

На правах рукописи

Чачибая Заза Котеевич

**КЛИНИКО-ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКАЯ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ВИБРАЦИОННОЙ БОЛЕЗНИ В СОЧЕТАНИИ
С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

14.01.04 – внутренние болезни

14.02.04 – медицина труда

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2015

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Шпагина Любовь Анатольевна

доктор медицинских наук, доцент

Герасименко Оксана Николаевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Гафаров Валерий Васильевич

(Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, заведующий лабораторией психологических и социологических проблем терапевтических заболеваний, г. Новосибирск)

доктор медицинских наук, профессор

Бабанов Сергей Анатольевич

(Самарский государственный медицинский университет, заведующий кафедрой профессиональных болезней и клинической фармакологии, г. Самара)

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2015 года в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.02 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел. (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; <http://ngmu.ru/dissertation/368>)

Автореферат разослан «__» _____ 2015 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

В. П. Дробышева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Современные формы вибрационной болезни, независимо от типа воздействия фактора, характеризуются учащением сочетаний с сердечно-сосудистыми заболеваниями, торпидностью течения, несмотря на прекращение производственного контакта, патоморфозом поражения органов-мишеней поражения (Рукавишников В. С., 2008; Измеров Н. Ф., 2011; Захаренков В. В., 2011; Малютина Н.Н., 2012; Шпагина Л. А. 2013; Бабанов С. А., 2013).

В генезе сосудистых поражений от воздействия вибраций рассматриваются многофакторные изменения: первично-механическое влияние физического фактора, нейрогуморальные и гормональные сдвиги, процессы высокой липопероксидации и формирование системных мембранопатий, нарушение микрогемодикуляции и гипоксия, синдром регенераторно-пластического дефицита (Кузьмина Л. П., 2013; Oganov R. G., Pogosova G. N., 2011).

В процессах ремоделирования сосудов при артериальной гипертензии важная роль принадлежит нарушению структуры и функции эндотелия, ассоциированным с повышением концентрации окисленных атерогенных липидов, дефицитом оксида азота, повышением эндотелина-1, экспрессией васкулоэндотелиального и трансформирующего факторов роста, высокой степенью выраженности процессов воспаления, гормональными и метаболическими нарушениями (Каримова Л. К., 2010; Кабалава Ж. Д., Белоусов Ю. В., 2011; Герасименко О. Н., 2014).

Полиморфизмы генов, связанных с регуляцией сосудистого тонуса системным гемостазом, определяют риск развития и прогрессирования сосудистых расстройств при различной патологии (Drexler H., 2009; Deanfield J., 2011; Юдин Н. С., Гафаров В. В., 2013).

Вместе с тем мало изученным остается эндотелиально-гемостазиологический континуум в ассоциации с полиморфизмом генов при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией, что определило цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования. На основе оценки клинико-функциональных, эндотелиальных, гемостазиологических показателей оптимизировать раннюю диагностику сосудистых нарушений при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией.

Задачи исследования

1. Изучить показатели эндотелиальной дисфункции: уровень трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), индуцибельной синтазы оксида азота, эндотелина-1, концентрацию молекул адгезии и полиморфизм генов: эндотелина-1, эндотелиального фактора роста сосудов, трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), эндотелиальной NO-синтазы у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией.

2. Изучить показатели системного гемостаза: уровень тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB), фибронектина, фибринопептида А, тромбоспондина, α -2-макроглобулина, плазминогена и полиморфизм гена плазминогена типа 1 (PAI 1) у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией.

3. Определить межсистемные взаимосвязи показателей клинико-функционального состояния периферических сосудов с маркерами эндотелиальной дисфункции и системного гемостаза и разработать дополнительные критерии диагностики сосудистых нарушений у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией.

Научная новизна. Впервые на основе комплексного клинико-функционального и молекулярно-генетического исследования показано, что сочетание вибрационной болезни с артериальной гипертензией характеризуется выраженными изменениями гемоциркуляции, эндотелиальной дисфункцией с преимущественным снижением уровня индуцибельной NO-синтазы (iNOS), повышением эндотелина-1, нарастанием уровня молекул адгезии (sPECAM-1 и sVCAM-1) и sP-селектина в сочетании с усиленной выработкой фактора эндотелина-1, трансформирующего фактора роста (TGF- β) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

Эндотелиальная дисфункция у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией ассоциирована с нарастанием частоты выявления полиморфных вариантов Т/Т гена эндотелиальной NO-синтазы, Т/Т-гена эндотелина-1 (EDN1), неблагоприятным вариантом аллелей Т/Т полиморфизма гена трансформирующего фактора роста (TGF- β) и G/G-гена фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

У больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией в сравнении с изолированными вариантами артериальной гипертензии и вибрационной болезни выявляются наиболее выраженные нарушения системного гемостаза: показателей тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB), тромбоспондина и α -2-макроглобулина, в условиях нарастания продуктов фибрина – фибронектина, фибринопептида А (FPA) и снижения активности плазминогена, что свидетельствует о нарушениях эндотелиально-сосудистых взаимоотношений в системе гемостаза с нарастанием изменений коагуляционного гемостаза и фибринолиза.

Вибрационная болезнь в сочетании с артериальной гипертензией характеризуется неблагоприятными вариантами полиморфизма генов: аллелей 4G/4G плазминогена типа 1 (PAI1), ассоциированных с риском развития атеротромбогенных осложнений.

В условиях сочетания вибрационной болезни с артериальной гипертензией выявлены наиболее тесные взаимосвязи индекса толщины интима-медиа к диаметру сосудов ТИМ/Д с уровнем базальной микроциркуляции, вибрационной чувствительностью, частотой спонтанных ангиоспазмов, скоростью утреннего подъема САД, индексом резистентности сосудистого сопротивления, частотой «non-dippers» по суточному профилю артериального давления, с эндотелиальными показателями, маркерами гемостаза в ассоциации с частотой аллелей полиморфных вариантов аллелей 4G/4G гена плазминогена (PAI1), частотой полиморфных аллелей T/T гена NOS3(e) и аллелей T/T гена трансформирующего фактора TGF- β 1.

