

КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ АЭРОЗОЛЕЙ С НЕНАМЕРЕННЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ МЕТАЛЛОВ ИЛИ КРЕМНИЯ

Шпагина Л.А.¹, Зенкова М.А.², Шпагин И.С.¹, Логашенко Е.Б.², Аникина Е.В.¹, Котова О.С.¹, Суровенко Т.Н.³, Кондюрина Е.Г.¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, e-mail: mkb-2@yandex.ru;

²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, e-mail: marzen@niboch.nsc.ru;

³ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Владивосток, e-mail: tatiana.surovenko@gmail.com

Актуальность изучения фенотипов и поиска биомаркеров хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) от воздействия аэрозолей с наночастицами обусловлена необходимостью прогнозирования клинически значимых исходов заболевания. Проведено одноцентровое одномоментное исследование больных ХОБЛ (спирографический критерий GOLD 2011–2023), работавших в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами металлов (n=36), кремния (n=34), или курильщиков табака (n=70). Контрольная группа – условно здоровые лица (n=70). Всем участникам выполнены комплексное исследование функции внешнего дыхания, эхокардиография, определены субпопуляции моноцитов крови методом проточной цитофлуориметрии, концентрации белков воспаления и фиброобразования крови методом твердофазного иммуноферментного метода. Взаимосвязи устанавливали многофакторной линейной регрессией. Массовая концентрация наночастиц металлов была связана с долей классических CD14+CD16- моноцитов (B=1,6), концентрациями интерлейкина-5 (B=1,3) и матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9) (B=1,1), объемом форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), функциональной остаточной емкостью (ФОЕ). Массовая концентрация наночастиц кремния была ассоциирована с долей неклассических CD14^{Dim}CD16+ моноцитов (B=1,2), N-терминальным пропептидом проколлагена типа III (P1NP) (B=2,2), растворимой сосудистой клеточной молекулой адгезии-1 (sVCAM-1) (B=1,7), диффузионной способностью легких (ДСЛс), средним давлением в легочной артерии (СДЛА). Уровень MMP-9 был также связан со среднесменной концентрацией марганца. Доля CD14+CD16- моноцитов 90,1–97,4% и сывороточная концентрация интерлейкина-5 2,1–3,1 пг/мл отличают ХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами металлов (чувствительность 88,9%, специфичность 81,7%, p=0,001). При доле CD14^{Dim}CD16+ моноцитов 16,1–22,8%, концентрации P1NP 83,8–102,6 пг/мл, sVCAM-1 39,9–56,9 пг/мл ХОБЛ сформировалась в результате воздействия аэрозолей с наночастицами кремния (чувствительность 91,2%, специфичность 79,2%, p=0,001). В условиях воздействия аэрозолей с наночастицами металлов или кремния развиваются отдельные фенотипы ХОБЛ. Перспективные маркеры ХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами металлов – «классические» моноциты и интерлейкин 5, кремния – «неклассические» моноциты, P1NP, sVCAM крови.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, наночастицы, воспаление, субпопуляции моноцитов, молекулярные маркеры.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-74-30011).

CELLULAR AND MOLECULAR MARKERS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE IN CONDITIONS OF EXPOSURE OF INDUSTRIAL AEROSOLS CONTAINING UNINTENTIONAL NANOPARTICLES OF METALS OR SILICA

Shpagina L.A.¹, Zenkova M.A.², Shpagin I.S.¹, Logashenko E.B.², Anikina E.V.¹, Kotova O.S.¹, Surovenko T.N.³, Kondyurina E.G.¹

¹FSBEI HE Novosibirsk State Medical University MOH Russia, Novosibirsk, e-mail: mkb-2@yandex.ru;

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SB RAS, Novosibirsk, e-mail: marzen@niboch.nsc.ru;

