

На правах рукописи



АНОХИН Николай Николаевич

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В РАЗВИТИИ
БРОНХОЛЕГочНОЙ ПАТОЛОГИИ У РАБОТНИКОВ АСБЕСТОВЫХ ПРОИЗВОДСТВ**

3.2.4. Медицина труда

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении
«Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова»

Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научные руководители: Заслуженный деятель науки РФ,
доктор биологических наук, профессор
Кузьмина Людмила Павловна
доктор медицинских наук, профессор РАН
Ковалевский Евгений Вильевич

Официальные оппоненты: **Рукавишников Виктор Степанович**
доктор медицинских наук, профессор, член-
корреспондент РАН / Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение «Восточно-Сибирский
институт медико-экологических исследований»
Министерства науки и высшего образования РФ,
научный руководитель

Шагина Любовь Анатольевна

доктор медицинских наук, профессор / Федеральное
государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Новосибирский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской
Федерации, заведующий кафедрой госпитальной
терапии и медицинской реабилитации

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки «Уфимский
научно-исследовательский институт медицины труда и
экологии человека» Федеральной службы по надзору в
сфере защиты прав потребителей и благополучия
человека

Защита состоится «27» июня 2022 г. в 11:00 на заседании Диссертационного совета 24.1.176.01
на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-
исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова» по адресу:
105275, г. Москва, пр. Буденного, д. 31.

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

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор

Рубцова Нина Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Одной из главных задач развития Российской Федерации является реализации важнейшего национального стратегического приоритета – развитие человеческого потенциала, что требует разработки и выполнения целого комплекса мероприятий, в том числе по созданию условий для укрепления здоровья граждан, увеличению ожидаемой продолжительности жизни, снижению смертности и уровня инвалидизации населения трудоспособного возраста, профилактики хронических неинфекционных заболеваний, включая профессиональные и производственно-обусловленные заболевания.

В настоящее время в различных отраслях промышленности широко применяется хризотилковый асбест. Его мировое производство составляет более миллиона тонн ежегодно, из них более половины производится в России.

Хризотилсодержащие пыли относятся к аэрозолям преимущественно фиброгенного действия. Одним из специфических последствий вдыхания асбестосодержащей пыли является развитие бронхолегочной патологии, в частности асбестоза, а также профессионального хронического бронхита, злокачественных новообразований верхних дыхательных путей, легких и плевры. Проблеме влияния пыли асбеста на организм работающих посвящены многочисленные зарубежные и отечественные исследования (Измеров Н.Ф., 1991, 2008, 2012; Коган Ф.М., 1998; Бухтияров И.В., 2015, 2018, 2020; Ковалевский Е.В., 1998, 2004, 2021; Еловская Л.Т., 1986, 1997, 2001; Smith A.H., 1996; Tuomi T., 2000; Tossavainen A., 2004).

Исследования, направленные на изучение возможных изменений в состоянии здоровья работников при профессиональном воздействии волокон хризотилового асбеста, остаются актуальными и в настоящее время (Измеров Н.Ф., 2016). Развитие патологического процесса происходит медленно и зависит от типа асбеста, интенсивности и длительности воздействия асбестосодержащей пыли. По данным многих авторов, проявление асбестоза по клинко-рентгенологическим и функциональным данным колеблется в среднем от 10 до 18 лет, но может увеличиваться до 30 и более лет (Плюхин А.Е., 2004, 2011, 2015; Бурмистрова Т.Б., 2008, 2017; Леншин А.В., 2015).

На данном этапе развития медицины широкое распространение получили исследования не только факторов риска развития профессиональных заболеваний, но и геномные и постгеномные исследования по изучению генетико-биохимических полиморфных систем и взаимосвязи отдельных аллельных вариантов генов с различными патологическими и воспалительными процессами, с интенсивностью протекания биохимических реакций для оценки персонифицированного риска развития профессиональной патологии.

В связи с этим, поиск молекулярно-генетических и биохимических маркеров развития асбестоза у работников асбестовых предприятий имеет большое значение для прогнозирования индивидуальных рисков развития заболевания, разработки мер их ранней профилактики, лечения и реабилитации больных.

Степень разработанности темы исследования.

Индивидуальные особенности организма могут обуславливать устойчивость или чувствительность к воздействию вредных факторов производственной среды, что определяет характер развития патологии, клиническое течение и осложнения (Кузьмина Л.П., 1998, 2015, 2020; Шпагина Л.А., 2012, 2019, 2021; Котова О.С. 2019, 2020; Фомина В.С., 2010; Хотулева А.Г., 2017; Помыканова Ю.С., 2016). Многочисленные исследования доказали, что определенные генетические варианты могут рассматриваться как факторы восприимчивости или устойчивости организма.

Патогенетические механизмы формирования профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний от воздействия асбестовой пыли сложны и характеризуются дисбалансом во многих молекулярных системах, генетический полиморфизм белков данных систем может модифицировать ответные реакции организма на воздействие пыли хризотила: на эффективность деятельности механизмов клиренса пылевых частиц в дыхательных путях, на механизмы биотрансформации чужеродных веществ, на механизмы защиты от повреждения активными формами кислорода (АФК), на характер и активность иммунных реакций, на типы и активность выделяемых клетками воспаления цитокинов (Kelada S.N., 2003).

Таким образом, представляется актуальным поиск молекулярно-генетических маркеров как прогностически значимых критериев предрасположенности организма к развитию профессиональных асбестообусловленных заболеваний бронхолегочной системы для разработки методик персонализированной профилактики.

Цель работы: поиск информативных молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с повышенным риском развития асбестообусловленных заболеваний бронхолегочной системы, для разработки персонализированных профилактических мероприятий с учетом индивидуальных особенностей организма работников.

Задачи:

1. Изучить условия труда работников основных производственных специальностей по добыче и обогащению хризотилового асбеста и дать их санитарно-гигиеническую характеристику, рассчитать дозы пыли, полученные за все время работы для каждого работающего с учётом процента времени нахождения на рабочем месте в течение смены.

2. На основе изучения санитарно-гигиенических характеристик условий труда асбестового производства и результатов периодических медицинских осмотров

работников данного производства сформировать профессионально-производственные группы работников, подвергающихся воздействию асбестовой пыли по экспозиционной дозе пыли за весь период профессионального контакта, стажу, наличию или отсутствию клинических проявлений, конкретной нозологической форме.

3. Исследовать полиморфизмы генов про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β A511G (rs16944), IL-4 C589T (rs2243250), IL-6 C174G (rs1800795), IL-10 G1082A (rs1800795), TNF- α G4682A (rs1800629), TGF- β 1 Arg25Pro (rs1800471)), ферментов систем антиоксидантной защиты (SOD2 C47T (rs4880), GSTP1 Ile105Val (rs1695), CAT G262A (rs1001179)), биотрансформации ксенобиотиков (EPHX1 Tyr113His (rs1051740), EPHX1 His139Arg (rs2234922), CYP-1A1 Ile462Val (rs1048943), CYP-3A4 A/G (rs2740574)) и «протеолиз-антипротеолиз» (SERPINA1 P1Z (rs28929) и P1S (rs17580), MMP9 Gln279Arg (rs17576), MMP12 Asn356Ser (rs652438)) и проанализировать распределение частот генотипов и аллелей у практически здоровых работников, подвергавшихся воздействию асбестовой пыли, и у работников с асбестообусловленной бронхолегочной патологией с учетом стажа работы и значений экспозиционной дозы пыли за весь период работы.

4. Провести оценку оксидативного стресса на основе определения первичных (диеновые конъюгаты, кетодиены) и вторичных (карбонилы) продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и маркера окислительного повреждения ДНК (8-ОН-дезоксигуанозин) у практически здоровых работников, подвергавшихся воздействию асбестовой пыли, и у работников с асбестообусловленной бронхолегочной патологией.

5. Проанализировать наличие взаимосвязей молекулярно-генетических маркеров с развитием и тяжестью клинического течения асбестообусловленной бронхолегочной патологии, биохимическими показателями оксидативного стресса с учетом стажа работы и значений экспозиционной дозы пыли за весь период работы.

6. Определить наиболее информативные молекулярно-генетические маркеры оценки риска развития и прогноза течения асбестообусловленной бронхолегочной патологии для выявления групп высокого риска развития и тяжелого течения патологии среди работников асбестовых производств с учетом индивидуальных особенностей метаболических процессов.

