00)	1,06 (0,94-1,26)	3,18 (2,54-3,95)	1,56* (1,00-1,96)	4,0 (3,2-5,1)	3,1 (2,5-3,4)	25,9 (21,3-42,8)
6 группа ХРИотд. с ССЗ	5,18 (4,45-6,10)	0,99 (0,80-1,24)	3,27 (2,52-4,26)	1,86^ (1,19-2,34)	4,5 (2,7-6,0)	3,2 (2,6-3,9)	29,2 (22,5-54,8)
<i>p</i>	0,081	0,012	0,325	0,0000	0,258	0,016	0,156

Примечание: см. табл. 2.

Для выявления диагностических критериев хронического воздействия ртути на формирование ЭД был проведен сравнительный анализ лиц с ССЗ из группы стажированных рабочих и группы сравнения. Установленный дисбаланс маркеров сосудистого тонуса у стажированных лиц с ССЗ, характеризовался повышенным содержанием ангиотензина II и сниженной концентрацией серотонина у рабочих с ССЗ, экспонированных ртутью, относительно группы сравнения (Таблица 5). Частота стажированных с низким уровнем серотонина составила 63% [ДИ 43-84] и статистически значимо различалась с частотой повышенного уровня серотонина в группе сравнения ($p=0,03$). В группе сравнения среднее содержание серотонина превышало референсный уровень у 90% [ДИ 72 – 108].

Таблица 5 – Основные результаты сравнительного анализа маркеров эндотелиальной дисфункции у лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями; Med (Q25-Q75)

Показатель, ед. изм.	Референсный уровень	Группа 2 Стажированные с ССЗ, n=30	Группа сравнения с ССЗ, n=21	<i>p</i>
Ангиотензин II, нг/мл	0,01-0,06	0,481 (0,003-4,601)	0,012 (0,000-0,261)	0,008
Серотонин, нг/мл	40-400	33,9 (15,3-139,9)	631,7 (492,4-853,8)	0,000
sICAM-1, нг/мл	150 – 500	453 (226-641)	177 (175-179)	0,09
VEGF, пг/мл	10 – 700	331 (189-547)	86 (11-189)	0,01
Фактор Виллебранда, Ед/мл	0,5-1,5	0,95 (0,74-1,27)	0,53 (0,40-0,57)	0,000
ХС ЛПВП, ммоль/л	$\geq 0,90$	0,97 (0,89-1,12)	1,29 (1,00-1,49)	0,003
Индекс атерогенности	2,0 – 4,0	4,3 (3,6-5,4)	3,4 (2,6-4,3)	0,02

Примечание: *p* – уровень статистической значимости различий, сравнение количественных показателей в группах по U-критерию Манна-Уитни ($p<0,05$).

Выявленные нарушения в содержании маркеров активации эндотелия в группах с ССЗ заключались в более высоких уровнях молекул sICAM-1 и VEGF в группе стажированных рабочих, чем в группе сравнения. В группе стажированных с ССЗ частота повышенного уровня sICAM-1 составила 46%

[ДИ 20-71], при этом в группе сравнения не было выявлено лиц с высоким уровнем данного анализа ($p=0,0003$) (Таблица 5).

Изучение липидного обмена в группах с ССЗ показало статистически значимое увеличение значения ИА и снижение уровня ХС ЛПВП у лиц, контактирующих с ртутью. Среднегрупповой уровень VWF был в 2 раза выше в когорте рабочих с ССЗ и статистически значимо различался с таковым в группе лиц, не экспонированных ртутью (Таблица 5).