Практическая значимость. На основании изучения эндотелиально-гемостазиологических показателей определены ранние маркеры диагностики микроциркуляторных и сосудистых нарушений как при изолированных, так и сочетанных формах вибрационной болезни и артериальной гипертензии.

У больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией ранними критериями эндотелиально-сосудистых и гемостазиологических нарушений служат: клинико-функциональные параметры – вибрационная чувствительность, скорость утреннего подъема систолического артериального давления, соотношение толщины интима-медиа к диаметру

сосудов и индекс резистентности в лучевых артериях, показатель базальной микроциркуляции, частота выявления неблагоприятных вариантов «non-dippers» и спонтанных ангиоспазмов; в числе эндотелиальных показателей – уровень индуцированного оксида азота iNOS3, трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), адгезивная молекула (sPECAM-1), уровень тромбоцитарного фактора роста ВВ (PDGF-BB), активность плазминогена, показатель тромбоспондина и фибринопептида А, что позволяет дополнить диагностический алгоритм сосудистых нарушений и на этой основе разработать критерии риска и эффективности лечения больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией.

Необходимо проводить генотипирование полиморфных вариантов аллелей 4G/4G гена плазминогена (PAI1), аллелей T/T гена NOS3(e) и аллелей T/T гена трансформирующего фактора TGF- $\beta 1$ с целью ранней оценки риска тромбогенных осложнений у больных ВВ в сочетании с артериальной гипертензией.

Положения, выносимые на защиту

1. Эндотелиальная дисфункция при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией характеризуется преимущественным снижением уровня индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS), повышением эндотелина-1, фактора эндотелиального роста (VEGF) и трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- β) в сочетании с нарастанием концентрации молекул адгезии (sPECAM-1 и sVCAM-1) и sP-селектина и ассоциацией полиформизма генов эндотелина-1, фактора эндотелиального роста (VEGF) и гена эндотелиальной NO-синтазы.

2. В группе больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией нарушения эндотелиально-сосудистого гемостаза регистрируются в виде повышения уровня фактора тромбоцитарного роста ВВ (PDGF-BB), фибринопептида А и фибронектина, тромбоспондина и тромбомодулина, снижения активности плазминогена, выявляются ассоциированные полиморфизмы гена плазминогена типа 1 (PAI1).

3. Эндотелиально-гемостазиологические параметры ассоциированы с показателями ремоделирования периферических сосудов в виде тесных связей индекса ТИМ/Д с показателями вибрационной чувствительности, частотой

спонтанных ангиоспазмов, базальной микроциркуляции и суточного профиля артериального давления, индексом резистентности на лучевых артериях, эндотелиальными маркерами (индуцибельной синтазы оксида азота, эндотелина-1, трансформирующего фактора роста и эндотелиального фактора роста, адгезивных молекул), показателями гемостаза (тромбоспондин, фибринопептид А, активность плазминогена, тромбоцитарный фактор роста), с частотой встречаемости полиморфизма генов плазминогена типа 1 (PAI1), эндотелина (EDN 1), эндотелиальной NO-синтазы NOS3 (e) и трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- β).

Апробация работы. Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на 1-м съезде терапевтов Сибирского региона и Дальнего Востока (Новосибирск, 2006), на научно-практической конференции врачей «Актуальные вопросы современной медицины» (Новосибирск, 2005), на 5-м Всероссийском конгрессе «Профессия и здоровье» (Москва, 2007), на Всероссийской конференции с международным участием «Здоровье работающих» (Новосибирск, 2008), на межрегиональной научно-практической конференции «Инновационные технологии медицины труда» (Белокуриха, 2013), на Всероссийской научно-практической конференции «Профессия и здоровье» (Новосибирск, 2014).

Внедрение в практику. Результаты исследования внедрены в работу Городской клинической больницы № 2 (г. Новосибирск), Городской клинической больницы № 1 (г. Новосибирск), Государственного областного клинического диагностического центра (г. Новосибирск), Новосибирского областного клинического кардиологического диспансера, Новосибирского научно-исследовательского института гигиены, в учебный процесс на кафедре госпитальной терапии и медицинской реабилитации Новосибирского государственного медицинского университета.

Публикации. По теме исследования опубликовано 12 научных работ, в том числе 8 статей в журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов диссертации.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 166 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав,

обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 40 таблиц и 8 рисунков. Указатель литературы представлен 272 источниками, из которых 103 – зарубежных авторов.

Личный вклад автора. Весь материал, представленный в диссертации, собран, обработан, проанализирован и интерпретирован лично автором.

Работа выполнена в Новосибирском государственном медицинском университете на кафедре госпитальной терапии и медицинской реабилитации (зав. кафедрой, д-р мед. наук, проф. Шпагина Л. А.)

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В условиях специализированного отделения профессиональной патологии Городской клинической больницы № 2 г. Новосибирска проведено обследование 253 мужчин – работников крупного авиастроительного предприятия, которое включало: общий анализ крови, мочи, биохимические исследования, оценку углеводного, липидного обмена, функции почек, офтальмоскопию, электрокардиографию, эхокардиографию, суточное мониторирование АД, ультразвуковую доплерографию периферических сосудов, оценку вибрационной чувствительности, альгезиометрию, термометрию, динамометрию, аудиометрию. Учитывались факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний (семейный анамнез, курение, ожирение).

Диагноз вибрационной болезни (ВБ) верифицирован с учетом санитарно-гигиенической характеристики условий труда, стажа работы, результатов клинико-функционального обследования больных (классификация Артамоновой В. П., 1985 г.). Диагноз артериальной гипертензии (АГ) устанавливался в соответствии с последними клиническими рекомендациями (ВНОК, 2010; ЕОК 2013). Критериями включения являлись: наличие АГ I–II степени и II–III степени риска по критериям ЕОК (2013). Измерение АД осуществлялось двукратно с интервалом в одну неделю, без приема антигипертензивных препаратов.