³FSBEI HE TSMU MOH Russia, Vladivostok, e-mail: tatiana.surovenko@gmail.com

Investigation of chronic obstructive pulmonary disease due to aerosols containing unintentional nanoparticles phenotypes and search of biomarkers is an issue of concern because of unmet needs in prediction of outcomes. It was a single center cross sectional study of COPD patients (GOLD criterion), worked in conditions of exposure of aerosols with metal (n=36), silica (n=34) nanoparticles or tobacco smokers (n=70). Control group – healthy people (n=70). Pulmonary function tests, echocardiography, blood monocytes subpopulations measurement by flow cytometry, serum inflammation and fibrotic proteins measurement by ELISA were done in all participants. Relationships were explored by multiple linear regression. Mass concentration of metal nanoparticles was associated with proportion of classical CD14+CD16- monocytes (B=1.6), serum interleukine-5 (B=1.3), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) (B=1.1), FEV1, FRC; of silica one with proportion of non-classical CD14_{Dim}CD16+ monocytes (B=1.2), amino-terminal propeptide of type III procollagen (PIINP) (B=2.2), soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) (B=1.7), DLco, mPAP. Levels of MMP-9 was additionally associated with manganese concentrations. Proportion of CD14+CD16- monocytes 90,1–97,4% and serum interleukine-5 levels 2,1–3,1pg/ml differentiated COPD due to aerosols containing metal nanoparticles (sensitivity was 88.9% and specificity was 81.7%) and proportion of CD14_{Dim}CD16+ monocytes 16,1–22,8%, PIINP 83,8–102,6pg/ml, sVCAM-1 39,9–56,9pg/ml – COPD due to aerosols with silica nanoparticles exposure (sensitivity 91.2%, specificity 79.2%), p=0.001. Different COPD phenotypes develops in conditions of aerosols with metal or silica nanoparticles exposure. Perspective markers of COPD due to aerosols with metal nanoparticles are classical blood monocytes and interleukine-5, with silica nanoparticles are non-classical blood monocytes, PIINP, sVCAM.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, nanoparticles, inflammation, monocytes subpopulations, molecular markers.

The research was supported by a grant from the Russian Science Foundation (project № 19-74-30011).

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является значимой проблемой современного здравоохранения. Прогрессирующее ремоделирование бронхолегочной системы при ХОБЛ приводит к нарушению функции, преждевременной стойкой утрате трудоспособности и высокой смертности больных [1]. В настоящее время ХОБЛ – это ведущая причина смерти от болезней органов дыхания [2]. Так как ХОБЛ – гетерогенное заболевание, то перспективным направлением оптимизации терапевтической стратегии является фенотипирование, или выделение групп, однородных по патогенезу, клинико-функциональным особенностям и прогнозу [3]. Факторы окружающей среды – ингалируемые повреждающие частицы и газы – являются доказанными причинами развития ХОБЛ и одновременно влияют на клинико-патогенетические особенности. Результатом взаимодействия внешних агентов и легких как барьерного органа является развитие персистирующего воспаления, что составляет основу патогенеза заболевания [2, 4–6].

ХОБЛ в условиях воздействия промышленных аэрозолей отличается от ХОБЛ у курильщиков табака. При этом профессиональная ХОБЛ также гетерогенна, а фенотипы зависят от биологических свойств различных компонентов промышленных аэрозолей [7]. Многие аэрозоли содержат частицы наноразмерного диапазона, менее 0,1 мкм в одном из размеров. Наночастицы характеризуются высокой проникающей способностью, индуцируют процессы воспаления, оксидативного стресса, фиброобразования [8, 9], что определяет их участие в развитии фенотипов ХОБЛ. Актуальность изучения фенотипов и поиска биомаркеров ХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами определяется необходимостью

прогнозирования динамики клинико-функциональных особенностей и клинически значимых исходов заболевания. Кроме того, параметры воспаления при ХОБЛ, связанные с воздействием наночастиц, могут быть использованы в качестве маркера наличия данного фактора на рабочем месте, что требуется для разработки мероприятий по управлению риском здоровью.

Цель исследования: установить перспективные молекулярные маркеры ХОБЛ в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами.

Материал и методы исследования

Анализ химико-гигиенических исследований наночастиц в воздухе рабочей зоны на предприятии машиностроения (код ОКВЭД 30.30.32) проведен сотрудниками Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт неорганической химии им. А.В. Николаева» проф., д.т.н. А.И. Сапрыкиным и к.х.н. А.Р. Цыганковой. Отбор проб воздуха проводили электрическим аспиратором ПУ-4Э, пробу пропускали через поглотительный раствор, далее выполняли физико-химические исследования полученного раствора. Общий химический (элементный) состав частиц определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (спектрометр высокого разрешения iCAP-6500, «Thermo Scientific»). Размеры частиц подтверждали методом сканирующей электронной микроскопии в сочетании с энергодисперсионным анализом (сканирующий электронный микроскоп Zeiss EVO MA 15 фирмы «Karl Zeiss», увеличение в 2000–8000 раз). Концентрация наночастиц в воздухе рабочей зоны составила от 5 до 625 нг/л. По преобладающему химическому составу наночастиц были выделены две группы аэрозолей – содержащие преимущественно наночастицы металлов (алюминия, железа, хрома) или наночастицы кремния.

Для оценки концентраций аэрозолей без учета размерных фракций были проанализированы санитарно-гигиенические характеристики условий труда предприятия, составленные экспертами отдела надзора по гигиене труда, коммунальной гигиене Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Новосибирской области при проведении экспертиз связи заболевания с профессией.