Научная новизна. Впервые на основе комплексных гигиенических, клинических, молекулярно-генетических и биохимических исследований показано, что у работников асбестовых производств при равных уровнях экспозиции и равной длительности воздействия асбестосодержащей пыли развитие и неблагоприятное течение асбестообусловленной бронхолегочной патологии зависит от генетически детерминированных особенностей метаболических процессов, наибольший вклад в формирование генетической предрасположенности к развитию и тяжелому течению

асбестообусловленной бронхолегочной патологии вносят гены системы цитокинов, антиоксидантной защиты и «протеолиз-антипротеолиз». Показана ассоциация полиморфных вариантов генов про- и противовоспалительных цитокинов, ферментов антиоксидантной системы, биотрансформации ксенобиотиков, и протеолитической системы с активацией процессов свободнорадикального окисления (СРО), развитием и тяжестью течения асбестообусловленной бронхолегочной патологии.

Сформирован комплекс молекулярно-генетических маркеров для оценки риска развития и прогноза течения асбестообусловленной бронхолегочной патологии для выявления групп высокого риска развития и тяжелого течения патологии среди работников асбестовых производств с учетом индивидуальных особенностей метаболических процессов.

Теоретическая и практическая значимость. На основании проведенных исследований выявлены информативные маркеры для оценки риска развития асбестообусловленной бронхолегочной патологии у работающих в контакте с пылью хризотила и разработаны методические рекомендации, которые могут быть использованы в системе профилактических и лечебно-диагностических мероприятий. Знание степени индивидуального риска развития асбестообусловленных заболеваний позволит обоснованно сформулировать рекомендации по рациональному трудоустройству или определить показания к углубленному обследованию работающих из группы высокого риска с целью раннего выявления заболевания.

Диссертационная работа выполнена в рамках тем научно-исследовательских работ ФГБНУ «НИИ МТ» НИОКТР № АААА-А19-119030190068-6 «Научное обоснование совершенствования гигиенических регламентов и оценки рисков при воздействии физических факторов с учетом развития технологического комплекса Российской Федерации», НИОКТР № АААА-А19-119030190049-5 «Разработка информативных критериев ранних признаков наиболее распространенных нозологических форм профессиональных, производственно-обусловленных и общесоматических заболеваний у работников различных видов экономической деятельности для создания системы комплексной профилактики» и НИОКТР № АААА-А18-118122590110-1 «Разработка молекулярных критериев для оценки индивидуального (персонифицированного) риска развития и тяжести течения асбестообусловленных заболеваний органов дыхания».

Методология и методы исследования. В работе были использованы санитарно-гигиенические, биохимические, молекулярно-генетические и математико-статистические методы исследования. Комплексный подход позволил смоделировать и рассчитать дозы пыли, полученные за все время работы, для каждого работающего с учётом процента времени нахождения на рабочем месте в течение смены и определить наиболее информативные молекулярно-генетические маркеры оценки риска развития и прогноза

течения асбестообусловленной бронхолегочной патологии. Молекулярно-биологический скрининг в досимптоматический период дает возможность выявить существующую пока только в геноме наследственную предрасположенность к развитию заболеваний при воздействии пыли асбеста и, исходя из современного врачебного опыта, наметить пути их мониторинга и ранней профилактики.

Положения, выносимые на защиту:

1. У работников асбестовых производств при равных уровнях экспозиции и равной длительности воздействия асбестосодержащей пыли наблюдается гетерогенность в развитии и в тяжести клинического течения асбестообусловленной патологии бронхолегочной системы, что связано с генетически детерминированными особенностями метаболических процессов.

2. С ранним развитием асбестоза у работников, подвергающихся воздействию пыли асбеста, ассоциированы однонуклеотидные полиморфизмы генов системы цитокинов – интерлейкина-1 β (rs16944), интерлейкина-4 (rs2243250), трансформирующего фактора роста-1 β (rs1800471), гена системы антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы 2 (rs4880) и гена системы «протеолиз-антипротеолиз» - матриксной металлопротеиназы 9 (rs17576).

3. Генетический полиморфизм белков систем цитокинов, антиоксидантной защиты, биотрансформации ксенобиотиков и «протеолиз-антипротеолиз» у работников асбестовых производств ассоциирован с активацией окислительных реакций, что подтверждает роль генетического полиморфизма в формировании индивидуального метаболического профиля, влияющего на чувствительность организма к воздействию асбестосодержащей пыли.

4. Сформирован комплекс молекулярно-генетических маркеров, позволяющий выявлять группы высокого риска развития и тяжелого течения асбестообусловленной патологии органов дыхания, для оптимизации профилактических мероприятий с учетом индивидуальных особенностей организма.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность подтверждается применением современных методов исследований, большим объемом репрезентативных данных, современными методами математической статистики. Доля участия автора в сборе и обработке данных оставляет 85%, анализе и представлении материалов - 90%.

Результаты работы легли в основу разработки 5 методических рекомендаций, утвержденных на Ученом совете ФГБНУ «НИИ МТ»:

1. «Оценка риска развития мезотелиомы плевры у работников асбестовых производств на основе определения биохимических и молекулярно-генетических маркеров окислительного повреждения ДНК», 2017 г.;

2. «Прогноз риска развития рака легких у работников асбестовых производств на основе определения полиморфных вариантов генов системы цитохрома P-450, эпоксидгидроксилазы и системы «оксиданты-антиоксиданты», 2017 г.;

3. «Оценка риска развития асбестообусловленных заболеваний органов дыхания на основе определения полиморфизма генов системы антиоксидантной защиты», 2018 г.

4. «Технология оценки риска развития асбестоза у работников асбестовых производств на основе комплексного исследования полиморфизмов генов систем биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты», 2020 г.

5. «Оценка лабораторных показателей эндогенной интоксикации при профессиональных бронхолегочных заболеваниях», 2021 г.

Основные результаты исследований включены в курс лекций и практических занятий на кафедре медицины труда, авиационной, космической и водолазной медицины Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Материалы исследований, отражающие основные результаты и положения диссертационной работы, докладывались и обсуждались на II Международном Молодёжном Форуме «ПРОФЕССИЯ и ЗДОРОВЬЕ», 29 мая – 1 июня 2018 г., г. Ялта (диплом за 2 место в конкурсе научных работ молодых ученых и специалистов), на V Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы профилактической медицины и общественного здоровья» 19 мая 2021 г., г. Москва, на XVI Российском Национальном Конгрессе с международным участием «ПРОФЕССИЯ и ЗДОРОВЬЕ» 21 - 24 сентября 2021 г., г. Владивосток и на 33-м Международном конгрессе по медицине труда (ICOH 2022) 6-10 февраля 2022 г., Мельбурн-Рим.

Апробация работы проведена на заседании специалистов клинического отдела профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний ФГБНУ «НИИ МТ» 2 ноября 2021 г.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 9 работ, 5 из них – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 157 страницах, иллюстрирована 25 таблицами и 19 рисунками, состоит из введения, пяти глав, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Библиографический список содержит 183 источника, из них 70 отечественных и 113 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **первой главе** приведен обзор отечественных и зарубежных публикаций, отражающих современные представления о патогенетических механизмах формирования АОЗ и рассмотрены работы, посвященные изучению участия молекулярных систем в патогенетических механизмах развития бронхолегочной патологии от воздействия промышленных аэрозолей. На основании аналитического обзора литературы сформирован комплекс биохимических и молекулярно-генетических маркеров для оценки риска развития и прогноза течения АОЗ бронхолегочной системы у работников асбестовых производств.

Во **второй главе** представлены дизайн исследования, гигиеническая и клиническая характеристики обследуемых групп, объем и методы исследования.

Работа была начата с поиска сведений о работниках основных производственных подразделений ПАО «Ураласбест», которым были установлены диагнозы профессиональных заболеваний органов дыхания по данным медсанчасти (МСЧ) предприятия. Была выделена группа из 189 бывших работников с установленными диагнозами профессиональных заболеваний. Исследование выполнялось при техническом содействии ОАО «НИИПРОЕКТАСБЕСТ».

