

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ ПРИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ОБСТРУКТИВНОГО БРОНХИТА НЕПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ГЕНЕЗА

Иванов В.П.<sup>1,2</sup>, Трубникова Е.В.<sup>1,2</sup>, Никитенко Е.Г.<sup>1</sup>, Лебедев А.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия (305 041, Курск, ул. К. Маркса, 3), e-mail: nikitenkoef@gmail.com

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Курский государственный университет», Научно-исследовательская лаборатория «Генетика», Курск, Россия (305 000, Курск, ул. Радищева, 33)

В научной статье представлены результаты исследования функциональной активности рибосомальных генов (ФАРГ) у больных хроническим обструктивным бронхитом непрофессионального генеза. Для анализа были выбраны признаки, которые наиболее полно описывают клиническую картину данной патологии: возраст, индекс массы тела, содержание гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), фиксированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ 1), отношение объема форсированного выдоха к фиксированной жизненной емкости легких, жизненная емкость легких, объемная форсированная скорость выдоха 25% от ФЖЕЛ, 50% от ФЖЕЛ и 75% от ФЖЕЛ. В зависимости от общего уровня ФАРГ вся выборка индивидов с патологией была разделена на подгруппы с низкой (I), средней (II) и высокой (III) копийностью. Затем проведен сравнительный анализ между этими подгруппами, который показал наличие статистических различий в содержании эритроцитов в крови между низко- и среднекопийными индивидами, между средне- и высококопийными индивидами и по возрасту между II и III, I и III подгруппами. По остальным количественным признакам статистических различий выявлено не было.

Ключевые слова: хронический обструктивный бронхит, функциональная активность рибосомальных генов, низкокопийные, среднекопийные и высококопийные индивиды.

## FUNCTIONAL ACTIVITY OF RIBOSOMAL GENES IN CLINICAL MANIFESTATIONS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE BRONCHITIS UNPROFESSIONAL GENESIS

Ivanov V.P.<sup>1,2</sup>, Trubnikova E.V.<sup>1,2</sup>, Nikitenko E.G.<sup>1</sup>, Lebedev A.Y.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kursk state medical University, Kursk, Russia (305 041, Kursk, street Karl Marx 3), e-mail: nikitenkoef@gmail.com

<sup>2</sup>Kursk state University Research laboratory of Genetics, Kursk, Russia (305 000, Kursk, street Radischeva 33)

The article presents the results of a study of the functional activity of ribosomal genes (FARG) in patients with chronic obstructive bronchitis unprofessional genesis. For analysis, we chose the characteristics that best describe the clinical picture of this disease: age, body mass index, hemoglobin, erythrocytes, leukocytes, lymphocytes, erythrocyte sedimentation rate (ESR), the fixed vital capacity (FVC), forced expiratory volume in one second (FEV1), ratio of forced expiratory volume to a fixed lung capacity, vital capacity lung volume forced expiratory flow 25% of FVC, 50% of FVC and 75% of FVC. Depending on the general level of FARG for the entire sample of individuals with pathology was divided into subgroups with low- (I), medium- (II) and highcopy (III). Then a comparative analysis between these subgroups, which showed the presence of statistical differences in the content of red blood cells between low- and mediumcopy individuals, between medium- and highcopy individuals by age and between II and III, I and III subgroups. For other quantitative traits statistical difference was found.

Keywords: chronic obstructively bronchitis, functional activity of ribosomal gene, lowcopy, mediumcopy and highcopy individuals.

Хронический обструктивный бронхит — заболевание, характеризующееся хроническим диффузным неаллергическим воспалением бронхов, ведущее к прогрессирующему нарушению легочной вентиляции и проявляющееся кашлем, одышкой и выделением мокроты, не связанными с поражением других органов и систем [7]. Согласно статистических данных Всемирной организации здравоохранения, в 2012 году от ХОБЛ (в понятие которого, в первую очередь, входит хронический обструктивный бронхит) умерло

более 3 миллионов человек, что составило почти 6% всех случаев смерти в мире в этом году [1]. Новые случаи заболеваемости и смертности растут, но их показатели широко варьируются в различных странах, что связано, в первую очередь, с отсутствием унифицированных методик статистических расчетов. По неутешительному прогнозу экспертов ВОЗ, к 2020 г. хроническая обструктивная болезнь легких войдет в первую тройку заболеваний, лидирующих по показателям летальности [8].

