

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ (ХОБЛ)

Никитенко Е.Г.¹, Трубникова Е.В.^{1,2}, Лебедев А.Ю.^{1,2}, Иванов В.П.^{1,2}

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

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

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – мультифакториальное заболевание, для которого характерно необратимое ограничение воздушного потока в дыхательных путях. Это может быть связано как с воздействием окружающей среды, т.к. большинство больных ХОБЛ – это курильщики и люди, постоянно подвергающиеся воздействию поллютантов, так и с генетической предрасположенностью. В рамках настоящей работы проведен сравнительный анализ функциональной активности рибосомных генов (FARG) у больных ХОБЛ и группы контроля. Выявлены статистически значимые различия между подгруппами лиц с низкой, средней и высокой степенью копийности рибосомных генов среди индивидов группы контроля и больных ХОБЛ по следующим количественным признакам: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), жизненная емкость легких (ЖЕЛ), максимальная объемная скорость воздуха на уровне выдоха 25 % форсированной жизненной емкости легкого (МОС25), на уровне выдоха 50 % ФЖЕЛ (МОС50), на уровне выдоха 75 % ФЖЕЛ (МОС75). Полученные результаты позволяют говорить о возможной роли рибосомных генов в патогенезе ХОБЛ.

Ключевые слова: ХОБЛ, функциональная активность рибосомных генов, активные копии рибосомных генов.

FUNCTIONAL ACTIVITY OF RIBOSOMAL GENES IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE (COPD)

Nikitenko E.G.¹, Trubnikova E.V.^{1,2}, Lebedev A.Y.^{1,2}, Ivanov V.P.^{1,2}

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

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

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a multifactorial disease, which is characterized by irreversible airflow limitation in the airway. This may be due to the influence of the environment, because most patients with COPD is smokers and people who are constantly exposed to pollutants; and with a genetic predisposition. In this paper, a comparative analysis of the functional activity of ribosomal genes (FARG) in COPD patients and control group. Statistically significant differences between the subgroups of patients with low, medium and high copy of ribosomal genes among individuals of the control group and patients with COPD in the following quantitative criteria: forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in one second (FEV1), vital capacity (VC), the maximum volume of air at the rate of 25 % expiratory forced vital capacity (MVR25) at exhalation 50% FVC (MVR 50) at exhalation 75 % FVC (MVR75). The results suggest a possible role of ribosomal genes in the pathogenesis of COPD.

Keywords: COPD, the functional activity of ribosomal genes, active copies of ribosomal genes.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – это патология, для которой характерно устойчивое нарушение движения воздушного потока, связанное с воспалительным ответом легких на патогенные частицы или газы [3]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в России около 1 млн страдающих этим заболеванием, однако есть основания предполагать, что их гораздо больше. В связи с тем, что ХОБЛ диагностируется в основном на поздних стадиях болезни, часто цитируемые статистические данные о том, что только у 15–20 % больных развивается клинически значимая ХОБЛ, являются заблуждением и серьезно занижают распространенность ХОБЛ [1]. Долгое время

пациенты с начальными (I–II) стадиями ХОБЛ считали себя здоровыми людьми, а такие симптомы, как кашель, отделение мокроты и появление одышки при физической нагрузке, объяснялись какими-то другими причинами. Становится все более ясным, что ХОБЛ может протекать десятилетиями, прежде чем появятся симптомы болезни [11].

В настоящее время выявлены факторы, влияющие на развитие патологии: активное и пассивное курение, гиперактивность дыхательных путей, сопутствующие заболевания (бронхиальная астма), профессиональное и экологическое воздействие поллютантов, перинатальная патология и детские болезни, рецидивирующая бронхолегочная инфекция, питание, пол, генетическая компонента [9].

Большинство пациентов с ХОБЛ – курильщики и люди, постоянно взаимодействующие с веществами-поллютантами. Это связано с тем, что вдыхаемый табачный дым или пыль содержат высокие концентрации реактивных диенов, активных форм кислорода и оксидов азота (свободных радикалов), которые в свою очередь инактивируют ингибиторы протеаз [2] (α_1 -антитрипсин). Повышается активность эластазы, которая разрушает эластин, белки экстрацеллюлярной мембраны и сурфактанта, что является началом возникновения бронхообструкции [8]. Таким образом, человек, взаимодействующий с табачным дымом, газами и пылевыми частицами постоянно подвергается оксидативному стрессу, который в совокупности с воспалительными процессами ведут к образованию ХОБЛ [10]

Что касается генетической компоненты, то известны гены, отвечающие за нарушение функции легких [3], однако в литературе нет данных о состоянии функциональной активности рибосомных генов (ФАРГ) у больных ХОБЛ [6]. Рибосомные гены контролируют уровень биосинтеза белка в клетке. Интенсивность синтеза белка влияет на пролиферацию клеток, которая определяет скорость роста тканей [5]. Возникновение ХОБЛ непосредственно связано с белок-синтезирующим аппаратом. В связи с этим недостаточность изучения вовлеченности рибосомных генов в патогенез ХОБЛ определило проведение настоящего исследования.