Проведено одноцентровое когортное одномоментное исследование больных ХОБЛ, занятых на данных рабочих местах: в условиях воздействия преимущественно аэрозолей с наночастицами металлов (n=36), кремния (n=34), и больных ХОБЛ – курильщиков табака без профессиональных рисков здоровью (n=70). Контрольная группа – условно здоровые лица (n=70).

Набор участников исследования осуществляли на основании следующих критериев включения: письменное информированное согласие на участие; в основные группы – диагноз ХОБЛ, установленный согласно спирографическому критерию (отношение объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) к форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) после ингаляции бронхолитика менее 0,7), возраст 45–65 лет; в подгруппы ХОБЛ от воздействия промышленных аэрозолей – документированный контакт на рабочем месте с промышленным аэрозолем, с превышением ПДК основных компонентов более чем в 3 раза и наличием наночастиц, обусловленным особенностями технологических процессов; стаж работы в вышеперечисленных условиях не менее 10 лет; в группу ХОБЛ табакокурения – курильщики в течение более чем 10 лет, индекс пачка-лет более 10 при отсутствии риска профзаболеваний; в контрольную группу – отсутствие острых заболеваний, хронических заболеваний в стадии декомпенсации, травм на момент исследования, отсутствие профессиональных рисков здоровью. Критериями невключения были: другие виды курения; другие, кроме ХОБЛ, заболевания бронхолегочной системы, за исключением простого хронического бронхита; состояния, кроме ХОБЛ, сопровождающиеся эозинофилией; ожирение; аутоиммунные заболевания и активные очаги хронической инфекции; ВИЧ-инфекция; злокачественные новообразования; сердечная, почечная, печеночная недостаточность в стадии декомпенсации.

Для характеристики фенотипов ХОБЛ выполнены комплексное исследование функции внешнего дыхания (спирография с пробой с бронхолитиком (спирограф MAC2-C, «Белинтелмед», Республика Беларусь) [10], бодиплетизмография, исследование диффузионной способности легких по монооксиду углерода методом одиночного вдоха (бодиплетизмограф PowerCube Body, Shiller, Германия)), эхокардиография с тканевым доплером (ультразвуковой сканер Mindray DC-N3, Шэньчжэнь Майндрэй Био-Медикал Электроникс Ко, Лтд, КНР).

Исследованы субпопуляции моноцитов крови методом проточной лазерной двухцветной цитофлуориметрии (аппарат NovoCyte, Agilent, США). Методом твердофазного иммуноферментного анализа (фотометр «ExpertPlus» фирмы «ASYS HIТЕСН» (Австрия), стандартная длина волны измерения 450 нм, наборы фирм-производителей) определяли концентрации в сыворотке крови интерлейкина-1 β (IL1- β), интерлейкина-5 (IL-5), С-реактивного белка (СРБ), фактора роста фибробластов-2 (FGF-2), трансформирующего фактора роста- β 1 (TGF- β 1), N-терминального пропептида проколлагена 3-го типа (PIIINP), матриксных металлопротеиназ 1 (ММР-1) и 9 (ММР-9), растворимой сосудистой молекулы адгезии-1 (sVCAM 1).

Статистическая обработка данных проведена при помощи программ SPSS 26 и Statistica 9.0. Уровень значимости для отклонения нулевой гипотезы – $p < 0,05$ при сравнении двух групп и для оценки результатов регрессионного анализа, $p < 0,01$ при сравнении четырех групп с учетом поправки Бонферрони. Нормальное распределение данных определяли методом Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении непрерывных переменных данные представлены в виде средней и стандартного отклонения ($m \pm SD$), при распределении, отличном от нормального, – в виде медианы (Me) и межквартильного интервала ($Q2; Q3$). Результаты, описанные ординальными и номинальными переменными, представлены в виде долей или процентов. Сравнение групп по непрерывным переменным проводили при помощи критерия Крускала–Уоллиса, по ординальным и номинальным – критерия χ^2 .

Взаимосвязи оценивали методом линейного регрессионного анализа. Для исключения вмешивающихся факторов в модели включали следующие параметры: ОФВ1; если независимой переменной была массовая концентрация наночастиц металлов – среднесменные и максимальные разовые концентрации марганца, максимальные разовые концентрации диоксида железа, если независимой переменной была массовая концентрация наночастиц кремния – максимальные разовые и среднесменные концентрации кремнийсодержащей пыли, если независимыми переменными были стандартные параметры промышленных аэрозолей – массовые концентрации соответствующих наночастиц. Операционные характеристики исследуемых клеточно-молекулярных маркеров (чувствительность и специфичность) рассчитывали по формулам: $ДЧ = ИП / (ИП + ЛП)$, где ДЧ – диагностическая чувствительность маркера, ИП – число истинно позитивных результатов, ЛП – число ложнопозитивных результатов в исследуемой выборке; $ДС = ИО / (ИО + ЛО)$, где ДС – диагностическая специфичность маркера, ИО – число истинно отрицательных результатов, ЛО – число ложноотрицательных результатов.