Из исследования исключались больные сахарным диабетом 1 и 2 типа, последствиями нарушений мозгового кровообращения, нестабильной стенокардией, сердечной недостаточностью ФК II стадии и выше по NYHA (1964), дыхательной недостаточностью II–III ст., нарушениями ритма сердца по типу фибрилляции.

Все пациенты были разделены на группы: 1-я – 75 больных вибрационной болезнью I степени от воздействия локальной вибрации, средний возраст $47,0 \pm 2,4$ года, стаж работы с вибрацией составил $15,3 \pm 1,4$ года; 2-я – 69 больных ВБ I степени от воздействия локальной вибрации в сочетании с АГ I–II, риск 2–3, средний возраст $47,6 \pm 2,1$ года, стаж работы с вибрацией составил $15,7 \pm 1,2$ года; 3-я – 72 рабочих, не контактирующих с вибрационно-шумовым фактором, с диагнозом АГ I–II, риск 2–3, средний возраст $46,4 \pm 2,8$ года. Контроль — 37 человек, работающих на том же предприятии вне контакта с вибрацией, средний возраст $47,5 \pm 2,2$ года.

Все пациенты дали согласие на участие в исследовании в соответствии с международными этическими требованиями ВОЗ (Женева, 1993). Форма информированного согласия рассмотрена и одобрена на заседании локального этического комитета.

Из общего числа осмотренных с ВБ полностью прекратили контакт с вибрацией и были трудоустроены на том же предприятии – 126 человек (87,5 %); продолжали контактировать – 18 человек (12,5 %). Все больные ВБ были обследованы на момент первичной диагностики профессионального заболевания или в послеконтактном периоде, который варьировал от 1 до 3 лет и составлял $2,42 \pm 0,12$ года. Основным клиническим проявлением у обследованных был периферический ангиодистонический синдром (100 %), в сочетании с вегетативно-сенсорной полинейропатией (32,4 %).

Санитарно-гигиеническая характеристика условий труда.

Гигиенический анализ условий труда основных профессиональных групп проведен согласно Р.2.2.2006-05 «Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда», по санитарно-гигиеническим характеристикам условий труда работника, представленных работодателем.

Комплекс основных неблагоприятных факторов, действующих на рабочих, включал в себя воздействие вибрации, статическое мышечное напряжение, неудобное и вынужденное положение тела, производственный шум, неблагоприятный микроклимат.

В процессе клепально-сборочных работ используются различные виброинструменты: клепальные молотки КМП 31, 57 КМП-5, КМП-21,

шлифмашинки ИП-2009, бормашина с цангой 105-714. Время экспозиции локальной вибрации в течение рабочей смены у сборщиков-клепальщиков и слесарей-сборщиков авиационных приборов составляло от 54,2 до 60 % рабочего времени. Резонансной частотой при работе с клепальным молотком являлись частоты 16, 63, 125 и 250 Гц, в качестве базисной зарегистрирована частота октавной полосы 31,5 Гц. Уровни локальной вибрации на рабочих местах составили: шлифмашинка ИП 2009 по осям: x – 125 дБ; y – 120 дБ; z – 128 дБ (ПДУ 112 дБ), превышение на 13 дБ по оси x, превышение на 8 дБ по оси y, превышение на 16 дБ по оси z. Клепальные молотки 57 КМП-5: по осям: x – 120 дБ; y – 118 дБ; z – 122 дБ (ПДУ 112 дБ), превышение на 8 дБ по оси x, превышение на 6 дБ по оси y, превышение на 10 дБ по оси z.

Вибрационные параметры ручных виброинструментов, используемых сборщиками-клепальщиками и слесарями-сборщиками летательных аппаратов, характеризовались превышением предельно допустимых скорректированных уровней виброскорости на 8–16 дБ в октавных полосах со среднегеометрическими частотами 16, 63, и 125 Гц, особенно при выполнении работ в вынужденной позе. Время экспозиции локальной вибрации в течение рабочей смены составляло 54,2 %.

Таким образом, у обследованных больных основным вредным производственным фактором является воздействие локальной вибрации, превышающее предельно допустимые уровни виброскорости на 8–16 дБ при времени экспозиции до 60 %.

Методы исследования. Суточное мониторирование артериального давления проводилось с использованием портативных мониторов системы АВРМ-02 (Венгрия).

Ультразвуковая доплерография лучевых артерий (ЛА) проведена на аппарате LOGIC 400 (США) методом двухмерного сканирования с помощью линейного датчика 7,5 МГц в режиме реального времени.

Лазерная доплеровская флоуметрия выполнялась на лазерном анализаторе скорости поверхностного капиллярного кровотока (ЛАКК-01) на ладонной поверхности дистальных участков 3–4 пальцев кисти – в области контакта с вибрацией, в состоянии полного физического покоя при положении лежа на спине.

Радиоиммунный метод определения эндотелина-1 в сыворотке крови проводился с помощью стандартных наборов компании «Phoenix Pharmaceuticals Inc.», RIA 1217 (ЛКБ, Швеция).

Исследование системного гемостаза включало изучение спонтанной агрегации тромбоцитов в крови; определение агрегационной активности тромбоцитов на агрегометрах (лазерный анализатор микрочастиц «ЛАСКА-Био», НПФ «Люмекс», Санкт-Петербург (Россия), Chrono Log (USA) под действием индукторов агрегации — АДФ, адреналина, тромбина, растворимого фибрина — фибрин-мономеров, коллагена, ристомидина, определение фактора Виллебранда в плазме крови (Момот А. П., 2006).