На заключительном этапе исследования был установлен вклад производственных и отдельных генетических факторов в развитие наблюдаемых изменений. В результате этого было установлено, что два из диагностически значимых критериев хронического воздействия ртути на формирование ЭД – VEGF и ИА были ассоциированы с производственными факторами (стаж и экспозиционная нагрузка) в группах стажированных и у лиц с I, I-II стадией интоксикации. У стажированных без ССЗ была зарегистрирована сопряженность уровней VEGF и ИА с количеством отработанных лет ($R=0,30$, $p=0,02$ и $R=0,22$, $p=0,05$ соответственно). У стажированных рабочих, имеющих ССЗ, была выявлена связь уровня АТ к окЛПНП с экспозиционной нагрузкой и количеством отработанных лет ($R=0,66$, $p=0,00$ и $R=0,57$, $p=0,00$). Корреляционные связи с экспозиционной нагрузкой и количеством отработанных лет в группах с ХРИ были выявлены только у лиц с ССЗ, с ней коррелировали уровни VEGF и эндотелина-1 ($R=-0,94$, $p=0,01$, $R=-0,81$, $p=0,05$ и $R=0,93$, $p=0,00$, $R=0,78$, $p=0,02$ соответственно). А в постконтактном периоде связь между производственными и биохимическими маркерами ЭД отсутствовала.

Результаты исследования полиморфного варианта гена *EDN1* (Lys198Asn) показали, что носительство мутантного генотипа приводило к увеличению концентрации ЭТ-1 в 100% случаев у лиц с ССЗ, экспонированных ртутью. В то же время доля обследуемых с повышенным уровнем ЭТ-1 среди носителей дикого генотипа в группах с ССЗ статистически значимо было выше, чем в группах лиц без таковых (Рисунок 1).

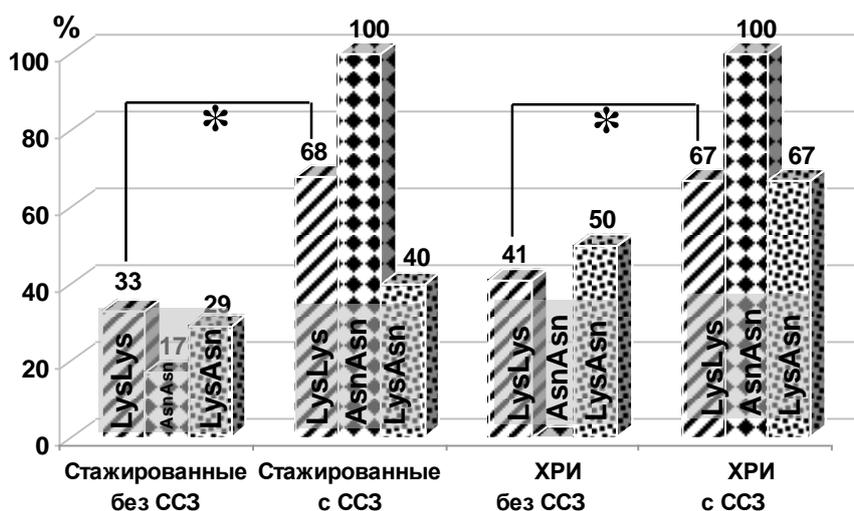


Рисунок 1 – Частота отклонений от референсных значений в содержании эндотелина-1 в зависимости от полиморфного варианта гена *EDNI* (Lys198Asn)

Примечание: * - сравнение частот отклонений в группах с ССЗ и без ССЗ по χ^2 Пирсона с поправкой Йетса, $p < 0,05$.

Исследование концентрации оксида азота в зависимости от генотипов гена *NOS3* показало, что у лиц с ХРИ, носителей генотипа ТТ в 100% случаев был снижен уровень NO_x , в то время как у стажированных рабочих в 65-71% случаев встречалось снижение данного анализата (Рисунок 2).