Результаты исследования и их обсуждение

Основные характеристики исследуемых больных представлены в таблице 1. Группы не различались по полу, возрасту, курительности – по интенсивности курения, группы ХОБЛ в условиях воздействия производственных факторов – по доле курящих, стажу.

Таблица 1

Основные характеристики больных

| Параметр | ХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами | | ХОБЛ в условиях курения табака n=70 | Условно здоровые лица n=70 | p |
|-------------------|---|-----------------|--|-------------------------------|---|
| | металлов n=36 | кремния n=34 | | | |
| Пол Мужчин, n (%) | | | | | |

| | | | | | |
|--|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|----------------|
| Женщин n (%) | 34 (94,4) 2 (5,6) | 33 (97,0) 1 (3,0) | 66 (94,3) 4 (5,7) | 66 (94,3) 4 (5,7) | 0,456 0,456 |
| Возраст, лет (Me, IQR) | 58 (54; 65) | 56 (51; 65) | 60(55; 64) | 57 (51; 63) | 0,320 |
| Доля курящих n (%) | 12 (33,3) ³ | 13 (38,2) ³ | 70 (100) ^{1,2,4} | 23 (33) ³ | 0,001 |
| Индекс пачка- лет (Me, IQR) | 16 (11; 18) | 14 (12; 17) | 17(13; 19) | 17 (12; 19) | 0,156 |
| Стаж работы, лет (Me, IQR) | 21 (18; 25) | 22 (20; 26) | Не применимо | Не применимо | 0,320 |
| ОФВ1, % | 38 (35; 42) ^{2,3,4} | 57 (55; 61) ^{1,3,4} | 51(45; 56) ^{1,2,4} | 101(95; 108) ^{1,2,3} | 0,002 |
| ОФВ1/ ФЖЕЛ, % | 66 (62; 67) ^{2,3,4} | 68 (64; 68) ^{1,3,4} | 64(58; 68) ^{1,2,4} | 100 (94; 108) ^{1,2,3} | 0,001 |
| Примечание: достоверность различий по отношению к группе: 1 – ХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами металлов, 2 – ХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами кремния, 3 – ХОБЛ табакокурения, 4 – контроля. | | | | | |

Изучение распределения субпопуляций моноцитов периферической крови показало, что частота «классических» CD14+CD16- клеток была наибольшей при ХОБЛ в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами металлов – 95,4% (90,1%; 97,4%), $p=0,001$, «неклассических» CD14DimCD16+ при ПХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами кремния – 21,1% (16,1%; 22,8%), $p=0,002$.

У больных ХОБЛ от воздействия наночастиц металлов выявлены самые высокие сывороточные уровни IL-5 – $2,6\pm 0,5$ пг/мл (в группе ХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами кремния $0,7\pm 0,2$ пг/мл, ХОБЛ табакокурения $0,8\pm 0,2$ пг/мл, в группе контроля $0,6\pm 0,4$ пг/мл, $p=0,001$), PIPNP – $158,4\pm 16,2$ пг/мл ($93,2\pm 9,4$ пг/мл, $29,2\pm 12,3$ пг/мл и $11,4\pm 3,3$ пг/мл соответственно), MMP-9 – $342,4\pm 32,4$ пг/мл ($246,8\pm 46,8$ пг/мл, $178,9\pm 63,9$ пг/мл и $156,8\pm 26,5$ пг/мл, $p=0,001$). При воздействии наночастиц кремния наблюдали максимальные концентрации в крови FGF-2 – $16,9\pm 3,4$ пг/мл (в группе ХОБЛ от воздействия аэрозолей с наночастицами металлов $1,9\pm 0,1$ пг/мл, ХОБЛ табакокурения $8,7\pm 2,8$ пг/мл, в группе контроля $1,4\pm 0,2$ пг/мл, $p=0,001$), TGF- β 1 – $946,2\pm 82,5$ пг/мл ($713,4\pm 23,8$ пг/мл, $732,4\pm 79,2$ пг/мл, $424,6\pm 58,4$ пг/мл) и sVCAM-1 – $48,4\pm 8,5$ пг/мл ($19,8\pm 5,4$ пг/мл, $13,2\pm 8,2$ пг/мл и $14,2\pm 6,2$ пг/мл, $p=0,001$).