В стандартах Европейского респираторного общества приводятся следующие факторы риска данного заболевания: внутренние (дефицит  $\alpha$ 1-антитрипсина, недоношенность, высокий IgE, бронхиальная гиперреактивность, генетическая предрасположенность) и внешние (курение, профессиональные вредности, загрязнение воздуха, низкий социально-экономический статус). Так как хронический обструктивный бронхит является мультифакториальным заболеванием [6], то необходимо учитывать как внешние, так и внутренние факторы. Однако 80% всех случаев данной бронхопатологии, как показывает литература, вызвано курением [4]. В табачном дыме содержатся высокие концентрации тяжелых металлов, реактивных диенов, активных форм кислорода и оксидов азота, которые, проникая внутрь организма, вызывают оксидативный стресс, т.е. способствуют выделению большого количества свободных радикалов в воздухоносных путях. Однако главным источником свободных радикалов являются нейтрофилы, количество которых увеличивается в десятки раз при курении. Гигантское скопление активированных нейтрофилов в капиллярной сети альвеол также приводит к оксидативному стрессу, под действием которого происходит разрушение структурных элементов альвеол (эластина и коллагена) [5]. В конечном итоге – разрушается альвеолярно-капиллярная мембрана и повышается растяжимость легких, что приводит к необратимой бронхообструкции. За синтез матриксных протеинов, влияющих на поддержание целостности альвеолярно-капиллярной мембраны, ответственен белок-синтезирующий аппарат клетки. Поэтому целью исследования явилось изучение функциональной активности рибосомальных генов при клиническом проявлении хронического обструктивного бронхита непрофессионального генеза.

### **Материал и методы исследования**

Материалом для исследования послужили лимфоциты 68 лиц, страдающих хроническим обструктивным бронхитом, жителей г. Курска и Курской области. Обработка культур лимфоцитов и приготовление из них препаратов метафазных хромосом осуществлялись с применением ряда последовательных методических процедур: колхицинизации, гипотонизации культур, фиксации клеток смесью метилового спирта с уксусной кислотой, нанесении клеточной взвеси на предметные стекла [2]. Фиксацию проводили на 72 часа культивирования, после чего окрашивали раствором нитрата серебра.

Активность рибосомальных генов оценивали визуально полуколичественным способом и выражали в условных единицах (усл. ед.).

Активность рибосомальных генов определяли по интенсивности окраски серебром ядрышкообразующих районов индивидуальных акроцентрических хромосом (13-15 D и 21, 22 G). У каждого индивида анализировали 20 метафазных пластинок. Визуальная оценка этого показателя производилась по 5-балльной системе, согласно критериям, предложенным Н.А. Ляпуновой и сотр. [3]. Общая функциональная активность рибосомальных генов складывалась из активности рибосомальных генов, расположенных в хромосомах группы D и группы G. Затем, в зависимости от общего уровня функциональной активности рибосомальных генов, все индивиды подразделялись на три подгруппы: низкокопийные (ФАРГ 15,00 – 17,99 усл.ед), среднекопийные (ФАРГ 18,00 – 20,99 усл.ед), высококопийные (ФАРГ 21,00 – 23,99 усл.ед).

Для описания количественных признаков проводилась проверка на нормальность распределения признака (критерии нормальности Колмогорова-Смирнова и Лиллиефорса и критерий Шапиро-Уилка W). При сравнении групп по количественному признаку использовали параметрический метод – t-критерий Стьюдента.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Подразделение функциональной активности рибосомальных генов на подгруппы и последующий анализ показали следующие результаты: наиболее распространенной для анализируемой выборки индивидов с хроническим обструктивным бронхитом непрофессионального генеза являлась функциональная активность рибосомальных генов, оцененная от 18 до 21 усл. ед., которая наблюдалась у 47,10% обследованных (n=32). Реже встречались высококопийные индивиды – 41,1% (n=28), а низкокопийные составили всего 11,8% (n=8).

В качестве количественных признаков анализировались следующие: возраст, индекс массы тела, содержание гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), фиксированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ 1), отношение объема форсированного выдоха к фиксированной жизненной емкости легких, жизненная емкость легких, объемная форсированная скорость выдоха 25% от ФЖЕЛ, 50% от ФЖЕЛ и 75% от ФЖЕЛ. В таблице 1 представлены показатели этих признаков для низкокопийных и среднекопийных индивидов и проведен сравнительный анализ между ними. Статистических различий между подгруппами не обнаружено, за исключением сравнения количественного содержания эритроцитов в крови (критерий t-Стьюдента = 2,35, критерий Фишера = 2,16).