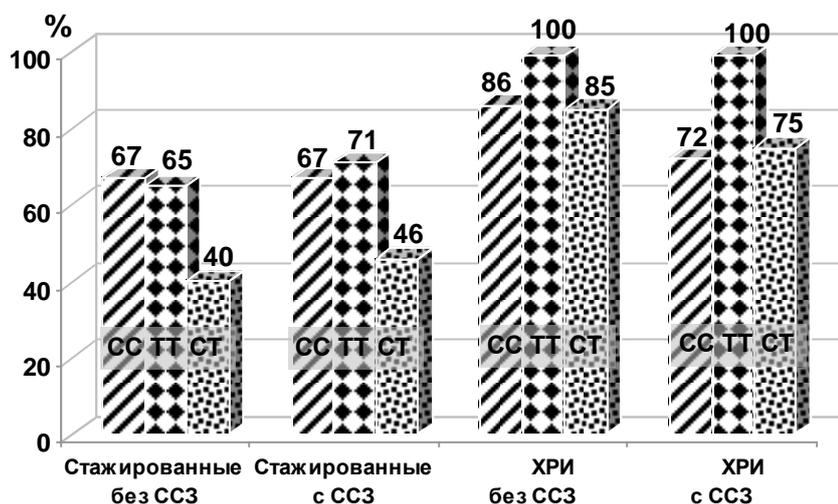


Рисунок 2 – Частота отклонений от референсных значений в содержании NO_x в зависимости от полиморфного варианта гена *NOS3* (T786C)

Исследование полиморфных вариантов гена *AGT* в Thr174Met и в Met235Thr позициях показало, что количество обследованных с повышенным

содержанием ангиотензина II при наличии диких генотипов была либо выше, либо сопоставима с частотой среди носителей мутантного и гетерозиготного генотипов, в том числе и у лиц без ССЗ (Рисунок 3).

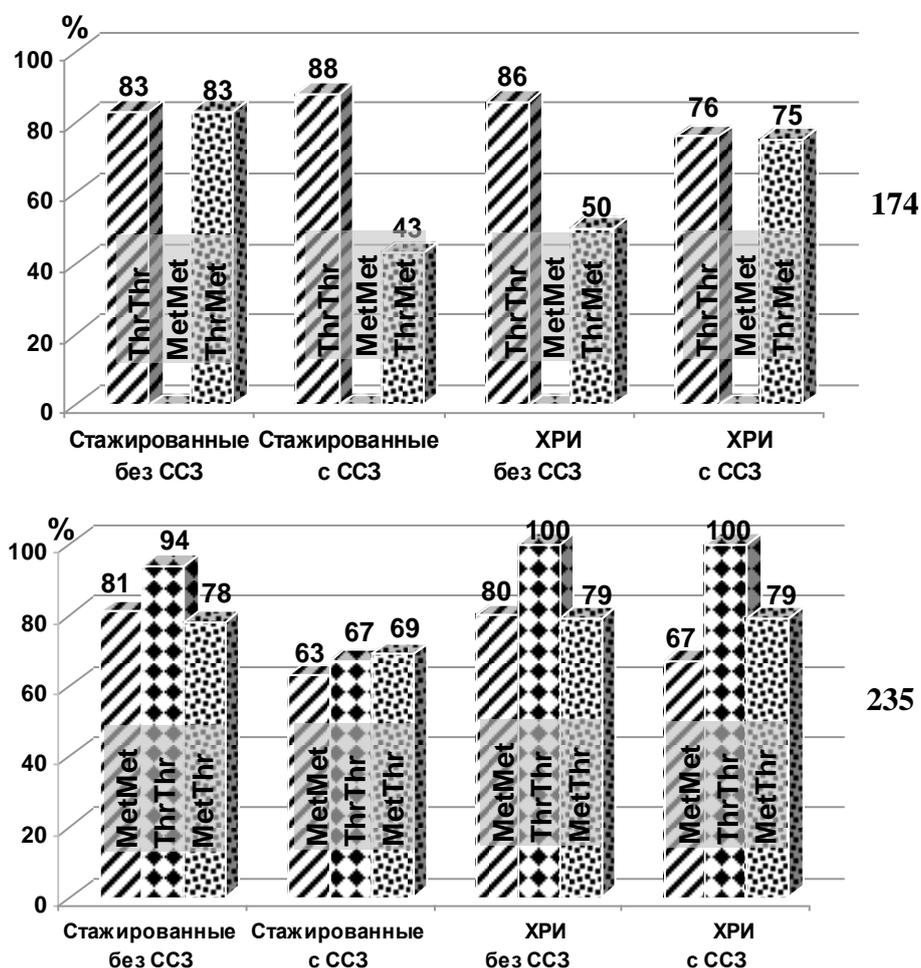


Рисунок 3 – Частота отклонений от референсных значений в содержании ангиотензина II в зависимости от полиморфных вариантов гена AGT (Thr174Met и Met235Thr)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В главе четвертой представлены показатели и особенности развития ЭД, играющие ключевую роль в ее формировании у работающих, подвергающихся воздействию ртути, и у лиц с ХРИ различной степени выраженности. Учитывая полученные результаты, можно отметить, что при производственном воздействии ртути у обследованных лиц наиболее выражены изменения в регуляции сосудистого тонуса, которые проявляются в нарушении