Методом линейного регрессионного анализа определены связи экзогенного этиологического фактора с клеточно-молекулярными особенностями ХОБЛ (табл. 2). При этом наблюдали качественные различия влияния наночастиц в зависимости от их элементного химического состава. Массовая концентрация наночастиц металлов (суммарная) была связана с долей классических (CD14+CD16-) моноцитов, концентрациями в сыворотке крови

инерлейкина-5 и MMP-9. Массовая концентрация наночастиц кремния была ассоциирована с долей неклассических (CD14^{Dim}CD16⁺) моноцитов, сывороточными уровнями PИИПР и sVCAM-1. Указанные молекулярные факторы были связаны также со стажем работы в условиях воздействия соответствующих аэрозолей.

Таблица 2

Связь экзогенного этиологического фактора и клеточно-молекулярных особенностей ХОБЛ

| Независимая переменная | Зависимые переменные | B | R | R ² | p |
|---|--|------|------|----------------|--------|
| Массовая концентрация наночастиц металлов, мкг/мл | Моноциты CD14 ⁺ CD16 ⁻ , % | 1,6 | 0,92 | 0,85 | 0,001 |
| | Интерлейкин-5, пг/мл | 1,3 | 0,88 | 0,77 | <0,001 |
| | MMP-9, пг/мл | 1,1 | 0,86 | 0,74 | 0,008 |
| Массовая концентрация наночастиц кремния, мкг/мл | Моноциты CD14 ^{Dim} CD16 ⁺ , % | 1,2 | 0,96 | 0,92 | 0,001 |
| | PИИПР, пг/мл | 2,2 | 0,96 | 0,92 | <0,001 |
| | sVCAM-1, пг/мл | 1,7 | 0,92 | 0,85 | <0,001 |
| Стаж работы в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами металлов, лет | Моноциты CD14 ⁺ CD16 ⁻ , | 1,18 | 0,96 | 0,92 | 0,001 |
| | Интерлейкин-5, пг/мл | 1,09 | 0,94 | 0,88 | 0,001 |
| Стаж работы в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами кремния, лет | Моноциты CD14 ^{Dim} CD16 ⁺ , % | 1,15 | 0,95 | 0,90 | 0,001 |
| | PИИПР, пг/мл | 1,12 | 0,91 | 0,83 | 0,001 |
| | sVCAM-1, пг/мл | 1,11 | 0,90 | 0,81 | 0,001 |
| Среднесменная концентрация кремнийсодержащей пыли, мг/м ³ | Моноциты CD14 ^{Dim} CD16 ⁺ , % | 0,04 | 0,32 | 0,10 | 0,392 |
| | sVCAM-1, пг/мл | 0,05 | 0,29 | 0,08 | 0,406 |
| | PИИПР, пг/мл | 0,02 | 0,25 | 0,06 | 0,412 |
| | Интерлейкин 1-β, пг/мл | 1,11 | 0,72 | 0,52 | 0,009 |
| Максимальная разовая концентрация кремнийсодержащей пыли, мг/м ³ | Моноциты CD14 ^{Dim} CD16 ⁺ , % | 0,02 | 0,29 | 0,08 | 0,218 |
| | sVCAM-1, пг/мл | 0,08 | 0,27 | 0,07 | 0,195 |
| | PИИПР, пг/мл | 0,01 | 0,23 | 0,05 | 0,207 |
| Дижелезо триоксид, максимальная разовая концентрация, мг/м ³ | Моноциты CD14 ⁺ CD16 ⁻ , % | 0,06 | 0,42 | 0,18 | 0,253 |
| | Интерлейкин-5, пг/мл | 0,02 | 0,19 | 0,04 | 0,366 |
| | MMP-9, пг/мл | 0,04 | 0,22 | 0,05 | 0,271 |

| | | | | | |
|--|---------------------------|------|------|------|-------|
| Марганец, среднесменная концентрация, мг/м ³ | Моноциты CD14+CD16-, % | 0,05 | 0,47 | 0,22 | 0,221 |
| | Интерлейкин-5, пг/мл | 0,01 | 0,16 | 0,03 | 0,279 |
| | ММР-9, пг/мл | 0,09 | 0,75 | 0,56 | 0,007 |
| | СРБ, мг/мл | 1,18 | 0,91 | 0,83 | 0,001 |
| Марганец, максимальная разовая концентрация, мг/м ³ | Моноциты CD14+CD16- | 0,04 | 0,44 | 0,19 | 0,267 |
| | Интерлейкин-5, пг/мл | 0,02 | 0,20 | 0,04 | 0,286 |

Отмечено, что доля классических (CD14+CD16-) моноцитов, сывороточные уровни интерлейкина-5 были связаны только с массовыми концентрациями наночастиц и не зависели от уровней трижелеза диоксида или марганца, измеренных без учета размерных фракций аэрозоля. На уровень ММР-9 влияли и наночастицы, и среднесменные концентрации марганца. На долю неклассических моноцитов CD14DimCD16+, сывороточные уровни PИИПР и sVCAM-1 влияли концентрации наночастиц с кремнием, но не вся кремнийсодержащая пыль. Среднесменные концентрации марганца были ассоциированы с уровнем СРБ крови, среднесменные концентрации пыли – с уровнем интерлейкина 1-β, в свою очередь не связанными с наночастицами. Таким образом, можно предположить, что частицы промышленного аэрозоля разного размера индуцируют и поддерживают различные паттерны воспаления.