Специальные методы исследования ранних маркеров эндотелиальной дисфункции и гемостаза. Содержание в сыворотке крови α -2-макроглобулина оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа «сэндвич»-типа на иммуноферментном анализаторе «Expert Plus» фирмы «ASYSHITECH» (Австрия). Для исследования содержания в сыворотке крови фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующего фактора роста β 1, фибронектина, тромбоспондина 1, тромбомодулина, тромбоцитарного фактора роста ВВ использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа «сэндвич»-типа с помощью ИФА-наборов: фактор роста эндотелия сосудов VEGF – ИФА – БЕСТ (Россия); тромбоцитарный фактор роста ВВ (PDGF-BB) (RnD Systems, США); трансформирующий фактор роста β 1 (TGF- β 1) (Bender MedSystems, Австрия); тромбомодулин (USCN Life Science, США); тромбоспондин-1 (RnD Systems, Германия); фибронектин (Cusabio BIOTECH). Молекулы адгезии и маркеры оксида азота оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа «сэндвич»-типа на анализаторе «Expert Plus» (ASYSHITECH, Австрия) с использованием ИФА наборов: sP-селектин, (BenderMedSystems, Австрия); BenderMedSystems sVCAM-1 (Австрия), BenderMedSystems sPECAM-1 (Австрия); iNOS исследовали ИФА-наборами NitricOxideSynthase 2, Inducible (NOS2).

Методы генотипирования. Выделение ДНК проводили с помощью фенол-хлороформной экстракции (Маниатис Т., Фрич Э. и Сэмбрук Дж., 1984). Определение полиморфных вариантов генов TGF- β и PAI-1 проводили методом выявления однонуклеотидных замен в режиме реального времени с

использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Определение полиморфных вариантов генов eNOS и END1 проводили методом ПДРФ-анализа. Определение полиморфных вариантов гена VEGF проводили методом аллель-специфичной амплификации в режиме Real-time с использованием красителя SYBR Green I для индукции флюоресценции. В работе были использованы реактивы: Tween 20 («Serva», USA), SDS, Tris-base (ICN, USA), акриламид (ICN, USA), N, N-метилен бисакриламид (ICN, USA), ПСА (Sigma), ТЭМЕД (Reanal). Ферменты: Taq-полимераза (ИХБФМ), лизоцим (Serva), протеиназа К (Serva). Все остальные реактивы: KCl, MgCl₂, (NH₄)₂SO₄, ЭДТА, NaCl, NaAc, NaOH, HCl были отечественного производства. Дезоксинуклеотидтрифосфаты (dNTP) и олигонуклеотидные праймеры были синтезированы в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск).

Методы статистической обработки данных. Для проведения статистической обработки фактического материала использовали статистический пакет Statistica 6.0 (2000). Проверку на нормальность распределения признаков проводили с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. С помощью метода вариационной статистики определялась средняя арифметическая (M), ее ошибка ($\pm m$), критерий Стьюдента (t) при различных уровнях значимости (p). Достоверными считались результаты при $p < 0,05$. Анализ данных проводился с помощью статистического пакета программ SPSS 15,0. Статистическое сравнение средних значений между двумя параллельными группами проводилось с помощью двустороннего критерия Стьюдента (для нормального распределения признака). Если распределение изучаемых выборок отличалось от нормального, применяли Т-критерий Вилкоксона. Статистическая значимость качественных показателей проверялась с помощью критерия Мак Немара для дихотомических переменных. Вероятность ошибки I рода (двусторонний уровень значимости) устанавливалась на уровне 5 %. Корреляционный анализ был проведен с помощью определения коэффициента корреляции по Пирсону. Для анализа взаимосвязи двух и более признаков применялся корреляционный анализ по Спирмену: рассчитывался коэффициент линейной корреляции (r) и его достоверность, приняты коэффициенты корреляции выше табличных при

уровне значимости $p < 0,05$. Наличие высокой и средней корреляционной взаимосвязи считали при r от 0,3 до 1,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Маркеры эндотелиальной дисфункции и системного гемостаза при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией. Согласно результатам исследования, показатели маркеров эндотелиальной дисфункции имели значимые отличия от контрольных цифр (таблица 1).

Таблица 1 – Функциональное состояние эндотелия у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией

Показатели	Контроль	Артериальная гипертензия	Вибрационная болезнь	Вибрационная болезнь + Артериальная гипертензия
Трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- β), нг/мл	$29,8 \pm 4,7$	$37,4 \pm 5,2^*$	$46,9 \pm 6,4^*$	$53,7 \pm 6,9^{**}$
Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), пг/мл	$49,6 \pm 6,9$	$132,4 \pm 11,3^*$	$175,9 \pm 13,7^*$	$197,6 \pm 12,6^{**}$
Индукцибельная синтаза оксида азота (iNOS), нг/мл	$0,321 \pm 0,09$	$0,264 \pm 0,07$	$0,128 \pm 0,08^{**}$	$0,082 \pm 0,09^{**}$
Эндотелин-1, мкг/мл	$5,3 \pm 0,1$	$7,9 \pm 0,3$	$7,9 \pm 0,2$	$13,2 \pm 0,2$
Примечания: 1. * критерий достоверности различий от контроля, $p < 0,05$; 2. ** критерий достоверности различий от группы АГ, $p < 0,05$.				

В группе больных ВБ в сочетании с АГ значения индуцибельной NO-синтазы (iNOS) оказались ниже контрольных цифр в 3,9 раза ($p < 0,05$), отмечалось нарастание уровня эндотелина-1, превышавшего контрольные значения в 2,5 раза ($p < 0,05$). Показатель трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- β) в плазме больных с сочетанной патологией значимо превышал не только нормативные цифры в 1,8 раза ($p < 0,05$), но и в 1,4 раза отличался в большую сторону от аналогичных данных в группе АГ ($p < 0,05$). Содержание в крови фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) у больных ВБ в сочетании с АГ превышало контрольные значения в 4,0 раза, тогда как при АГ и ВБ меньше: 2,7 и 3,5 раза соответственно ($p < 0,05$). Больные ВБ в сочетании с АГ имели