После составления списка выполнен поиск вошедших в него лиц в базе данных «Кадры-Пенсионеры» и произведён подворный обход для получения согласия на участие в исследовании. В результате была сформирована группа бывших работников с установленными АОЗ органов дыхания (95 человек – «асбестоз» и 5 человек - хронический бронхит) - 100 человек и проведён поиск сведений о профмаршруте в базе данных крупномасштабного исторического когортного исследования по оценке риска смерти от онкологических заболеваний органов дыхания среди работников, занятых добычей и обогащением хризотилового асбеста на предприятиях ПАО «Ураласбест» (выполнялось в сотрудничестве ФГБНУ «НИИ МТ» и МАИР в 2012 – 2021 годах).

Поиск лиц, работавших на аналогичных рабочих местах, что и включённые в список пенсионеры с АОЗ, был проведен с использованием базы данных «1С: Предприятие. Кадровый учет» на единственной действующей в настоящее время фабрике №6. Таким образом, была сформирована группа лиц из 679 действующих работников с различным стажем работы, которые проходили ПМО согласно Приказу Минздравсоцразвития РФ от 12.04.2011 № 302н на базе МСЧ ПАО «Ураласбест» и подразделения МСЧ «ДИАГНОСТИКА». На основании изучения санитарно-гигиенических характеристик условий труда асбестового производства, результатов проведенного медицинского осмотра в исследование включено 200 работников без заболеваний бронхолегочной системы.

По результатам анализа информации, полученной в ходе исследования с использованием принципов оценки индивидуальных параметров воздействия, разработанных в ходе реализации исторического когортного исследования, были получены все необходимые сведения для оценки экспозиции для всех сформированных групп (таблица 1).

Таблица 1 - Алгоритм расчета экспозиционных доз пыли

Шаг алгоритма	Пояснение
<p>Первый шаг. Использовать среднемесячные концентрации пыли по точкам отбора проб: отметить точки отбора проб, которые имеют только одну концентрацию за год или только за один сезон (минимум две концентрации на точку отбора проб в год) или отсутствуют концентрации в течение всего года.</p>	<p>Отдельные измерения в каждой точке отбора проб в данном месяце: X_1, X_2, \dots, X_n</p>
<p>Второй шаг. Рассчитать сезонные, а затем вывести годовые массовые концентрации пыли в каждой точке отбора проб.</p>	<p>Среднемесячные массовые концентрации пыли (MD) в точке отбора проб: Средняя арифметическая (AM): $MD(AM) = (X_1, X_2, \dots, X_n)/n$ Средняя геометрическая (GM): $MD_{(GM)} = \exp((\ln(X_1) + \ln(X_2) + \dots + \ln(X_n))/n)$</p> <p>Сезонные массовые ($W_{мас}$ и $S_{мас}$, где W и S – зимние и летние месяцы соответственно) в точке отбора проб: $W_{мас} = (MD_{янв} + MD_{фев} + MD_{март} + MD_{апр} + MD_{май} + MD_{окт} + MD_{ноя} + MD_{дек})/8$ $S_{мас} = (MD_{июн} + MD_{июл} + MD_{авг} + MD_{сен})/4$</p> <p>Среднегодовая массовая концентрация пыли ($P_n A_{мас}$) в точке отбора проб: $P_n A_{мас} = (2 \times W_{мас} + S_{мас})/3$</p>
<p>Третий шаг. Вывести годовые массовые концентрации пыли для групп работников, объединив данные с соответствующих точек отбора проб (данные за 1951-2001 годы).</p>	<p>Среднегодовая массовая концентрация пыли для групп работников ($A_{мас}$ для гр.р.): $A_{мас} \text{ для гр.р.} = (P_1 A_{мас} + P_2 A_{мас} + \dots + P_n A_{мас})/n$</p>
<p>Четвертый шаг. Моделирование Использовать данные за 1951/64 по 2001 гг. для моделирования массовых концентраций пыли по группам работников и годам отдельно и вывести смоделированные массовые концентрации пыли, в которых данные были помечены как несобранные систематически, отсутствующие/утерянные, отобранные с использованием альтернативного метода.</p>	<p>Отсутствующие среднегодовые концентрации пыли по группам работников. Наилучший линейный объективный прогноз из линейных смешанных моделей.</p>
<p>Пятый шаг. Сопоставить данные матрицы «работа-воздействие» (Job-Exposure Matrix – JEM) с базой данных профмаршрутов и присвоить индивидуальные уровни воздействия работникам по группам работников по годам.</p>	<p>Значения индивидуальных среднегодовых массовых концентраций пыли по историям профмаршрутов. Связь истории профмаршрута со значениями массовых концентраций пыли.</p>

Для расчёта пылевой нагрузки используется формула, представленная в Руководстве Р2.2.2006-05, в которой применяются значения среднесменных концентраций, взвешенных по времени всех производственных операций, при которых происходит контакт с пылью (за период до 2001 г. отсутствуют), поэтому принято решение использовать предложенную МАИР и участниками когортного исследования (Feletto E., 2021) формулу расчетов экспозиционной дозы пыли:

$$D_{\text{кум}} = \sum C_{\text{ср.г.отб}} \cdot t_{\text{г}} \cdot k_{\text{опас}}, \text{ где}$$

$D_{\text{кум}}$ – накопленная доза пыли;

$C_{\text{ср.г.отб}}$ – среднегодовая концентрация пыли в т. отбора проб, мг/м³;

$t_{\text{г}}$ – период в календарном году, в который работал сотрудник непосредственно рядом с точкой отбора

$$(t_{\text{г}} = \frac{\text{количество календарных дней (от 1 до 365 (366) дн)}}{365 (366) \text{ дн}})$$

$K_{\text{опас}}$ – коэффициент пребывания в опасных условиях ($k_{\text{опас}} = \frac{\text{доля (от 0 до 100\%)}}{100\%}$).

Для каждого, включенного в исследование лица, дана санитарно-гигиеническая характеристика, рассчитаны дозы пыли за все время работы с учётом процента времени нахождения на рабочем месте в течение смены. Молекулярно-генетические и дополнительные биохимические исследования (таблица 2) проведены в лаборатории медико-биологических исследований ФГБНУ «НИИ МТ».

Таблица 2 – Методы и объем исследования

Вид исследования	Метод исследования	Объем исследования
Биохимические исследования (1 500 исследований)		
Катаболиты ПОЛ (диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены (КД) и карбонилы (КБ))	спектрофотометрический (конвейерный метод спектрального анализа в гексановом экстракте)	1200 исследований (400 человек)
8-ОН-дезоксигуанозин (8-OHdG)	конкурентный иммуноферментный анализ (ELISA Kit for 8-OHdG, Cloud-Clone Corp.)	300 исследований (300 человек)
Молекулярно-генетические исследования (5 100 исследований)		
Полиморфные варианты гена TGF-β1 (rs1800471)	ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации (ООО НПФ «Литех» «SNP-экспресс»)	300 исследований (300 человек)
Полиморфные варианты генов: IL-1β (rs16944), IL-4 (rs2243250), IL-6 (rs1800795), IL-10 (rs1800896), TNFα (rs1800629), EPHX1 (rs1051740, rs2234922), CYP1A1 (rs1048943), CYP3A4 (rs2740574), MMP9 (rs17576), MMP12 (rs652438), SERPINA1 (rs17576, rs652438), SOD2 (rs4880), GSTP1 (rs1695), CAT (rs1001179)	ПЦР «в режиме реального времени» с флуоресцентной детекцией накопления продуктов амплификации («СИНТОЛ»)	4800 исследований (300 человек)

Примечание: ПЦР – полимеразная цепная реакция

Таким образом, для оценки значимости полиморфизмов генов изучаемых систем в развитии АОЗ сформированы профессионально-производственные группы работников, подвергающихся воздействию пыли хризотила в зависимости от наличия или отсутствия бронхолегочной патологии, стажа и экспозиционной дозы пыли за все время работы с учётом процента времени нахождения на рабочем месте в течение смены (таблица 3).