Одновременно интенсивность и продолжительность воздействия наночастиц влияли на фенотип ХОБЛ (табл. 3).

Таблица 3

Связь экзогенного этиологического фактора и фенотипических характеристик ХОБЛ

| Предиктор | Прогнозируемый параметр | B | R | R ² | p |
|--|-------------------------|-------|------|----------------|--------|
| Массовая концентрация наночастиц металлов, мкг/мл | ОФВ1, % | -0,7 | 0,76 | 0,58 | 0,015 |
| | ФОЕ, % | 1,6 | 0,93 | 0,86 | <0,001 |
| Массовая концентрация наночастиц кремния, мкг/мл | ДСЛсо, % | -1,7 | 0,91 | 0,83 | 0,001 |
| | СДЛА, мм рт. ст. | 0,12 | 0,86 | 0,74 | 0,005 |
| Стаж работы в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами металлов, лет | ОФВ1, % | -1,11 | 0,88 | 0,77 | 0,002 |
| | ФОЕ, % | 1,18 | 0,92 | 0,85 | 0,001 |
| | ДСЛсо, % | -0,48 | 0,92 | 0,85 | 0,001 |
| | ОЕЛ, % | 0,55 | 0,90 | 0,81 | 0,001 |
| | ООЛ/ОЕЛ, % | 0,58 | 0,93 | 0,86 | 0,001 |
| | Raw выдоха | 0,04 | 0,89 | 0,79 | 0,002 |

| | | | | | |
|---|---|-------|------|------|-------|
| | СДЛА, мм рт. ст. | 1,09 | 0,91 | 0,83 | 0,001 |
| | ЛСС, Ед Вуда | 1,11 | 0,94 | 0,88 | 0,001 |
| | Диаметр выносящего тракта правого желудочка, см | 0,06 | 0,92 | 0,85 | 0,001 |
| | Площадь правого предсердия, см ² | 0, 41 | 0,92 | 0,85 | 0,001 |
| Стаж работы в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами кремния, лет | ОФВ1, % | -1,09 | 0,79 | 0,62 | 0,005 |
| | ФОЕ, % | 1,15 | 0,88 | 0,77 | 0,002 |
| | ДСЛсо, % | -0,35 | 0,90 | 0,81 | 0,001 |
| | ОЕЛ | 0,39 | 0,85 | 0,72 | 0,002 |
| | ООЛ/ОЕЛ | 0,34 | 0,87 | 0,76 | 0,002 |
| | Raw выдоха, кПА·с/л | 0,01 | 0,88 | 0,77 | 0,002 |
| | СДЛА, мм рт. ст. | 1,06 | 0,93 | 0,86 | 0,001 |
| | ЛСС, Ед Вуда | 1,13 | 0,94 | 0,88 | 0,001 |
| | Диаметр выносящего тракта правого желудочка, см | 0,05 | 0,90 | 0,81 | 0,001 |
| | Площадь правого предсердия, см ² | 0, 35 | 0,89 | 0,79 | 0,001 |
| Среднесменная концентрация кремнийсодержащей пыли, мг/м ³ | ДСЛсо, % | 0,05 | 0,51 | 0,26 | 0,196 |
| | ОФВ1, % | -0,65 | 0,72 | 0,52 | 0,009 |
| | Raw выдоха, кПА·с/л | 1,09 | 0,78 | 0,61 | 0,006 |
| | СДЛА, мм рт. ст. | 0,004 | 0,39 | 0,15 | 0,194 |
| | ЖЕЛ, % | -0,32 | 0,69 | 0,48 | 0,010 |
| | ООЛ/ОЕЛ, % | -0,20 | 0,71 | 0,50 | 0,009 |
| Максимальная разовая концентрация кремнийсодержащей пыли, мг/м ³ | ДСЛсо, % | -0,02 | 0,48 | 0,23 | 0,113 |
| | ОФВ1, % | -0,84 | 0,65 | 0,42 | 0,010 |
| | Raw выдоха, кПА·с / л | 0,02 | 0,72 | 0,52 | 0,009 |
| | СДЛА, мм рт. ст. | 0,003 | 0,31 | 0,10 | 0,174 |
| | ЖЕЛ, % | -0,13 | 0,75 | 0,56 | 0,008 |
| | ООЛ/ОЕЛ, % | -0,15 | 0,78 | 0,61 | 0,005 |
| Дижелезо триоксид, максимальная разовая концентрация, мг/м ³ | ОФВ1, % | -0,10 | 0,82 | 0,67 | 0,002 |
| | ФОЕ, % | 0,001 | 0,15 | 0,02 | 0,479 |
| | ДСЛсо, % | -1,14 | 0,82 | 0,67 | 0,002 |
| | Raw выдоха, кПА·с / л | 1,17 | 0,88 | 0,77 | 0,001 |
| | ОФВ1, % | -0,11 | 0,85 | 0,72 | 0,002 |