эндотелийзависимого расслабления гладких мышц сосудов из-за уменьшенного синтеза оксида азота на фоне увеличенной продукции вазоконстрикторов (ангиотензин II, эндотелин-1, гистамин), и медиаторов воспаления (повышенный уровень ГЦ и hsCRP), в нарушениях липидного обмена, что может быть одними из факторов развития сосудистой патологии (рисунок 4).

Прогрессирование ЭД при ХРИ, наряду с указанными выше изменениями, заключается в повышении уровней серотонина, hsCRP, sVCAM-1, и снижением содержания sICAM-1. Повышенные уровни содержания sICAM-1 у стажированных рабочих являются звеном патогенеза ЭД или сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний.



Рисунок 4 – Критериально значимые показатели механизмов развития эндотелиальной дисфункции при воздействии ртути

Корреляционные связи между биохимическими показателями ЭД различной направленности указывают на наличие сложных ассоциаций, образующих замкнутую систему между её маркерами на этапе до формирования профессионального заболевания, в то время как в отдаленном периоде ХРИ наблюдается их разобщенность, особенно при наличии ССЗ. Кроме непосредственного воздействия ртути на изменение маркеров ЭД установлено ее эпигенетическое влияние на гены предрасположенности к ССЗ,

которое проявляется в нарушении концентрации кодируемых генами продуктов не только у носителей неблагоприятных, но и протективных генотипов. Данный факт установлен в отношении генов эндотелина, синтазы оксида азота, а также ангиотензина. Таким образом, выявленные изменения уровня биохимических показателей ЭД являются патогенетическими факторами развития ДЭ и, как следствие, развития сердечно-сосудистой патологии при хроническом воздействии ртути. В соответствии с целью настоящей работы, были выявлены особенности развития и показатели ЭД, играющие ключевую роль в формировании ЭД у работающих, подвергающихся воздействию ртути, и у лиц с ХРИ различной степени выраженности. Были получены данные, характеризующие особенности изменений биохимических показателей и механизмов развития ЭД при воздействии ртути у лиц без ССЗ и с сопутствующей сердечно-сосудистой патологией при хроническом воздействии ртути, и установлена этапность изменения показателей ЭД в патогенезе ХРИ. Данные изменения составляют часть патогенеза ЭД. При этом формирование ЭД имеет значение в патогенезе сопутствующих ССЗ и ХРИ.

ВЫВОДЫ

1. У стажированных работников, экспонированных ртутью, нарушение функционального состояния эндотелия характеризуется дисбалансом регуляции сосудистого тонуса за счет активации механизмов вазоконстрикции (увеличение концентрации ангиотензина II и гистамина) и ослаблением вазодилатации (снижение уровня серотонина и оксида азота), а также начальными проявлениями дислипидемии.
2. Основным проявлением эндотелиальной дисфункции при хронической ртутной интоксикации без сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний является гиперпродукция sVCAM-1. Особенностью ДЭ при развитии коморбидной сердечно-сосудистой патологии на фоне хронической ртутной

интоксикации являются повышенные уровни серотонина, sVCAM-1, триглицеридов и фосфолипидов.

3. Установлены особенности в изменении маркеров ЭД у лиц с ССЗ при воздействии ртути: низкий уровень серотонина и ХС ЛПВП, высокая концентрация ангиотензина II, VWF, sICAM-1, VEGF и индекса атерогенности.