В группу контроля для оценки значимости биохимических маркеров вошли практически здоровые лица, не подвергающиеся воздействию вредных и опасных производственных факторов, характерных для исследуемых групп – 100 человек. Для анализа встречаемости полиморфных вариантов генов использовались данные проекта «1000 геномов». Таблица 3 – Профессионально-производственные группы работников, подвергающихся воздействию хризотиловой пыли

1. В зависимости от стажа и наличия АОЗ		
АОЗ (n=100)	Группы сравнения	
	стаж 10-20 лет (n=100)	стаж более 20 лет (n=100)
2. В зависимости от наличия АОЗ и полученных доз хризотила		
«Асбестоз» (n=68) 93,66 (69,61; 136,04) мг/м ³ x годы Стаж 32,79±6,65 лет	Группа сравнения (n=68) 93,8 (69,46; 136,29) мг/м ³ x годы Стаж 30,42±8,12 лет	
3. С установленным диагнозом «асбестоз» в зависимости от полученных доз хризотила		
«Асбестоз» (1a) (n=47) 78,97 (54,22; 93,31) мг/м ³ x годы	«Асбестоз» (1б) (n=47) 154,4 (137,52; 176,06) мг/м ³ x годы	

Все исследования проведены с информированного добровольного согласия (Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 29.12.2015, с изм. и доп., вступ. в силу с 01.01.2016)) и с соблюдением этических стандартов в соответствии с требованиями Хельсинкской Декларации ВМА. Проведение клинического исследования одобрено заключением локального комитета по этике ФГБНУ «НИИ МТ» (протокол заседания этического комитета ФГБНУ «НИИ МТ» №9 от 29.11.2016г.).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием статистического пакета «Statistica 10.0». Применяли методы описательной и аналитической статистики. Для проверки нормальности распределения количественных данных использовали критерий Шапиро-Уилка. При проверке степени достоверности межгрупповых различий по биохимическим показателям (при условии нормальности распределения) использовали однофакторный дисперсионный анализ и метод Холма. Однородность дисперсии определялась по тесту Левена.

Межгрупповые различия по качественным признакам анализировались с помощью вычисления критерия хи-квадрат (χ^2) Пирсона с использованием таблиц сопряженности, а в случаях с малыми независимыми выборками - с поправкой Йейтса. Для численного выражения отсутствия или наличия связи между фактором риска и исходом использовался показатель отношения шансов (ОШ), рассчитанный с 95%

доверительным интервалом (ДИ). Для анализа зависимостей между количественными и порядковыми показателями использовали коэффициент ранговой корреляции Гамма (γ).

В **третьей главе** описаны результаты исследования показателей ПОЛ и 8-ОНдГ.

При сравнении показателей ПОЛ и 8-ОНдГ у обследованных групп в зависимости от стажа и наличия установленных АОЗ органов дыхания показано, что значительное повышение уровня ДК и КД наблюдалось во всех группах по сравнению с контрольной группой (таблица 4). При этом уровень ДК достоверно выше в группе работников со стажем более 20 лет по сравнению с работниками со стажем 10-20 лет ($p=0,017$) и группой с установленными асбестообусловленными заболеваниями органов дыхания ($p=0,032$).

Концентрация 8-ОНдГ в группе со стажем более 10, но менее 20 лет - $145,92 \pm 54,37$ пг/мл достоверно ниже ($p=0,018$), чем в группе со стажем более 20 лет - $165,84 \pm 53,14$ пг/мл, что свидетельствует об интенсификации процесса окислительного повреждения ДНК при увеличении стажа работы в условиях воздействия асбестообразующей пыли. Также достоверно выявлено снижение концентрации 8-ОНдГ в группе с АОЗ по сравнению с группой сравнения со стажем более 20 лет ($p < 0,01$), что может говорить о снижении оксидативного повреждения ДНК при прекращении воздействия вредного фактора на организм.

Таблица 4 - Показатели ПОЛ и 8-ОНдГ у обследованных групп в зависимости от стажа и наличия АОЗ

Показатель	АОЗ (n=100)	Группы сравнения		Контроль (n=100)
		стаж 10-20 лет (n=100)	стаж более 20 лет (n=100)	
	1	2	3	4
ДК, ммоль/л	$0,44 \pm 0,09^* \#$	$0,43 \pm 0,1^* \#$	$0,51 \pm 0,15 \#$	$0,18 \pm 0,1$
КД, ммоль/л	$0,1 \pm 0,03 \#$	$0,11 \pm 0,02 \#$	$0,1 \pm 0,02 \#$	$0,04 \pm 0,02$
КБ, ммоль/л	$2,2 \pm 0,46$	$2,03 \pm 0,11$	$2,27 \pm 0,27$	$2,07 \pm 0,23$
8-ОНдГ, пг/мл	$145,38 \pm 38,46^*$	$145,92 \pm 54,37^*$	$165,84 \pm 53,14 \#$	$132,38 \pm 33,51$

Примечание: * - достоверные различия с группой 3; # - достоверные различия с группой 4

При сравнении показателей ПОЛ в обследуемых группах в зависимости от наличия асбестообусловленных заболеваний и полученных доз хризотила выявлены аналогичные повышения ДК и КД в группе с установленным диагнозом «асбестоз» и в группе работающих, получивших аналогичные экспозиционные дозы пыли относительно контрольной группы (таблица 5). Также показано достоверное повышение концентрации 8-ОНдГ в группе сравнения, чем в контрольной группе в 1,3 раза ($p=0,003$), а с группой с установленным диагнозом «асбестоз» - в 1,2 раза ($p=0,012$), что также подтверждает возможность определения 8-ОНдГ, как маркера воздействия пыли на организм.

При сравнении показателей ПОЛ в обследуемых группах в зависимости от наличия АОЗ и полученных доз хризотила выявлены достоверные корреляции между экспозиционными дозами пыли и уровнями КБ в группе сравнения ($r=0,762$, $p=0,004$).

Таблица 5 - Показатели ПОЛ и 8-OHdG у обследованных групп в зависимости от наличия асбестообусловленных заболеваний бронхолегочной системы и полученных доз хризотила

Показатель	«Асбестоз» (n=68) 93,66 (69,61; 136,04) мг/м ³ х годы	Группа сравнения (n=68) 93,8 (69,46; 136,29) мг/м ³ х годы	Контроль (n=100)
	1	2	3
ДК, ммоль/л	0,44±0,1*	0,43±0,09*	0,18±0,1
КД, ммоль/л	0,1±0,03*	0,09±0,02*	0,04±0,02
КБ, ммоль/л	2,2±0,43	2,26±0,28*	2,07±0,23
8-OHdG, пг/мл	142,53±38,44 #	168,25±54,22*	132,38±33,51

Примечание: # - достоверные различия с группой 2; * - достоверные различия с группой 3

Полученные данные дают основание предположить, что длительное воздействие высоких концентраций пыли хризотила приводит к истощению системы антиоксидантной защиты, интенсификации процессов СРО, повышению активности ПОЛ и прогрессированию воспалительных реакций даже после прекращения воздействия асбеста, что может обуславливать развитие асбестообусловленной патологии спустя многие годы после окончания профессионального контакта с фактором.

Таким образом, выявлено, что наиболее информативными показателями для оценки состояния СРО являются ДК, а маркером воздействия хризотила - 8-OHdG.

В **четвертой главе** представлены результаты молекулярно-генетических исследований.

Проведены молекулярно-генетические исследования полиморфных вариантов изученных генов у обследованных групп в зависимости от наличия АОЗ бронхолегочной системы и стажа, и данных популяционного контроля (таблица 6).

Получены данные по различиям частот встречаемости генотипов IL-4 у групп работающих со стажем более 10 и более 20 лет: у лиц с меньшим стажем генотип СТ выявлен в 19%, с большим стажем – в 35% (p<0,05), что может свидетельствовать о протективном влиянии генотипа СТ гена IL-4 в отношении развития АОЗ.

Установлено, что в группе больных асбестозом достоверно чаще встречаются генотипы Arg/Pro и Pro/Pro гена TGF-β1, чем в контрольной группе. Таким образом, наличие аллели Pro гена TGF-β1 ассоциировано с развитием асбестоза (ОШ=2,211, 95% ДИ=1,432-5,118). Также выявлены достоверные различия аналогичной направленности при сравнении распределения генотипов TGF-β1 между группой АОЗ и группами работающих со стажем более 10 и более 20 лет, что подтверждает влияние данного полиморфизма на развитие асбестоза.

В группе больных асбестозом генотип СТ гена фермента антиоксидантной системы SOD2 встречается в 63% случаев, в группе популяционного контроля – только в 48% (p<0,05). Таким образом, наличие генотипа СТ гена SOD2 увеличивает риск развития асбестоза в 1,8 раза (ОШ=1,845, 95% ДИ=1,128-3,016).