самые высокие значения молекул адгезии sPECAM-1 ($7,8 \text{ нг/мл} \pm 3,1 \text{ нг/мл}$), которые превышали данные контроля ($2,3 \text{ нг/мл} \pm 1,1 \text{ нг/мл}$) в 3,4 раза, $p < 0,05$), идентичные показатели у пациентов с ВБ ($6,5 \text{ нг/мл} \pm 2,6 \text{ нг/мл}$) – в 1,2 раза, с АГ ($5,9 \text{ нг/мл} \pm 2,3 \text{ нг/мл}$) – в 1,3 раза. Однонаправленная динамика прослеживалась в отношении адгезивной молекулы sVCAM-1. Наиболее высокий уровень sP-селектина также был зафиксирован у больных ВБ в сочетании с АГ ($79,5 \text{ нг/мл} \pm 10,3 \text{ нг/мл}$) – в 2,4 раза выше, чем в группе контроля ($32,6 \text{ нг/мл} \pm 4,1 \text{ нг/мл}$), и превышал аналогичные показатели в группах ВБ ($61,7 \text{ нг/мл} \pm 6,5 \text{ нг/мл}$) и АГ ($53,8 \text{ нг/мл} \pm 4,6 \text{ нг/мл}$) в 1,3 и 1,5 раза соответственно ($p < 0,05$).

При изучении полиморфизма гена NOS3 (e) эндотелиальной дисфункции было установлено, что в группе больных ВБ в сочетании с АГ характерные для лиц с нормальным АД аллели G/G регистрировались менее чем в половине случаев (47,8 %), в то время как полиморфный вариант T/T – в 1,6 раза чаще, чем в контроле (8,7 % по сравнению с 5,5 %, $p < 0,01$), и в 1,3 раза чаще, чем в группах АГ и ВБ – (6,9 % и 6,6 % соответственно, $p < 0,01$).

При изучении полиморфизма G5665T гена EDN1 эндотелина-1 rs5370 у больных ВБ в сочетании с АГ оказалось, что характерные для лиц с нормальным АД аллели G/G регистрировались в половине случаев, что отличалось в меньшую сторону от контрольных значений в 1,3 раза (55,1 % по сравнению с 70,3 %, $p < 0,01$), в то время как частота выявления полиморфного варианта T/T превышала как контрольные показатели – в 2,1 раза (5,8 % по сравнению с 2,7 %, $p < 0,01$), так и идентичные показатели в группе АГ и ВБ – 1,4 раза (4,1 % и 4,0 % соответственно, $p < 0,01$).

Однонаправленная динамика была зафиксирована при исследовании полиморфизма G-634C гена VEGF (фактора роста эндотелия сосудов) rs5370 у больных ВБ в сочетании с АГ: аллели C/C регистрировались в 1,2 раза реже, чем в контроле (50,7 % по сравнению с 62,2 %, $p < 0,01$), в то время как частота полиморфного варианта G/G превышала не только контрольные значения – в 2,7 раза (7,2 % по сравнению с 2,7 %, $p < 0,01$), но и идентичные показатели в группе АГ (4,2 %) и ВБ (4,0 %) – 1,7 и 1,8 раза соответственно ($p < 0,01$).

При множественном корреляционном анализе у больных ВБ в сочетании с АГ обнаружены взаимосвязи уровня молекул NOS3 (e) с генотипом

T/T NOS3(e) при обратной корреляции $-0,82041$ ($p < 0,01$); эндотелина-1 – с генотипом T/T EDN1 при прямой корреляции $0,72041$ ($p < 0,01$). При этом взаимосвязи уровня фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) с генотипом G/G VEGF показали достоверную прямую корреляцию $0,67041$ ($p < 0,01$), а трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- β) – с генотипом T/T TGF- β при достоверной прямой корреляции $0,65041$ ($p < 0,01$).

При изучении маркеров гемостазиологических нарушений оказалось, что в группе больных ВБ в сочетании с АГ уровень тромбоспондина превышал таковой в контрольной группе в 2,0 раза ($p < 0,05$), фибронектина — в 1,8 раза, β -тромбоглобулина (PDGF-BB) — в 1,5 раза, α -2-макроглобулина — в 1,4 раза ($p < 0,05$) (таблица 2).

Таблица 2 – Состояние маркеров гемостаза у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией

Показатели	Контроль	Вибрационная болезнь	Артериальная гипертензия	Вибрационная болезнь + Артериальная гипертензия
Тромбоспондин, нг/мл	$38,5 \pm 4,92$	$53,7 \pm 5,86^*$	$64,5 \pm 6,39^*$	$76,8 \pm 7,2^{**}$
Фибронектин, мкг/мл	$225,6 \pm 18,45$	$339,7 \pm 19,54$	$352,5 \pm 16,28^*$	$412,8 \pm 18,46^*$
Тромбоцитарный фактор роста ВБ (PDGF-BB), пг/мл	$196,9 \pm 25,54$	$249,5 \pm 29,42^*$	$279,4 \pm 32,7^*$	$302 \pm 36,8^{**}$
α -2-макроглобулин, г/л	$1,63 \pm 0,05$	$1,98 \pm 0,06^*$	$2,15 \pm 0,04^*$	$2,36 \pm 0,03^{**}$
Тромбомодулин, нг/мл	$0,96 \pm 0,09$	$1,39 \pm 0,07^*$	$1,69 \pm 0,08^*$	$1,98 \pm 0,07^{**}$
Фибринопептид А (FPA), нг/мл	$0,92 \pm 0,05$	$1,16 \pm 0,08$	$1,48 \pm 0,09^*$	$1,82 \pm 0,08^{**}$
Активность плазминогена, %	$91,5 \pm 2,2$	$86,4 \pm 2,4$	$81,6 \pm 2,3^*$	$73,4 \pm 2,2^{**}$
Примечания: 1. * критерий достоверности различий от контроля, $p < 0,05$; 2. ** критерий достоверности различий от группы АГ, $p < 0,05$.				