| | | | | | |
|--|-----------------------|-------|------|------|-------|
| Марганец, среднесменная концентрация, мг/м ³ | ФОЕ, % | 0,002 | 0,17 | 0,03 | 0,284 |
| | ДСЛсо, % | -0,09 | 0,78 | 0,61 | 0,004 |
| | Raw выдоха, кПА·с / л | 1,16 | 0,82 | 0,67 | 0,002 |
| Марганец, максимальная разовая концентрация, мг/м ³ | ОФВ1, % | -0,14 | 0,89 | 0,79 | 0,001 |
| | ФОЕ, % | 0,001 | 0,15 | 0,02 | 0,314 |
| | ДСЛсо, % | -0,10 | 0,81 | 0,66 | 0,002 |
| | Raw выдоха, кПА·с / л | 1,15 | 0,87 | 0,76 | 0,001 |
| Примечание: ОФВ1 – объем форсированного выдоха за первую секунду, ФОЕ – функциональная остаточная емкость, ДСЛсо – диффузионная способность легких по монооксиду углерода методом одиночного вдоха, СДЛА – среднее давление в легочной артерии, ОЕЛ – общая емкость легких, ООЛ – остаточный объем легких, Raw – сопротивление в дыхательных путях, ЛСС – легочное сосудистое сопротивление, ЖЕЛ – жизненная емкость легких. | | | | | |

Массовая концентрация наночастиц металлов была ассоциирована со значениями ОФВ1, функциональной остаточной емкости легких, наночастиц кремния – со значениями диффузионной способности легких (ДСЛсо) и среднего давления в легочной артерии (СДЛА). Характеристики, связанные с массовыми концентрациями наночастиц, были связаны и со стажем работы. Вероятно, продолжительность воздействия влияет на выраженность эффекта. Дополнительно стаж работы был связан с ДСЛсо, общей емкостью легких (ОЕЛ), долей остаточного объема в общей емкости легких (ООЛ/ОЕЛ), сопротивлением в дыхательных путях (Raw) на выдохе, СДЛА, легочным сосудистым сопротивлением (ЛСС), диаметром выносящего тракта правого желудочка, площадью правого предсердия, что можно объяснить и влиянием наночастиц, и эффектами других размерных фракций аэрозоля.

Концентрации марганца в воздухе рабочей зоны, как и наночастиц металлов, влияли на значения ОФВ1, а также на ДСЛсо и Raw выдоха. Дижелезо триоксид был связан с такими параметрами, как ДСЛсо, Raw выдоха. Концентрации кремнийсодержащей пыли без учета размерных фракций были дополнительно связаны с ОФВ1, Raw выдоха, жизненной емкостью легких (ЖЕЛ), ООЛ/ОЕЛ.

Таким образом, в данном исследовании определены взаимосвязи воздействия наночастиц промышленных аэрозолей с особенностями воспаления и фенотипом ХОБЛ. Исходя из известных данных о функции исследованных регуляторных молекул, можно предположить, что наночастицы металлов значимо влияют на тяжесть эмфиземы (связь с MMP-9 и ФОЕ) [11], способствуют формированию эозинофильного клеточного типа воспаления (связь с интерлейкином 5) [12] и фиброобразованию через воспаление (связь с «классическими» моноцитами и PIP2) [13, 14]. Наночастицы кремния, вероятно, влияют на фиброобразование, развитие интерстициального легочного фиброза (связь с «неклассическими» моноцитами и PIP2 и ДСЛсо, но не с ОФВ1), а также на сосудистый