Таблица 6 – Результаты молекулярно-генетических исследований у обследованных групп в зависимости от наличия асбестообусловленной патологии бронхолегочной системы и стажа

Ген	Генотип	АОЗ		Контроль		Группы сравнения			
		N	%	N	%	Стаж более 10 лет		Стаж более 20 лет	
						N	%	N	%
IL-4* rs2243250	CC	65	66,3	140	70	72	72	63	63
	CT	28	28,6	52	26	19	19	35	35
	TT	5	5,1	8	4	9	9	2	2
TGF-β1** rs1800471	ArgArg	76	76	175	87,5	88	88	89	89
	ArgPro	19	19	23	11,5	12	12	10	10
	ProPro	5	5	2	1	0	0	1	1
SOD2# rs4880	TT	21	21	59	29,5	12	12	26	26
	CT	62	62	96	48	43	43	48	48
	CC	17	17	45	22,5	44	44	26	26

Примечание: * - достоверные различия между группами работающих со стажем более 10 лет и более 20 лет; ** - достоверные различия между группой АОЗ и группами контроля, работающих со стажем более 10 лет и более 20 лет; # - достоверные различия между группой АОЗ и группами контроля и работающих со стажем более 10 лет, достоверные различия между группами работающих со стажем более 10 и более 20 лет

Показано, что сочетание двух неблагоприятных вариантов генов протеолитической системы выявлено у больных асбестозом в 12% случаев, у работающих со стажем более 10 лет – в 7%, более 20 лет – в 3%, что подтверждает участие полиморфных вариантов генов системы «протеолиз-антипротеолиз» в развитии асбестоза (ОШ=2,591, 95% ДИ=1,078-6,224).

Для оценки информативности маркеров проведен анализ распределения полиморфных вариантов исследуемых генов среди больных асбестозом в зависимости от стажа работы в контакте с пылью асбеста до развития заболевания, наличия сопутствующей бронхолегочной патологии, вызванной воздействием пыли асбеста (хронический бронхит (ХБ), адгезивный плеврит (АП)) и степени дыхательной недостаточности (ДН).

Наличие аллели Т гена IL-4 ассоциировано с более высокой степенью ДН при асбестозе: с увеличением степени ДН увеличивается частота встречаемости Т аллели гена IL-4 (рисунок 1), таким образом, наличие Т аллели IL-4 повышает риск тяжелого течения асбестоза (ОШ=5,217, 95% ДИ=1,115-24,407).

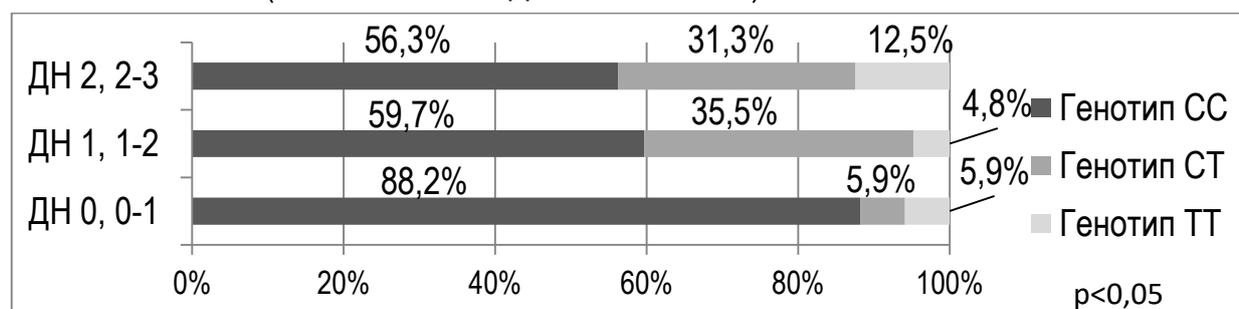


Рисунок 1 – Частота встречаемости генотипов IL-4 у лиц с асбестозом в зависимости от степени ДН

Показано, что генотип ТТ гена IL-4 ассоциирован с повышенным риском развития ХБ как сочетанной патологии при асбестозе (ОШ=8,471, 95% ДИ=1,432-50,118): при сочетании асбестоза с ХБ генотип ТТ гена IL-4 выявлен в 19,1% случаев, при асбестозе без ХБ – в 2,7% случаев (рисунок 2).

С более выраженной ДН ассоциирован генотип GG гена IL-6, выявленный у лиц с ДН 0, 0-1 степени в 5,9%, с ДН 1, 1-2 степени – в 40,3%, с ДН 2, 2-3 степени – в 50% ($p < 0,05$), т.е. у лиц с генотипом GG гена IL-6 повышается риск тяжелого течения асбестообусловленной бронхолегочной патологии (ОШ=5,867, 95% ДИ=1,261-27,286).

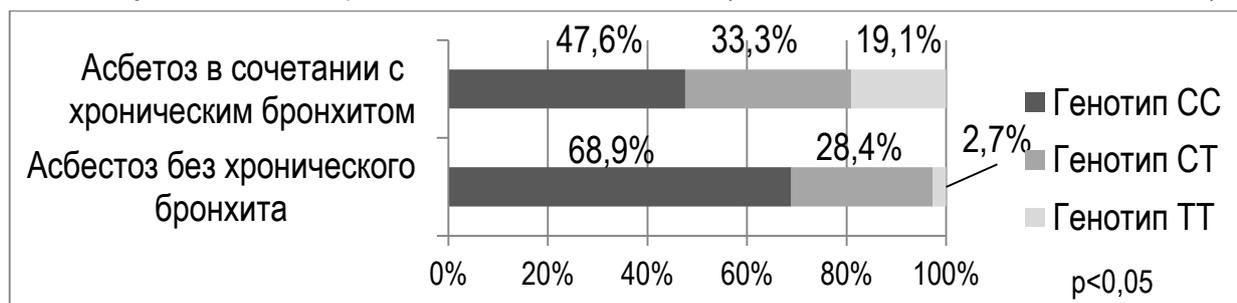


Рисунок 2 – Частота встречаемости генотипов IL-4 у лиц с асбестозом в зависимости от наличия ХБ

При проведении анализа распределения полиморфных вариантов генов системы биотрансформации ксенобиотиков выявлено, что при сочетании асбестоза с АП генотип AG гена CYP1A1 выявлен в 19,4% случаев, а при асбестозе без АП – в 7,8% случаев ($p = 0,01$), что подтверждает влияние данного полиморфизма на развитие АП.

Показана ассоциация генотипа GG гена GSTP1 с более ранним развитием асбестоза: при развитии асбестоза при стаже менее 20 лет генотип GG гена GSTP1 выявлен в 14,9%, при стаже более 20 лет - генотип GG не выявлен.

Также выявлена ассоциация полиморфного варианта гена GSTP1 с развитием АП: у лиц с асбестозом и АП достоверно чаще встречаются генотипы AG и GG гена GSTP1, чем у больных асбестозом без поражения плевры (рисунок 3). Таким образом, наличие G аллели гена GSTP1 увеличивает риск поражения плевры при контакте с асбестом в 3 раза (ОШ=3,030, 95% ДИ=1,241-7,401).

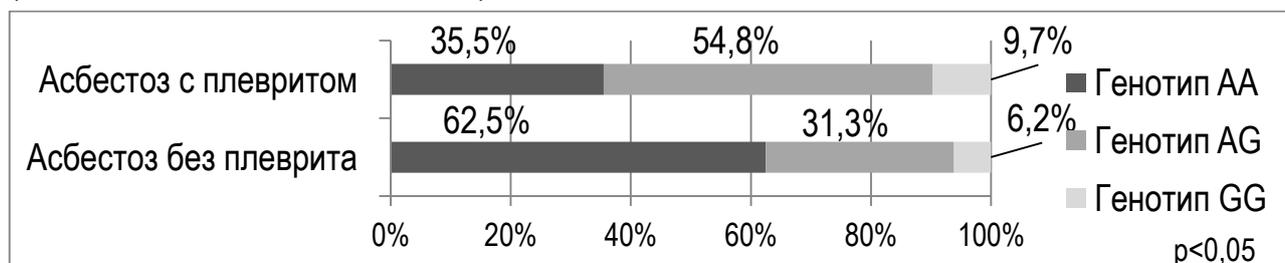


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов GSTP1 у лиц с асбестозом в зависимости от наличия АП

Установлено, что при одновременном наличии неблагоприятных аллели G гена GSTP1 и аллели C гена SOD2 риск развития поражения плевры при воздействии асбеста возрастает до 3,8 раз (ОШ=3,828, 95% ДИ=1,551-9,450).