Его целью явилось изучение состояния функциональной активности рибосомных генов при проявлении некоторых количественных признаков у больных хронической обструктивной болезнью легких и у практически здоровых жителей города Курска.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили лимфоциты 42 практически здоровых индивидов г. Курска и Курской области и 110 лиц, страдающих хронической обструктивной болезнью легких. Обработка культур лимфоцитов и приготовление из них препаратов метафазных хромосом осуществлялись с применением ряда последовательных методических

процедур: обработка колхицином и гипотоническим раствором культур, фиксации клеток смесью метилового спирта с уксусной кислотой, нанесении клеточной взвеси на предметные стекла [3]. Фиксацию проводили на 72 часе культивирования, после чего полученный препарат окрашивали раствором нитрата серебра.

Активность рибосомных генов оценивали визуально (в баллах) по величине образовавшегося преципитата ядрышкообразующих районов индивидуальных акроцентрических хромосом (13-15 D и 21, 22 G). Для каждого индивидуума анализировали 20 метафазных пластинок. Визуальная оценка этого показателя производилась по 5-балльной системе, согласно критериям, предложенным Н. А. Ляпуновой и сотр. [7]: «0» баллов – окраска отсутствует; 1 балл – окраска слабая (зерно серебра много меньше ширины хроматиды); 2 балла – средняя окраска (зерно серебра примерно соответствует ширине хроматиды); 3 балла – интенсивная окраска (зерна серебра больше ширины хроматиды); 4 балла – высокоинтенсивная окраска (зерна серебра, выпавшие на каждой хроматиде, значительно шире ее и слипаются, вместе образуя общий конгломерат). Общая функциональная активность рибосомных генов складывалась из активности рибосомных генов, расположенных в хромосомах группы D и группы G. Затем в зависимости от общего уровня функциональной активности рибосомных генов все индивиды условно подразделялись на три группы: 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 рибосомных генов на подгруппы и последующий анализ показали следующие результаты: наиболее распространенной для анализируемой выборки здоровых индивидов являлась функциональная активность рибосомных генов, оцененная от 18 до 21 усл. ед., которая наблюдалась у 36,70 % обследованных (n=22). Низко- и высококопийные индивиды контрольной группы были распределены практически поровну (33,30 % (n=20) и 30,00 % (n=18) соответственно). Среди больных профессиональным бронхитом также чаще всего встречались среднекопийные индивиды – 53,60 % (n=58), 19,10 % – высококопийных индивидов (n=22), низкокопийных индивидов – 27,30 % (n=30). При проверке на нормальное распределение признака

(копийности РГ) между группой здоровых индивидов и больных профессиональным бронхитом статистических различий выявлено не было ($p > 0,05$).

В качестве количественных признаков рассматривались: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), отношение объема форсированного выдоха к жизненной емкости легких (ОФВ1/ЖЕЛ), жизненная емкость легких (ЖЕЛ), максимальная объемная скорость воздуха на уровне выдоха 25 % форсированной жизненной емкости легкого (МОС25), на уровне выдоха 50 % ФЖЕЛ (МОС50), на уровне выдоха 75 % ФЖЕЛ (МОС75). Данные показатели были получены в результате диагностики функции внешнего дыхания и играют ключевую роль при постановке диагноза ХОБЛ.

В таблицах 1, 2 и 3 представлены результаты сравнительного анализа низко-, средне- и высококопийных индивидов рассматриваемых групп (контроля и больных ХОБЛ). В каждой подгруппе выявлены статистически значимые различия практически по всем рассматриваемым клиническим признакам, что может косвенно указывать о вовлеченности рибосомных генов в развитие хронической обструктивной болезни легких

Таблица 1

Сравнительная характеристика количественных клинических признаков среди лиц с низкой степенью копийности рибосомных генов

№	Признак	ХОБЛ (I)		Группа контроля (II)		I-II t (p)
		N	X±Std.Dev	N	X±Std.Dev	
1	ФЖЕЛ	25	55,85±14,66	18	99,13±12,14	10,24(0,00)
2	ОФВ1	30	56,55±13,87	18	103,12±10,42	12,30(0,00)
3	ОФВ1/ЖЕЛ	23	0,83±0,10	18	0,86±0,05	1,20(0,24)
4	ЖЕЛ	30	59,73±11,18	18	99,68±10,73	12,17(0,00)
5	МОС25	21	77,67±48,14	18	103,55±28,00	2,01(0,05)
6	МОС50	23	55,00±26,94	18	112,02±21,81	7,30(0,00)
7	МОС75	23	51,87±17,80	18	107,00±29,94	7,34(0,00)