**Таблица 1**

Сравнительная характеристика количественных признаков в подгруппах низкокопийных и среднекопийных индивидов

№	Признак	Низкокопийные индивиды (N=30)	Среднекопийные индивиды (N=59)	t	F
		X±Std.Dev.	X±Std.Dev.		
1	Возраст	63,70±6,67	59,10±6,42	0,82	1,08
2	Индекс массы тела	29,96±6,20	28,96±5,85	0,67	1,55
3	Гемоглобин	144,95±10,55	139,66±11,88	1,65	1,27
4	Эритроциты	4,53±0,19	4,37±0,29	<b>2,35</b>	<b>2,16</b>
5	Лейкоциты	6,13±1,32	6,20±1,94	0,15	2,16
6	Скорость оседания эритроцитов (СОЭ)	5,68±3,93	5,40±3,74	0,28	1,11
7	Лимфоциты	32,68±6,64	31,30±8,53	0,67	1,65
8	Фиксированная жизненная емкость легкого (ФЖЕЛ)	55,85±14,66	56,57±17,67	0,17	1,45
9	Объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ 1)	56,55±13,87	58,86±17,80	0,62	1,65
10	Объем форсированного выдоха к ФЖЕЛ (ОФВ1/ФЖЕЛ)	0,83±0,09	0,85±0,10	0,96	1,02
11	Жизненная емкость легких (ЖЕЛ)	59,73±11,18	61,67±16,80	0,57	2,26
12	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 25% ФЖЕЛ	77,67±48,14	82,00±38,92	0,37	1,52
13	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 50% ФЖЕЛ	55,00±26,94	53,97±21,28	0,17	1,60
14	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 75% ФЖЕЛ	51,87±17,80	55,07±24,34	0,55	1,87

Аналогичный анализ был проведен для подгрупп средне- и высококопийных индивидов. Выявлены статистические различия по количественному содержанию эритроцитов в крови (критерий t-Стьюдента = 2,62, критерий Фишера = 1,55) и возрасту (критерий t-Стьюдента = 2,13, критерий Фишера = 1,01) (таблица 2).

**Таблица 2**

Сравнительная характеристика количественных признаков в подгруппах среднекопийных и высококопийных индивидов

№	Признак	Среднекопийные индивиды (N=59)	Высококопийные индивиды (N=21)	t	F
		X±Std.Dev.	X±Std.Dev.		

1	Возраст	59,10±6,42	62,50±6,40	<b>2,13</b>	<b>1,01</b>
2	Индекс массы тела	28,96±5,85	30,79±4,98	1,37	1,38
3	Гемоглобин	139,66±11,88	144,95±9,68	1,79	1,51
4	Эритроциты	4,37±0,29	4,56±0,23	<b>2,62</b>	<b>1,55</b>
5	Лейкоциты	6,20±1,94	5,74±1,17	1,01	3,01
6	Скорость оседания эритроцитов (СОЭ)	5,40±3,74	7,38±6,84	1,54	3,34
7	Лимфоциты	31,30±8,53	33,47±7,47	1,01	1,30
8	Фиксированная жизненная емкость легкого (ФЖЕЛ)	56,57±17,67	54,29±17,26	0,49	1,05
9	Объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ 1)	58,86±17,80	52,27±16,51	1,51	1,16
10	Объем форсированного выдоха к ФЖЕЛ (ОФВ1/ФЖЕЛ)	0,85±0,10	0,82±0,12	1,20	1,43
11	Жизненная емкость легких (ЖЕЛ)	61,67±16,80	56,05±14,70	1,38	1,31
12	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 25% ФЖЕЛ	82,00±38,92	65,40±27,86	1,50	1,95
13	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 50% ФЖЕЛ	53,97±21,28	44,31±22,83	1,51	1,15
14	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 75% ФЖЕЛ	55,07±24,34	48,75±25,25	0,87	1,08

В результате сравнительного анализа количественных признаков низко- и высококопийных индивидов выявлены статистические различия по возрасту (критерий t-Стьюдента = 2,50, критерий Фишера = 1,08) (таблица 3).