Распределение частоты встречаемости полиморфных вариантов генов изученных систем в зависимости от полученных доз хризотила представлено в таблице 7.

Таблица 7 – Распределение генотипов и аллелей генов изученных систем в обследованных группах в зависимости от наличия АОЗ и полученных экспозиционных доз пыли

SNP	Генотип/ аллель	1 группа		2 группа		p	1а подгруппа		1б подгруппа		p
		Абс	Частота	Абс	Частота		Абс	Частота	Абс	Частота	
IL-1 β rs16944	GG	22	0,324	36	0,529	0,0152	17	0,362	18	0,383	0,8311
	AG	40	0,588	25	0,368	0,01	27	0,574	22	0,468	0,3019
	AA	6	0,088	7	0,103	1	3	0,054	7	0,149	0,3156
	G	84	0,618	97	0,713	0,0948	61	0,649	58	0,617	0,6499
	A	52	0,382	39	0,287		33	0,351	36	0,383	
IL-4 rs2243250	CC	39	0,574	46	0,676	0,215	26	0,554	34	0,724	0,0859
	CT	24	0,353	22	0,324	0,717	16	0,34	12	0,255	0,367
	TT	5	0,073	0	0	0,0684	5	0,106	1	0,021	0,2056
	C	102	0,75	114	0,838	0,072	68	0,723	80	0,851	0,0325
	T	34	0,25	22	0,162		26	0,277	14	0,149	
TGF- β 1 rs1800471	ArgArg	47	0,691	58	0,853	0,0246	37	0,787	34	0,723	0,4717
	ArgPro	16	0,235	10	0,147	0,2055	7	0,149	11	0,234	0,4316
	ProPro	5	0,074	0	0	0,0684	3	0,064	2	0,043	0,6458
	Arg	110	0,809	126	0,926	0,0044	81	0,862	79	0,840	0,6820
	Pro	26	0,191	10	0,074		13	0,138	15	0,160	
MMP9 rs17576	AA	18	0,265	31	0,456	0,0202	12	0,255	16	0,340	0,3670
	AG	39	0,574	30	0,441	0,1227	29	0,617	22	0,468	0,1473
	GG	11	0,162	7	0,103	0,3115	6	0,128	9	0,192	0,5732
	A	75	0,551	92	0,676	0,0342	53	0,564	54	0,574	0,8829
	G	61	0,449	44	0,324		41	0,436	40	0,426	
SOD2 rs4880	TT	12	0,176	22	0,324	0,0477	7	0,149	9	0,1915	0,7837
	CT	38	0,559	36	0,529	0,7306	29	0,617	29	0,617	1
	CC	18	0,265	10	0,147	0,0898	11	0,234	9	0,1915	0,801
	T	62	0,456	80	0,588	0,0289	43	0,457	47	0,5	0,5592
	C	74	0,544	56	0,412		51	0,543	47	0,5	

Генотип AG IL-1 β (A511G) чаще встречается у лиц с асбестозом, т.е. является фактором риска развития асбестоза (ОШ=2,457, 95% ДИ=1,232-4,899). Генотип GG IL-1 β показан как фактор устойчивости к формированию заболевания (ОШ=0,425, 95% ДИ=0,212-0,853). Таким образом, генотип AG IL-1 β , ассоциированный с повышенным уровнем интерлейкина в отличие от генотипа GG, может способствовать активизации воспалительного процесса в дыхательных путях и повышать риск развития асбестоза.

При сравнении распределения частот генотипов и аллелей изученных генов у групп лиц с диагностированным асбестозом в зависимости от пылевых экспозиционных доз установлено, что наличие аллели T гена IL-4 ассоциировано с развитием асбестоза при

более низких значениях доз (группа 1а) экспозиции пыли хризотилового асбеста (ОШ=2,185, 95% ДИ=1,057-4,514), что, возможно, связано с развитием эозинофильного воспаления и субэпителиального фиброза (Lee P.N., 2001).

При наличии генотипа Arg/Arg TGF- β 1 снижается риск развития асбестоза (ОШ=0,386, 95% ДИ=0,266-0,899): частота встречаемости в группе лиц с диагностированным асбестозом (1 группа) и у работающих без бронхолегочной патологии (2 группа), получивших аналогичные экспозиционные дозы пыли, составляет 69,1% и 85,3% соответственно ($p=0,025$). Установлено, что аллель Pro гена TGF- β 1 повышает риск развития асбестоза почти в 3 раза (ОШ=2,978, 95% ДИ=1,375-6,451).

Выявлены достоверные отличия по распределению генотипа AA и аллелей A, G гена MMP9: вариант AA гена MMP9 показан как фактор устойчивости к формированию заболевания (ОШ=0,430, 95% ДИ=0,209-0,883); аллель G по локусу 279-AG MMP9 ассоциирован с развитием асбестоза (ОШ=2,327, 95% ДИ=1,133-4,780). Риск развития асбестоза среди лиц, подвергающихся воздействию асбестосодержащей пыли на рабочем месте и получивших аналогичные пылевые экспозиционные дозы возрастает в 2,3 раза, что подтверждает роль аллели G гена MMP9 в развитии АОЗ бронхолегочной системы, скорее всего за счет увеличения транскрипционной активности, избыточного накопления фермента и, как следствие, избыточной деградации внеклеточного матрикса.

Выявлены достоверные отличия по распределению генотипа TT и аллелей C, T гена SOD2 у лиц с диагностированным асбестозом и у работающих без бронхолегочной патологии, получивших аналогичные экспозиционные дозы пыли.

Аллель C гена SOD2 (C47T) ассоциирована с риском развития асбестоза (ОШ=1,705, 95% ДИ=1,055-2,756). В группе с установленным диагнозом «асбестоз» генотип TT гена SOD2 встречается в 17,6%, а в группе работающих, получивших аналогичные суммарные экспозиционные дозы пыли – в 32,4%, т.е. практически в 2 раза реже ($p=0,048$), что может говорить о протективном влиянии генотипа TT гена SOD2.

Таким образом, результаты проведенных исследований подтвердили значимость генетически детерминированных особенностей метаболических процессов в формировании индивидуальной чувствительности к воздействию асбестосодержащей пыли.

В **пятой главе** приведены данные корреляционного анализа, которые показали высокие уровни взаимосвязи между концентрациями катаболитов ПОЛ, 8-OHdG и полиморфными вариантами изучаемых генов в различных обследованных группах.

Об избыточной пероксидации и накоплении продуктов ПОЛ свидетельствуют выявленные ассоциации между аллелью C гена SOD2 (C47T) и повышенными уровнями КД ($\gamma=0,455$; $p=0,025$), аллелью T гена IL-4 (C589T) и аллелью G гена MMP9 (Gln279Arg) и увеличением концентрации КБ ($\gamma=0,586$; $p=0,006$; $\gamma=0,488$; $p=0,016$) у группы со стажем до 20 лет.

В группе с установленным диагнозом «асбестоз» аллель Pro гена TGF- β 1 (Arg25Pro) коррелирует с повышением концентрации ДК ($\gamma=0,252$; $p=0,021$), а аллель A гена IL-1 β (C511T) - с повышением КД ($\gamma=0,209$; $p=0,019$), что свидетельствует о поддержании активного воспалительного процесса у больных с асбестозом.

Выявлена выраженная корреляция «медленной аллели» гена ERHX1, с повышенной концентрацией ДК ($\gamma=0,527$; $p=0,001$) и аллели A гена TNF- α (G4682A), ассоциированной с усиленной экспрессией данного провоспалительного цитокина, с повышением КД ($\gamma=0,477$; $p=0,029$) в группе работающих в условиях воздействия пыли асбеста.

В группе с установленным диагнозом «асбестоз» аллель G гена ERHX1 (A/G) коррелирует с повышенным содержанием 8-OHdG ($\gamma=0,400$; $p<0,001$), и в группе с диагнозом «асбестоз» с полученной суммарной экспозиционной дозой 154,4 (137,52; 176,06) мг/м³ x годы аллель C гена ERHX1 His139Arg ассоциирован с повышенной концентрацией 8-OHdG ($\gamma=0,493$; $p=0,003$), что подтверждает роль полиморфных вариантов генов системы биотрансформации ксенобиотиков в поддержании оксидативного стресса у больных асбестозом.