Таблица 2

Сравнительная характеристика количественных клинических признаков среди лиц со средней степенью копийности рибосомных генов

№	Признак	ХОБЛ (I)		Группа контроля (II)		I-III t (p)
		N	X±Std.Dev	N	X±Std.Dev	
1	ФЖЕЛ	44	56,57±17,67	13	95,88±8,46	7,73 (0,00)
2	ОФВ1	58	58,86±17,80	13	99,31±11,09	7,83 (0,00)
3	ОФВ1/ЖЕЛ	43	0,86±0,10	12	0,88±0,06	0,68 (0,50)
4	ЖЕЛ	58	61,67±16,80	12	98,63±11,96	7,23 (0,00)
5	МОС25	37	82,00±38,92	12	101,47±15,81	1,68 (0,10)
6	МОС50	41	53,98±21,28	12	96,46±33,63	5,29 (0,00)
7	МОС75	41	55,07±24,35	12	100,89±25,75	5,66 (0,00)

Таблица 3

Сравнительная характеристика количественных клинических признаков среди лиц с высокой степенью копийности рибосомных генов

№	Признак	Профессиональный бронхит (I)		Группа контроля (III)		I-III t (p)
		N	X±Std.Dev	N	X±Std.Dev	
1	ФЖЕЛ	21	54,29±17,26	7	96,00±11,24	5,95 (0,00)
2	ОФВ1	22	52,27±16,51	9	96,00±13,95	6,97 (0,00)
3	ОФВ1/ЖЕЛ	18	0,82±0,12	6	0,86±0,10	0,78 (0,44)
4	ЖЕЛ	22	56,05±14,70	9	92,00±8,93	6,80 (0,00)
5	МОС25	15	65,40±27,86	6	106,85±25,69	3,14 (0,01)
6	МОС50	16	44,31±22,83	6	115,50±33,57	5,73 (0,00)
7	МОС75	16	48,75±25,25	6	98,50±26,81	4,05 (0,00)

Заключение

Таким образом, полученные результаты показывают, что функциональная активность рибосомных генов вовлечена в формирование хронической обструктивной болезни легких у человека. Можно предполагать, что количество копий активных рибосомных генов непосредственно связано с работой антипротеазной системы защиты организма, которая ингибирует выработку нейтрофильной эластазы. Именно избыточное количество этого типа протеаз способно приводить к развитию различных форм патологии, в частности бронхолегочной системы.

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. Белых А. Е., Бобынцев И. И., Крюков А. А., Дудка В. Т. Влияние дельта-сон индуцирующего пептида на функциональное состояние гепатоцитов крыс при эмоционально-болевым стрессе // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2015. – Т. 101. – № 6. – С. 700-707.
3. 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. – 80 с.
4. Залетаева Т. А., Кулешов Н. П., Залетаев Д. В., Барцева О. Б. Современные методы хромосомного анализа в клинико-цитогенетических исследованиях. – М.: Медицина, 1994. – 68 с.

5. Иванов В. П., Трубникова Е. В., Колчанова И. О., Бушуева О. Ю. Особенности клинических проявлений мультифакториальных заболеваний (язвенной болезни, миомы матки, злокачественных лимфом) и модифицирующие эффекты рибосомных генов. – Курск: ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2008. – 420 с.
6. Иванов В. П., Трубникова Е. В., Никитенко Е. Г., Лебедев А. Ю. Функциональная активность рибосомальных генов при клинических проявлениях хронического обструктивного бронхита непрофессионального генеза // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1.
7. 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 // «Современные методы диагностики наследственных болезней». – М., 2001. – С. 12-23.
8. Соодаева С. К. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе ХОБЛ // Пульмонология и аллергология. – 2002. – № 1. – С. 24-25.
9. Стандарты по диагностике и лечению больных хронической обструктивной болезнью легких (ATS/ERS, пересмотр 2004 г.) // Пер. с англ., под ред. А.Г. Чучалина. – М.: Издательство «Атмосфера», 2005. – 96 с.
10. Чучалин А. Г. Система оксиданты и антиоксиданты и пути коррекции // Пульмонология. – 2004. – № 4. – С. 111-115
11. Anto J. M., Vermeire P., Vestbo J., Sunyer J. Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease // EurRespir. – J. 2001. – № 17. – P. 982-994.

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;

Фурман Ю. В., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой истории, теории и технологии социальной работы ФГБОУ ВПО Российский государственный социальный университет, филиал РГСУ в г. Курск.