**Таблица 3**

Сравнительная характеристика количественных признаков в подгруппах низкокопийных и высококопийных индивидов

№	Признак	Низкокопийные индивиды (N=30)	Высококопийные индивиды (N=21)	t	F
		X±Std.Dev.	X±Std.Dev.		
1	Возраст	63,70±6,67	62,50±6,40	<b>2,50</b>	<b>1,08</b>
2	Индекс массы тела	29,96±6,20	30,79±4,98	0,58	1,12
3	Гемоглобин	144,95±10,55	144,95±9,68	0,13	1,19
4	Эритроциты	4,53±0,19	4,56±0,23	0,43	1,39
5	Лейкоциты	6,13±1,32	5,74±1,17	1,04	1,40
6	Скорость оседания эритроцитов (СОЭ)	5,68±3,93	7,38±6,84	1,00	3,02

7	Лимфоциты	32,68±6,64	33,47±7,47	0,37	1,26
8	Фиксированная жизненная емкость легкого (ФЖЕЛ)	55,85±14,66	54,29±17,26	0,33	1,39
9	Объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ 1)	56,55±13,87	52,27±16,51	1,01	1,42
10	Объем форсированного выдоха к ФЖЕЛ (ОФВ1/ФЖЕЛ)	0,83±0,09	0,82±0,12	0,31	1,40
11	Жизненная емкость легких (ЖЕЛ)	59,73±11,18	56,05±14,70	1,03	1,73
12	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 25% ФЖЕЛ	77,67±48,14	65,40±27,86	0,88	2,99
13	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 50% ФЖЕЛ	55,00±26,94	44,31±22,83	1,29	1,39
14	Объемная форсированная скорость выдоха в интервале 75% ФЖЕЛ	51,87±17,80	48,75±25,25	0,45	2,01

### **Заключение**

Таким образом, установлено, что в выборке больных хроническим обструктивным бронхитом непрофессионального генеза чаще всего встречаются индивиды со средней копийностью рибосомальных генов (47,10%). Сравнительный анализ трех подгрупп показал статистические различия между низко- и среднекопийными индивидами по содержанию эритроцитов в крови (критерий t-Стьюдента = 2,35, критерий Фишера = 2,16); между средне- и высококопийными индивидами по возрасту (критерий t-Стьюдента = 2,13, критерий Фишера = 1,01) и содержанию эритроцитов в крови (критерий t-Стьюдента = 2,62, критерий Фишера = 1,55); между низко- и высококопийными индивидами по возрасту (критерий t-Стьюдента = 2,50, критерий Фишера = 1,08). По всем остальным рассматриваемым количественным признакам статистических различий в рамках данной выборки обнаружено не было.

### **Список литературы**

1. Болотских В.И., Черных Ю.Н., Цветикова Л.Н. Динамика показателей функции внешнего дыхания, насыщения гемоглобина кислородом и индекса ишемии у больных ХОБЛ с сопутствующей ИБС до и после лечения // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2014. – № 1. – С.43-48.

2. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2011 г.) // Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. – М.: Российское респираторное общество, 2012. — 80с.
3. Ляпунова Н.А., Вейко Н.Н., Цветкова Т.Г., Еголина Н.А., Кравец-Мандрон И.А., Мхитарова Е.В., Косякова Н.В. Ядрышкообразующие районы хромосом и рибосомные гены в геноме человека: от научных поисков к практике. В сб. «Современные методы диагностики наследственных болезней». – М., 2001. – С.12-23
4. Ракита Д.Д. Влияние курения на течение хронической обструктивной болезни легких: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Рязань, 2004. – 19 с.
5. Соодаева С.К. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе ХОБЛ // Пульмонология и аллергология. – 2002. – № 1. – С.24-25
6. Храмцов А.В., Иванов В.П., Бачинский О.Н., Трубникова Е.В., Стабровская Н.В. Белковый спектр клеточных мембран эритроцитов при бронхите непрофессионального генеза // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2011. – №3. – С. 154-158
7. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких. – М.: ЗАО «Издательство БИНОМ», 1999. – 512 с.
8. Mannino D.M., Buist A.S. Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future Trends // Lancet. – 2007. – Vol. 370. – P. 765–773

**Рецензенты:**

Сеин О.Б., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой терапии и акушерства ФГБОУ ВПО Курская сельскохозяйственная академия имени профессора И.И. Иванова, г. Курск;

Мосягин В.В., д.б.н., профессор кафедры физиологии и химии ФГБОУ ВПО Курская сельскохозяйственная академия имени профессора И.И. Иванова, г. Курск.