Также выявлены ассоциации между увеличением концентрации 8-OHdG и аллелью G гена IL-6 C174G в группе с установленным диагнозом «асбестоз» с полученной суммарной экспозиционной дозой 78,97 (54,22; 93,31) мг/м³ x годы ($\gamma=0,331$; $p=0,041$) и аллелью A гена TNF- α G4682A в группе с установленным диагнозом «асбестоз» с полученной суммарной экспозиционной дозой 154,4 (137,52; 176,06) мг/м³ x годы ($\gamma=0,453$; $p=0,035$). Достоверная корреляция между повышенным содержанием 8-OHdG и изученными полиморфными вариантами цитокинов свидетельствует об интенсификации процесса окислительного повреждения ДНК при воздействии хризотилсодержащей пыли.

Таким образом, подтверждена значимость полиморфизмов генов изученных систем в развитии АОЗ органов дыхания за счет активации и интенсификации процессов СРО.

В **шестой главе** представлено обсуждение полученных результатов исследования полиморфных вариантов генов изученных систем и сформирован комплекс молекулярно-генетических маркеров для прогноза риска развития и тяжелого течения профессиональных заболеваний бронхолегочной системы от воздействия пыли асбеста.

Риск развития профессиональных заболеваний, время, характер и тяжесть патологического процесса связаны не только с воздействием неблагоприятных производственных факторов, вредных и опасных условий труда, но и с индивидуальной чувствительностью организма к ним.

Патогенетические механизмы формирования профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний от воздействия асбестовой пыли сложны и характеризуются дисбалансом во многих молекулярных системах, генетический полиморфизм белков данных систем может модифицировать ответные реакции

организма на воздействие пыли хризотилового асбеста. Развитие патологического процесса происходит медленно и долгое время остается в начальной стадии без клинических проявлений, что затрудняет своевременную диагностику АОЗ.

Знания о генетической предрасположенности к АОЗ органов дыхания открывают для профессиональной клиники возможности персонализированной медицины; оценка риска развития заболевания при контакте с тем или иным фактором – потенциально возможный, качественно новый уровень профилактики профессиональных заболеваний. Знание степени риска развития АОЗ позволит обоснованно сформулировать рекомендации по рациональному трудоустройству или определить показания к углубленному обследованию работающих из группы риска с целью раннего выявления заболевания.

Результаты проведенного комплексного обследования работников асбестовых производств показали влияние полиморфных вариантов генов изученных систем на риск раннего развития и неблагоприятного течения АОЗ органов дыхания. Лицами с наиболее высоким риском являются те, у кого выявляется сочетание неблагоприятных полиморфных вариантов генов одной системы или нескольких, что обусловлено однонаправленным влиянием нескольких маркеров на развитие патологического процесса.

Согласно результатам проведенных исследований установлено, что в развитии АОЗ органов дыхания наибольшее значение имеют генетически детерминированные нарушения в системах антиоксидантной защиты, про- и противовоспалительных цитокинов и «протеолиз-антипротеолиз» (таблица 8), которые приводят к чрезмерной продукции АФК, повреждению целостности мембран, гибели клеток, высвобождению широкого спектра биологически активных веществ, и как результат – к развитию АОЗ бронхолегочной системы и обуславливают тяжесть клинического течения.

Проведенные исследования показали, что характер развивающейся АОЗ органов дыхания, клиническое течение и осложнения определяются не только уровнями экспозиции пыли хризотила, но и индивидуальными особенностями организма, влияющих на различные звенья патогенеза асбестообусловленных заболеваний органов дыхания.

Осуществление молекулярно-генетического обследования факторов риска и резистентности по максимально возможному спектру молекулярных маркеров позволит наиболее точно и объективно выделять лиц с высокой вероятностью развития и неблагоприятного течения асбестообусловленных заболеваний на этапе предварительного профессионального отбора и оптимизировать меры их профилактики.

На основании проведенных исследований и данных литературы сформирован комплекс молекулярно-генетических маркеров, позволяющий выявлять группы высокого риска развития и тяжелого течения асбестообусловленной патологии органов дыхания для профилактических мероприятий с учетом индивидуальных особенностей организма.

Таблица 8 – Выявленные ассоциации молекулярно-генетических маркеров с особенностями течения асбестообусловленной патологии органов дыхания

Биохимическая система	Фактор риска		ОШ	Ассоциации с развитием и тяжестью АОЗ
	Ген (SNP)	Генотип/ Аллель		
Система про- и противовоспалительных цитокинов	IL-1 β (rs16944)	AG	ОШ=2,457 (95% ДИ=1,232-4,899)	Развитие асбестоза
		GG	ОШ=0,425 (95% ДИ=0,212-0,853)	Фактор устойчивости
	IL-4 (rs2243250)	T	ОШ=2,185 (95% ДИ=1,057-4,514)	Развитие асбестоза
			ОШ=5,217 (95% ДИ=1,115-24,407)	Тяжесть течения асбестоза
	IL-6 (rs1800795)	GG	ОШ=5,867 (95% ДИ=1,261-27,286)	Тяжесть течения асбестоза
	TGF- β 1 (rs1800471)	Pro	ОШ=2,978 (95% ДИ=1,375-6,451)	Развитие асбестоза
		Arg/Arg	ОШ=0,386 (95% ДИ=0,266-0,899)	Фактор устойчивости
Система антиоксидантной защиты	SOD2 (rs4880)	C	ОШ=1,705 (95% ДИ=1,055-2,756)	Развитие асбестоза
		CT	ОШ=1,845 (95% ДИ=1,128-3,016)	Развитие асбестоза
	GSTP1 (rs1695)	G	ОШ=3,030 (95% ДИ=1,241-7,401)	Развитие адгезивного плеврита
	Одновременное наличие аллели G гена GSTP1 и аллели C гена SOD2		ОШ=3,828 (95% ДИ=1,551-9,450)	Развитие адгезивного плеврита
Система «протеолиз-антипротеолиз»	MMP9 (rs17576)	G	ОШ=2,327 (95% ДИ=1,133-4,780)	Развитие асбестоза
		AA	ОШ=0,430 (95% ДИ=0,209-0,883)	Фактор устойчивости
	Сочетание двух неблагоприятных полиморфных вариантов генов (SERPINA1 PIZ, PIS; MMP9; MMP12)		ОШ=2,591 (95% ДИ=1,078-6,224)	Развитие асбестоза

При проведении предварительных и периодических медицинских осмотров лиц, подвергающихся воздействию хризотиловой пыли, либо устраивающихся на такие работы предлагается проведение базового скрининга (таблица 9), а при условии наличия факторов риска развития бронхолегочной патологии (табакокурение, частые повторные ОРЗ – более 3 раз в год, наличие нарушений вентиляционной способности легких, ожирение, наличие сопутствующих эндокринных и сердечно-сосудистых заболеваний, нарушения иммунитета, отягощенный семейный анамнез по бронхолегочной патологии) рекомендуется проведение дополнительного исследования комплекса полиморфных

вариантов генов для прогноза рисков развития асбестообусловленных заболеваний, тяжести клинического течения и оптимизации профилактических мероприятий, направленных на сохранение и поддержание состояния здоровья трудоспособного населения.

Таблица 9 – Комплекс молекулярно-генетических маркеров для прогноза риска развития и тяжелого течения профессиональных заболеваний бронхолегочной системы от воздействия пыли асбеста

	Биохимическая система	SNP	Генотипы риска
Базовый комплекс	Цитокины	IL-1 β (rs16944)	AG
		IL-4 (rs2243250)	TT, CT
		TGF- β 1 (rs1800471)	Pro/Pro, Arg/Pro
	Антиоксиданты	SOD2 (rs4880)	CC, CT
	Система протеолиза	MMP9 (rs17576)	GG, AG
Дополнительный комплекс	Цитокины	IL-6 (rs1800795)	GG
		TNF- α (rs1800629)	AA
	Антиоксиданты	GSTP1 (rs1695)	GG, AG
	Биотрансформация ксенобиотиков	CYP1A1 (rs1048943)	AG
		EPHX1 (rs1051740)	CC
		EPHX1 (rs2234922)	GG, AG

Таким образом, на основе данных гигиенического исследования и результатов проведенного медицинского осмотра сформированы профессионально-производственные группы работников, подвергающихся воздействию пыли хризотила в зависимости от экспозиционной дозы и наличия или отсутствия бронхолегочной патологии, что позволило оценить индивидуальную чувствительность и риск развития асбестообусловленных заболеваний.