Кроме того, у больных ВБ в сочетании с АГ были зарегистрированы уровни тромбомодулина, превышающие контрольные значения в 2,1 раза ($p < 0,05$), фибринопептида А – в 2,0 раза ($p < 0,05$), отмечалось снижение

уровня плазминогена от контрольных цифр в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Результаты изучения полиморфизма гена PAI 1 системного гемостаза у больных ВБ в сочетании с АГ показали, что характерные для здоровых лиц аллели 5G/5G регистрировались менее чем в 1/3 случаев (18,8 %), тогда как частота выявления полиморфного варианта 4G/4G достоверно превышала контрольные значения в 1,5 раза (36,2 % по сравнению с 24,3 %, $p < 0,01$).

При исследовании полиморфизма гена трансформирующего фактора роста (TGF- β 1) установлено следующее: у больных ВБ в сочетании с АГ частота выявления аллелей С/С, характерных для здоровых лиц, отставала от контрольных цифр в 1,3 раза (39,1 % по сравнению с 51,4 %, $p < 0,01$), тогда как полиморфный вариант Т/Т, оказывающий влияние на количество синтезируемого белка, выявлялся чаще в 1,3 раза (14,5 % по сравнению с 10,8 %, $p < 0,01$).

Межсистемные взаимосвязи клинико-функциональных, эндотелиальных, гемостазиологических параметров с показателями ремоделирования периферических сосудов при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией. Ультразвуковая доплерография периферических артерий позволила выявить высокую частоту поражения в дистально-проксимальных отделах сосудистого русла верхних конечностей: в лучевых артериях ремоделирование регистрировалось чаще в 1,5 и 4,6 раза, в сравнении с больными изолированными вариантами ВБ и артериальной гипертензией соответственно ($p < 0,05$). При анализе ультразвуковых показателей структурного состояния сосудистой стенки и кровотока у больных ВБ в сочетании с АГ выявлено нарастание степени ремоделирования в сосудах, ухудшение кровотока в лучевых артериях, что свидетельствовало о «взаимном отягощении» (таблица 3): ТИМ/Д оказался выше контроля в 3,5 раза ($p < 0,05$), а сосудистое сопротивление по показателям индекса резистентности и пульсаторного превышало контрольные значения — в 1,5 и 1,4 раза соответственно ($p < 0,05$), чего не наблюдалось в группах изолированных АГ и ВБ.

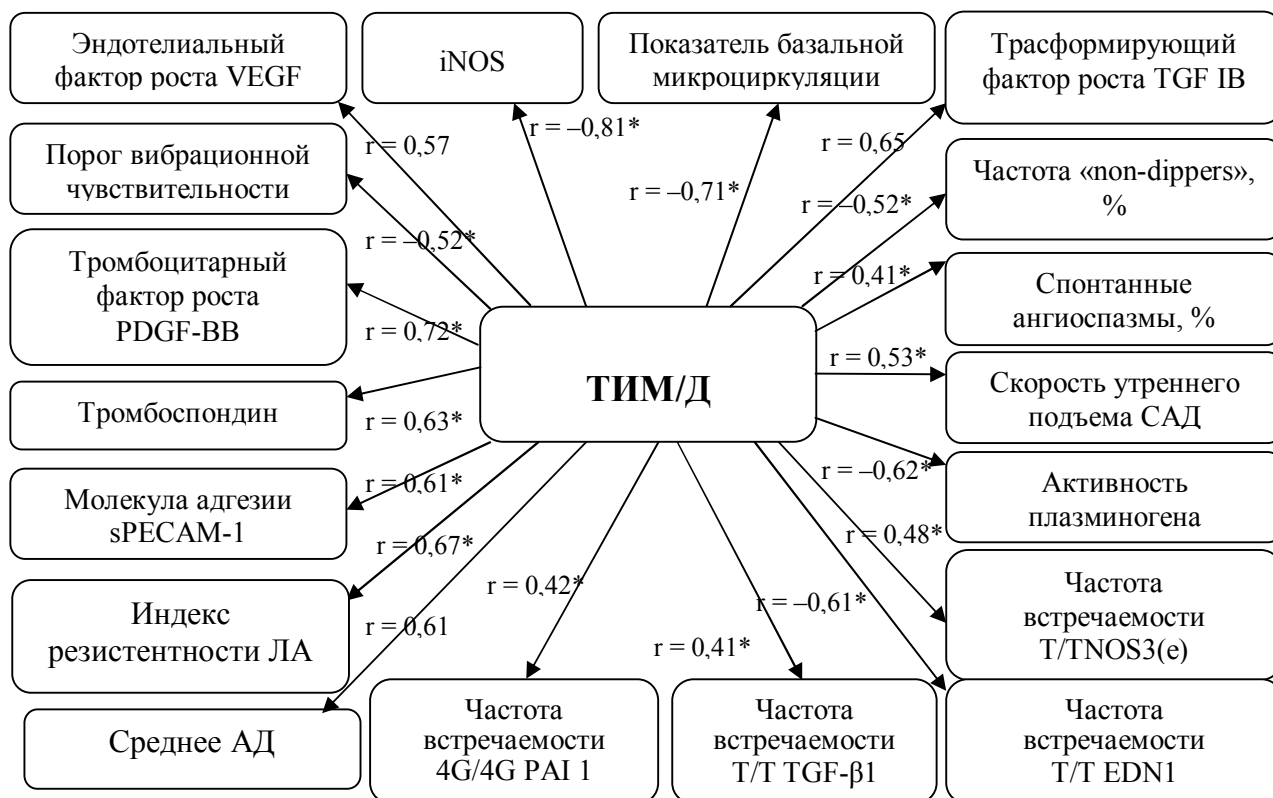
При изучении показателей лазерной доплеровской флуометрии у больных ВБ в сочетании с АГ были выявлены нарушения микроциркуляции, что проявлялось в достоверном снижении показателя базальной микроциркуляции от контрольных цифр в 1,6 раза ($3,25 \pm 0,17$ перф. ед. по сравнению с $5,10 \pm 0,09$ перф. ед., $p < 0,05$), значимым увеличением показателя медленных

вазомоторных колебаний (LF) – в 1,4 раза ($1,41 \pm 0,02$ перф. ед. по сравнению с $0,99 \pm 0,06$ перф. ед., $p < 0,05$). Подтверждением доли спастического компонента в нарушениях микроциркуляции при ВБ в сочетании с АГ явились результаты пробы с нагреванием, где различия с контрольными значениями составили 1,8 раза ($5,66 \pm 0,35$ по сравнению с $10,20 \pm 0,15$, $p < 0,05$).