4. Наличие ассоциации между экспозиционной нагрузкой и концентрацией биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции у рабочих без диагноза профессионального заболевания, подвергшихся воздействию ртути, и у лиц с I, I-II стадией интоксикации ртутью свидетельствует о роли производственных факторов в формировании ЭД в период контакта с токсикантом, в то время как в постконтактном периоде данная связь отсутствует.

5. В случае хронического воздействия ртути, лица-носители генотипа полиморфизма Met235Thr гена *AGT* находятся в группе риска ранних изменений уровня ангиотензина II, а наличие неблагоприятного генотипа полиморфизма Lys198Asn гена *EDN1* является фактором риска повышения содержания эндотелина-1.

6. Определение биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции у лиц, экспонированных ртутью, имеет прогностическое (оксида азота, ангиотензин II, гистамин, индекс атерогенности, антитела к окисленным липопротеидам низкой плотности) и диагностическое (серотонин, триглицериды и фосфолипиды) значение для обоснования производственно-обусловленной патологии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработан способ прогнозирования значений индекса атерогенности у стажированных работающих в условиях экспозиции ртутью, который обеспечит своевременное выявление и коррекцию факторов риска раннего развития атеросклероза у стажированных работающих, что будет способствовать профилактике сердечно-сосудистых заболеваний.

2. Для научных исследований в диагностический комплекс обследования лиц, экспонированных ртутью с сопутствующими ССЗ, рекомендуется включить определение уровней серотонина, ХС ЛПВП, ангиотензина II, VWF, VEGF и индекса атерогенности.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кудалева И.В., Попкова О.В. Оксид азота как возможная мишень патогенетической терапии при нейроинтоксикациях производственными факторами // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5-2. – С. 34–38.
2. Попкова О.В., Кудалева И.В., Маснавиева Л.Б. Некоторые подходы к определению дисфункции эндотелия при профессиональных заболеваниях токсической этиологии // Медицинский алфавит. – 2012. – Т. 4, № 20. – С. 55–57.
3. Попкова О.В., Кудалева И.В., Маснавиева Л.Б. Молекулы межклеточной адгезии в сыворотке крови у лиц, экспонированных ртутью // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 3 (91), Часть 1. – С. 30–33.
4. Попкова О.В., Кудалева И.В., Маснавиева Л.Б., Белик В.П. Генотипические особенности биохимических маркеров дисфункции эндотелия у лиц с хронической ртутной интоксикацией // Медицина труда и промышленная экология. – 2014. – № 4. – С. 19–23.
5. Липидный обмен при воздействии производственных факторов: учеб. пособие / В.С. Рукавишников, И.В. Кудалева, С.Ф. Шаяхметов, Л.А. Бударина, О.Л. Лахман, Л.Б. Маснавиева, О.В. Попкова. – Иркутск: РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО, 2014. – 76 с.
6. Попкова О.В., Кудалева И.В. Содержание высокочувствительного СРБ в крови у лиц экспонированных ртутью // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – № 9. – С. 131–132.
7. Попкова О.В., Кудалева И.В., Маснавиева Л.Б., Белик В.П. Частота полиморфизмов гена ангиотензиногена у работающих химических производств // Сб. трудов 8-ой всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014» под ред. В.И. Покровского. – Т. 2 – М.: ООО "Издательство МБА", 2014. – с. 175–176.
8. Попкова О.В. Молекулярно-генетические аспекты формирования эндотелиальной дисфункции у лиц экспонированных ртутью // Медицина труда и промышленная экология. – 2015. – № 9. – С. 117.
9. Попкова О.В., Кудалева И.В. Влияние ртути на развитие эндотелиальной дисфункции // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2015. – № 11-7. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-rtuti-na-razvitie-endotelialnoy-disfunktsii> (дата обращения: 27.07.2021).
10. Попкова О.В., Кудалева И.В., Маснавиева Л.Б., Дьякович О.А., Белик В.П. Генетические аспекты формирования эндотелиальной дисфункции при

профессиональной интоксикации ртутью // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 9.

11. Попкова О.В., Кудаева И.В., Бударина Л.А. Изменение показателей липидного обмена у лиц экспонированных ртутью// Сборник материалов Всероссийской конференции «Экология и здоровье населения». – Ангарск, 28-29 мая 2015 год.