Прогноз риска развития профессиональных заболеваний бронхолегочной системы от воздействия пыли асбеста и их профилактика должны осуществляться с учетом индивидуальных особенностей организма, состояния метаболических, иммунных процессов и адаптационно-защитных механизмов.

ВЫВОДЫ

1. Детальное изучение профессионального маршрута и уровней запыленности воздуха рабочей зоны за весь период работы обследованных на изучаемых предприятиях с расчетом индивидуальных суммарных экспозиционных доз пыли дало возможность сформировать производственно-профессиональные группы для выявления индивидуальной чувствительности к воздействию пыли, содержащей волокна хризотилового асбеста, и оценки риска развития асбестообусловленных заболеваний бронхолегочной системы.
2. У работников асбестовых производств при равных экспозиционных дозах и равной длительности воздействия асбестосодержащей пыли выявлена гетерогенность в развитии и тяжести клинического течения асбестообусловленной патологии бронхолегочной системы (отсутствие бронхолегочной патологии; асбестоз; асбестоз, осложненный

бронхитом или плевритом; асбестоз с разной степенью ДН), что связано с генетически детерминированными особенностями метаболических систем и индивидуальной чувствительностью к воздействию пыли, содержащей волокна хризотилового асбеста.

3. Выявлены информативные молекулярно-генетические показатели, ассоциированные с развитием асбестоза - однонуклеотидные полиморфизмы генов интерлейкина-1 бета (IL-1 β A511G (rs16944)) (ОШ=2,457, 95% ДИ=1,232-4,899), интерлейкина-4 (IL-4 C589T (rs2243250)) (ОШ=2,185, 95% ДИ=1,057-4,514), трансформирующего фактора роста бета-1 (TGF- β 1 (rs1800471)) (ОШ=2,978, 95% ДИ=1,375-6,451), супероксиддисмутазы (SOD2 C47T (rs4880)) (ОШ=1,705, 95% ДИ=1,055-2,756) и матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9 Gln279Arg (rs17576)) (ОШ=2,327, 95% ДИ=1,133-4,780).

4. Выявлены информативные молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные с тяжестью клинического течения асбестоза, - однонуклеотидные полиморфизмы генов интерлейкина-4 (IL-4 C589T (rs2243250)) (ОШ=5,217, 95% ДИ=1,115-24,407) и интерлейкина-6 (IL-6 C174G (rs1800795)) (ОШ=5,867, 95% ДИ=1,261-27,286). Наличие однонуклеотидных полиморфизмов гена глутатион-S-трансферазы P1 (GSTP1 A313G (rs1695)) ассоциировано с увеличением в 3 раза риска поражения плевры при воздействии пыли, содержащей волокна хризотилового асбеста (ОШ=3,030, 95% ДИ=1,241-7,401).

5. Степень повышения уровней маркеров оксидативного стресса: первичных продуктов перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты) и маркера окислительного повреждения ДНК (8-OHdG), - ассоциирована со стажем работы в контакте с асбестосодержащей пылью, суммарной экспозиционной дозой пыли и наличием продолжающегося контакта с фактором, что подтверждает информативность исследования данных показателей в качестве маркеров хронического воздействия асбестосодержащей пыли.

6. Достоверная корреляция между продуктами ПОЛ, 8-ОН-дезоксигуанозином и генетическими полиморфизмами ферментов систем про- и противовоспалительных цитокинов, биотрансформации ксенобиотиков, «протеолиз-антипротеолиз» и «оксиданты-антиоксиданты» свидетельствует об изменении активности ферментов при развитии асбестообусловленных заболеваний. Выявлены достоверные ассоциации: EPHX1 Tyr113His, TGF- β 1 Arg25Pro с повышенным уровнем диеновых конъюгатов ($\gamma=0,527$; $p=0,001$; $\gamma=0,252$; $p=0,021$); SOD2 C47T, TNF- α G4682A, IL-1 β A511G с повышенными уровнями кетодиенов ($\gamma=0,455$; $p=0,025$; $\gamma=0,477$; $p=0,029$; $\gamma=0,209$; $p=0,019$); IL-4 C589T и MMP9 Gln279Arg с повышенным уровнем карбониллов ($\gamma=0,586$; $p=0,006$; $\gamma=0,488$; $p=0,016$); IL-6 C174G, TNF- α G4682A, EPHX1 His139Arg и EPHX1 Tyr113His - с повышенным уровнем 8-ОН-дезоксигуанозина ($\gamma=0,331$; $p=0,041$; $\gamma=0,453$; $p=0,035$; $\gamma=0,400$; $p<0,001$; $\gamma=0,493$; $p=0,003$).

7. Выявлены информативные молекулярно-генетические маркеры систем про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β (rs16944), IL-4 (rs2243250), IL-6 (rs1800795),

TNF- α (rs1800629) и TGF- β 1 (rs1800471)), биотрансформации ксенобиотиков (EPHX1 (rs1051740), EPHX1 (rs2234922) и CYP1A1 (rs1048943)), «протеолиз-антипротеолиз (MMP9 (rs17576)) и «оксиданты-антиоксиданты» (SOD2 (rs4880) и GSTP1 (rs1695)) для оценки индивидуального риска развития и прогноза течения асбестообусловленной бронхолегочной патологии для включения в комплекс профилактических мероприятий.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кузьмина Л.П., Анохин Н.Н., Хотулева А.Г. Обоснование исследований по изучению молекулярно-генетических маркеров оценки риска развития асбестообусловленной бронхолегочной патологии // Медицина труда и промышленная экология. - 2017. - № 9. - С. 102.

2. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г., Анохин Н.Н., Анварул Н.А. Генетический полиморфизм противовоспалительных цитокинов в оценке риска развития и прогноза течения профессиональной бронхолегочной патологии // Здоровье и окружающая среда. Сборник материалов международной научно-практической конференции. - 2018. - Т. 1. - С. 157-158.

3. Кузьмина Л.П., Бухтияров И.В., Ковалевский Е.В., Анохин Н.Н. [и др.] Научное обоснование методологии оценки риска развития асбестообусловленных заболеваний у работников, подвергающихся воздействию хризотилового асбеста, на основе определения молекулярных маркеров // Актуальные проблемы медицины труда: Сборник трудов ин-та. - 2018. - С. 603-610.

4. Хафизов К.Ф., Кузьмина Л.П., Анохин Н.Н. [и др.] Спектр мутаций гена SERPINA1 в группе пациентов с профессиональной бронхолегочной патологией // Молекулярная диагностика. Сборник трудов Международной научно-практической конференции. – 2018. – С. 215-216.

5. Анохин Н.Н. Значение полиморфизма генов ферментов антиоксидантной системы в патогенезе асбестообусловленных заболеваний // Профессия и здоровье. Материалы 2-ого Международного Молодёжного Форума. - 2018. - С. 11-16.

6. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г., Анохин Н.Н. Молекулярно-генетические маркеры системы цитокинов в прогнозировании риска развития и тяжести течения асбестога // Медицина труда и промышленная экология. - 2019. - Т. 59. - №9. - С. 668-669.

7. Безрукавникова Л.М., Анохин Н.Н., Цидильковская Э.С. Ассоциация молекулярно-генетических маркеров и показателей оксидативного стресса у работающих в контакте с пылью асбеста // Медицина труда и промышленная экология. - 2019. - Т. 59. - №9. - С. 560.

8. Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г., Ковалевский Е.В., Анохин Н.Н., Цхомария И.М. Ассоциация полиморфных вариантов генов цитокинов и ферментов антиоксидантной системы с развитием асбестога // Медицина труда и промышленная экология. - 2020. - Т. 60. - №12. - С. 898-903.

9. Kuzmina L., Khotuleva A., Anokhin N. Association of genetic markers with the development of asbestosis // Safety and Health at Work. - 2022. - Vol. 13. - P. S253-S254.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОЗ – асбестообусловленные заболевания

АФК – активные формы кислорода

ДК – диеновые конъюгаты

КБ - карбонилы

КД - кетодиены

ПОЛ - перекисное окисление липидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СРО - свободнорадикальное окисление