Таблица 3 – Показатели комплекса «интима-медиа» и кровотока в лучевых артериях у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией

Группа	ТИМ, мм	ТИМ/Д	RI	PI
Артериальная гипертензия (n = 72)	$1,10 \pm 0,01^*$	$0,32 \pm 0,02^*$	$0,57 \pm 0,04$	$1,53 \pm 0,2$
Вибрационная болезнь (n = 75)	$1,20 \pm 0,01^*$	$0,49 \pm 0,01^*$	$0,59 \pm 0,02$	$1,42 \pm 0,01$
Вибрационная болезнь + Артериальная гипертензия (n = 69)	$1,52 \pm 0,01^*$	$0,87 \pm 0,02^*$	$0,82 \pm 0,02^{*\wedge}$	$1,89 \pm 0,02^*$
Контрольная (n = 35)	$0,65 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,03$	$0,56 \pm 0,004$	$1,39 \pm 0,02$
Примечания: 1. * критерий достоверности различий от показателей контроля, $p < 0,05$; 2. ^ критерий достоверности различий от показателей в группе АГ, $p < 0,05$.				

В условиях сочетания ВБ с артериальной гипертензией выявлены наиболее тесные взаимосвязи индекса ТИМ/Д с клинико-функциональными показателями (рисунок 1): частотой спонтанных ангиоспазмов, скоростью утреннего подъема САД, средним АД, индексом резистентности на лучевых артериях (RI), частотой выявления «non-dippers», фактором эндотелиального роста (VEGF), трансформирующим фактором роста $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), адгезивными молекулами (sPECAM-1), частоты аллелей полиморфных вариантов 4G/4G гена активатора плазминогена (PAI1), обратная связь с показателем микроциркуляции, вибрационной чувствительностью, уровнем индуцированного оксида азота (iNOS3), активностью плазминогена, частотой аллелей полиморфных вариантов гена эндотелин I EDN1 и полиморфных аллелей гена T/T NOS3(e).



Примечание: * различия достоверны при $p < 0,05$

Рисунок 1 – Корреляционные взаимосвязи (r) у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией

Межсистемный регрессионный анализ позволил разработать ранние диагностические критерии эндотелиально-сосудистых и гемостазиологических нарушений при ВБ в сочетании с АГ: показатели вибрационной чувствительности, среднее АД, частота спонтанных ангиоспазмов, скорость утреннего подъема САД, показатель базальной микроциркуляции, частота выявления «non-dippers», индекс резистентности в лучевых артериях, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), sP-селектин, уровень тромбоцитарного фактора роста ВВ (PDGF-BB), активность плазминогена, тромбоспондина, полиморфизм генов VEGF, PAI1 и TGF-b1.

ВЫВОДЫ

1. Эндотелиальная дисфункция при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией характеризуется экспрессией сигнальных молекул sPECAM-1, sVCAM-1 и sP-селектина, снижением индуцибельной NO-синтазы, нарастанием уровня эндотелина-1 в сочетании с усиленной выработкой фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и трансформирующего фактора роста (TGF-β1).

2. Эндотелиальные маркеры при сочетанных вариантах вибрационной болезни и артериальной гипертензии ассоциированы с частотой неблагоприятных полиморфных вариантов генов, в виде нарастания частоты аллелей T/T гена NOS3(e), вариантов аллелей T/T гена эндотелина-1 и аллелей G/G гена трансформирующего фактора роста (TGF- β 1).

3. Системный гемостаз у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией характеризуется нарастанием уровня тромбоспондина и тромбомодулина, тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB) в условиях снижения активности плазминогена, нарастанием концентрации α_2 -макроглобулина и продуктов распада фибрина в виде фибринопептида А (FPA) и фибронектина.

4. Показатели системного гемостаза при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией ассоциированы с повышенной частотой встречаемости неблагоприятных полиморфных вариантов генов гемостаза аллелей 4G/4G полиморфизма гена плазминогена типа 1 (PAI1).

5. В условиях сочетания вибрационной болезни и артериальной гипертензии выявлены наиболее тесные связи индекса ТИМ/Д с уровнем базальной микроциркуляции, вибрационной чувствительностью, частотой спонтанных ангиоспазмов, средним АД, скоростью утреннего подъема систолического артериального давления, индексом резистентности сосудистого сопротивления, частотой «non-dippers» по суточному профилю артериального давления с маркерами эндотелиальной дисфункции и гемостаза маркерами в ассоциации с частотой встречаемости аллелей полиморфных вариантов аллелей 4G/4G гена плазминогена (PAI1), аллелей T/T гена NOS3(e) и аллелей T/T гена трансформирующего фактора TGF- β 1.

6. У больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией определены ранние эндотелиально-гемостазиологические маркеры сосудистых нарушений: уровень индуцибельной NO-синтазы, эндотелиальный фактор роста сосудов(VEGF), трансформирующий фактор роста β 1 (TGF β 1), адгезивная молекула (sPECAM-1), уровень тромбоцитарного фактора роста BB (PDGF-BB), активность плазминогена, показатель тромбоспондина и фибринопептида А, полиморфизм генов плазминогена (PAI1), эндотелиальной NO-синтазы (NOS3(e), эндотелина-1 (EDN 1) и гена трансформирующего фактора T/T (TGF- β 1).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки степени выраженности эндотелиальной дисфункции у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией следует изучать уровень индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) и трансформирующего фактора роста TGF- β 1.