12. Пат. 2627587 Российская Федерация. Способ прогнозирования значений индекса атерогенности у стажированных работающих, экспонированных ртутью / Кудаева И.В., Попкова О.В., Дьякович М.П., Бударина Л.А., Шаяхметов С.Ф., Мещакоева Н.М.; заявитель ФГБНУ «ВСИМЭИ» (RU).– № 2016112711; заявл. 04.04.2016 (положительное решение от 09.08.2017).

13. Наумова О.В., Кудаева И.В., Маснавиева Л.Б., Дьякович О.А., Белик В.П. Молекулярно-генетические вопросы формирования эндотелиальной дисфункции у лиц, экспонированных ртутью. // Медицина труда и промышленная экология. – 2017. – №1. – С. 10–13.

14. Наумова О.В., Кудаева И.В., Маснавиева Л.Б., Катаманова Е.В. Дисфункция эндотелия как патогенетический фактор токсической энцефалопатии при хроническом воздействии ртути. // Медицина труда и промышленная экология. – 2017. – №10. – С. 20–24.

15. Кудаева И.В., Наумова О.В., Маснавиева Л.Б. Маркеры эндотелиальной дисфункции у лиц с токсической энцефалопатией при хроническом воздействии ртути // Медицина труда и промышленная экология. – 2017. – №9. – С. 99–100.

16. Метод прогнозирования значений индекса атерогенности у стажированных работающих в условиях экспозиции ртутью: метод. рекомендации / И.В. Кудаева, Л.Б. Маснавиева, О.В. Наумова, М.П. Дьякович, С.Ф. Шаяхметов, В.С. Рукавишников. – Ангарск, 2017. – 17 с.

17. Кудаева И.В., Маснавиева Л.Б., Наумова О.В., Дьякович О.А. Системный анализ взаимосвязей между биохимическими показателями у лиц, экспонированных ртутью // Гигиена и санитария. – 2018. – Т. 97, №10.– С. 990–994.

18. Наумова О.В., Кудаева И.В., Маснавиева Л.Б., Дьякович О.А. Маркеры сосудистого тонуса и воспаления у лиц, экспонированных ртутью // Гигиена и санитария. – 2019. – Т. 97. №10. – С. 1079–1084.

19. Наумова О.В., Кудаева И.В., Маснавиева Л.Б., Дьякович О.А. Роль молекул межклеточной адгезии и антител к окисленным липопротеидам низкой плотности в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний при воздействии ртути // Гигиена и санитария. – 2020. – Т. 99. №10. – С. 1120–1126.

20. Наумова О.В., Дьякович О.А. Анализ взаимосвязей между биохимическими маркерами эндотелиальной дисфункции при хроническом воздействии ртути // Медицина труда и промышленная экология. – 2020. – №11. – С. 834–836.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертония
АТ к окЛПНП – антитела к окисленным липопротеинам низкой плотности
ГЦ – гомоцистеин
ДИ – доверительный интервал
ДЭ – дисфункция эндотелия
ИА – индекс атерогенности
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИМ – инфаркт миокарда
ОХ – общий холестерин
ОШ – отношение шансов
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
ТГ – триглицериды
ТЭ – токсическая энцефалопатия
ФЛ – фосфолипиды
ХРИ – хроническая ртутная интоксикация
ХРИ отд. – хроническая ртутная интоксикация в отдаленном периоде
ХС ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности
ХС ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности
ЭТ-1 – эндотелин-1
ЭД – эндотелиальная дисфункция
AGT – ген ангиотензиногена
CRP – С-реактивный белок
EDN1 – ген эндотелина-1
hsCRP – ультрачувствительный С-реактивный белок
NO – оксид азота
NOS3 – ген эндотелиальной синтазы оксида азота
NO_x – стабильные метаболиты оксида азота, нитриты и нитраты
sICAM-1 – межклеточные молекулы адгезии 1 типа
sVCAM-1 – молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 типа
VEGF – фактор роста эндотелия сосудов
VWF – фактор Виллебранда