2. У больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией необходимо проводить генотипирование полиморфных аллелей 4G/4G (PAI1) и аллелей T/T гена трансформирующего фактора роста TGF- β 1 и аллелей T/T гена индуцибельной синтазы оксида азота NOS3(e) для оценки риска гемостазиологических осложнений.

3. Состояние эндотелиально-сосудистого гемостаза при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией следует оценивать по следующим маркерам: уровню тромбоспондина и тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB), концентрации фибринопептида А и активности плазминогена.

4. У больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией для оптимизации ранней диагностики эндотелиально-сосудистых и гемостазиологических нарушений необходимо исследовать: вибрационную чувствительность, скорость утреннего подъема систолического артериального давления и частоту выявления «non-dippers» показатель базальной микроциркуляции, индекс резистентности в лучевых артериях; в числе эндотелиальных параметров – уровень индуцибельной NO-синтазы, трансформирующий фактор роста TGF- β 1, молекулу адгезии (sPECAM-1), среди показателей гемостаза – уровень тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB), активность плазминогена и фибринопептида А, полиморфизм генов плазминогена (PAI1), NOS3(e) и гена трансформирующего фактора T/T TGF- β 1.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Оптимизация лечения больных с сосудистыми нарушениями в условиях сочетания вибрационной болезни с артериальной гипертензией / Л. А. Шпагина, О. Н. Герасименко, И. С. Шпагин, **З. К. Чачибая** // **Вестн. новых медицинских технологий.** – 2007. – Т. 14, № 2. – С. 185–187.

2. Шпагина Л. А. Системный гемостаз и сосудистые нарушения при сочетанных заболеваниях / Л. А. Шпагина, И. С. Шпагин, **З. К. Чачибая** // **Вестн.**

новых медицинских технологий. – 2007. – № 2. – С. 189–191.

3. Ремоделирование периферических сосудов при кардиоваскулярной патологии: вопросы патогенеза и лечения с использованием телмисартана / Л. А. Шпагина, О. Н. Герасименко, И. С. Шпагин, **З. К. Чачибая**, М. А. Зуева // **Медицина труда и промышленная экология.** – 2008. – № 11. – С. 4–10.

4. Ремоделирование периферических сосудов при артериальной гипертензии в условиях профессионального риска: вопросы патогенеза и лечение с применением телмисартана / Л. А. Шпагина, И. С. Шпагин, О. Н. Герасименко, М. А. Зуева, **З. К. Чачибая** // **Терапевтический архив.** – 2009. – Т. 81, № 12. – С. 19–23.

5. Шпагина Л. А. Лечение сосудистых и гемостазиологических нарушений при артериальной гипертензии в сочетании с вибрационной болезнью / Л. А. Шпагина, О. Н. Герасименко, **З. К. Чачибая** // **Медицина и образование в Сибири (электронный научный журнал).** – 2013. – № 3. – Режим доступа: /cozo/mos/article/text_full.php?id=984.

6. Герасименко О. Н. Особенности системного гемостаза при артериальной гипертензии в сочетании с вибрационной болезнью в зависимости от типа вибрации / О. Н. Герасименко, **З. К. Чачибая** // **Медицина труда и промышленная экология.** – 2014. – № 3. – С. 7–11.

7. Клеточно-молекулярные маркеры эндотелиальной дисфункции и системного гемостаза при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией / Л. А. Шпагина, О. Н. Герасименко, В. А. Дробышев, **З. К. Чачибая** // **Медицина и образование в Сибири (электронный научный журнал).** – 2014. – № 3. Режим доступа: cozo/mos/article/annotacy_full.php?id=1608.

8. Полиморфизм генов эндотелиальной дисфункции и системного гемостаза у больных вибрационной болезнью в сочетании с артериальной гипертензией / Л. А. Шпагина, О. Н. Герасименко, В. А. Дробышев, **З. К. Чачибая** // **Медицина и образование в Сибири.** – 2015. – № 1. Режим доступа: cozo/mos/article/annotacy_full.php?id=1658.

9. Диагностически значимые маркеры системного гемостаза при коморбидных состояниях в клинике внутренних болезней / **З. К. Чачибая**, И. С. Шпагин, О. Н. Герасименко, Л. А. Шпагина // **Материалы Всерос.**

науч.-практ. конф. с международным участием. – Белокуриха, Алтайский край, 2013. – С. 173–174.

10. Клинически-значимые нарушения гемостаза и периферического кровотока при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией: оптимизация лечения / **З. К. Чачибая**, Л. А. Шпагина, О. Н. Герасименко, Г. В. Кузнецова // Материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Белокуриха, Алтайский край, 2013. – С. 166–168.

11. **Чачибая З. К.** Системные механизмы сосудистых нарушений при вибрационной болезни в сочетании с артериальной гипертензией / **З. К. Чачибая**, Л. А. Шпагина, О. Н. Герасименко // Материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Белокуриха, Алтайский край, 2013. – С. 169–170.

12. Комплексные подходы к диагностике и коррекции сосудистых нарушений и гемостаза при артериальной гипертензии в сочетании с вибрационной болезнью / **З. К. Чачибая**, О. Н. Герасименко, Л. А. Паначева, Г. В. Кузнецова, М. И. Чепрасова // Здоровье работающих: демографические, медицинские и социальные аспекты: материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2014. – С. 17–18.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

EDN1	– ген эндотелина 1
eNOS	– ген эндотелиальной NO-синтазы
iNOS	– индуцибельная синтаза оксида азота
PAI1	– ген активатор плазминогена типа 1
sPECAM-1	– молекула адгезии тромбоцитов
sVCAM-1	– сосудистая молекула адгезии
TGF- β 1	– ген трансформирующего фактора роста β 1
VEGF	– ген фактора роста эндотелия сосудов
АГ	– артериальная гипертензия
ВБ	– вибрационная болезнь