компонент ХОБЛ (ассоциации с sVCAM-1) [15]. Известно, что «классические» CD14+CD16- моноциты являются клетками воспаления и дифференцируются в провоспалительные M1 макрофаги, «неклассические» CD14^{Dim}CD16+ клетки участвуют в репарации и фиброобразовании и имеют высокий потенциал дифференцировки в профиброзный M2 тип макрофагов, особенно в условиях патологии [13]. Матриксная металлопротеиназа-9 участвует в протеолизе эластического каркаса легких. Увеличение концентрации данного белка нарушает баланс «протеиназы-антипротеиназы» и приводит к развитию эмфиземы [11]. Интерлейкин-5 – цитокин, обеспечивающий рекрутинг эозинофилов из костного мозга, хемотаксис в дыхательные пути, активацию и выживание [12]. N-терминальный пептид проколлагена III типа – белок, продуцируемый легочными фибробластами в процессе синтеза коллагена. Уровень PIIINP сыворотки отражает активность образования коллагена в организме, его повышенный уровень служит маркером избыточного образования интерстициальной (фиброзной) ткани [14]. Растворимая сосудистая клеточная молекула адгезии-1 – циркулирующий вариант сосудистой клеточной молекулы адгезии-1, образующийся в результате протеолитического процессинга трансмембранной молекулы. Белок эндотелиальной мембраны участвует в рекрутинге лейкоцитов из сосудистого русла в ткань при воспалении. Соответственно, уровень sVCAM-1 в крови повышается при активном вовлечении эндотелия в воспаление и его повреждении [15].

Так как «классические» моноциты и концентрация интерлейкина-5 крови были связаны с наночастицами металлов, но не с общей концентрацией металлов в аэрозоле, «неклассические» моноциты, сывороточные концентрации PIIINP и sVCAM связаны с наночастицами кремния и не зависели от общей концентрации кремнийсодержащей пыли, была проведена оценка диагностической чувствительности и специфичности данных лабораторных маркеров для диагностики ХОБЛ, развившейся в условиях воздействия аэрозолей с ненамеренными наночастицами. При значениях доли CD14+CD16-моноцитов крови 90,1–97,4% (соответствует межквартильному интервалу исследуемой когорты) и интерлейкина-5 2,1–3,1 пг/мл (соответствует \pm SD исследуемой когорты) ХОБЛ сформировалась в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами преимущественно металлов с чувствительностью 88,9% и специфичностью 81,7%, $p=0,001$.

При значении доли моноцитов крови CD14^{Dim}CD16+ 16,1–22,8% (соответствует межквартильному интервалу исследуемой когорты), концентрации PIIINP 83,8–102,6 пг/мл и sVCAM 39,9–56,9 пг/мл (соответствует \pm SD исследуемой когорты) ХОБЛ сформировалась в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами преимущественно кремния с чувствительностью 91,2% и специфичностью 79,2%, $p=0,001$.

Таким образом, данные молекулярные факторы являются перспективными маркерами диагностики ХОБЛ профессионального генеза, целесообразна дальнейшая валидация.

Заключение. Фенотип ХОБЛ был ассоциирован с химическим составом наночастиц (различался при воздействии частиц, содержащих металлы или кремний), массовой концентрацией, стажем работы. Перспективными молекулярными маркерами ХОБЛ, развившейся в условиях воздействия аэрозолей с наночастицами металлов, являются «классические» моноциты и интерлейкин-5, с наночастицами кремния – «неклассические» моноциты, P1NP, sVCAM крови.

Список литературы

1. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Белевский А.С., Лещенко И.В., Овчаренко С.И., Шмелев Е.И. Хроническая обструктивная болезнь легких: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению // Пульмонология. 2022. Т. 32. № 3. С. 356-392. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-3-356-392.
2. Быстрицкая Е.В., Биличенко Т.Н. Заболеваемость, инвалидность и смертность от болезней органов дыхания в Российской Федерации (2015–2019) // Пульмонология. 2021. Т. 31. № 5. С. 551-561. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-551-561.
3. Halpin D.M.G. Precision medicine in chronic obstructive pulmonary disease // Chin. Med. J. (Engl). 2022. Vol. 135. P. 1156-1162. DOI: 10.1097/CM9.0000000000002042.
4. Величковский Б.Т. Молекулярная и клеточная основы экологической пульмонологии // Пульмонология. 2000. № 3. С. 10-18.
5. Global strategy for prevention, diagnosis and management of COPD: 2023 Report. [Электронный ресурс] URL: <https://goldcopd.org/2023-gold-report-2/> (дата обращения: 03.12.2023)
6. Профессиональные заболевания органов дыхания: национальное руководство / под ред. Н.Ф. Измерова, А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 792 с.
7. Шпагина Л.А., Котова О.С., Шпагин И.С., Герасименко О.Н. Профессиональная хроническая обструктивная болезнь легких: фенотипические характеристики // Медицина труда и промышленная экология. 2017. № 3. С. 47-53.
8. Shvedova A.A., Yanamala N., Kisin E.R., Khailullin T.O., Birch M.E., Fatkhutdinova L.M. Integrated Analysis of Dysregulated ncRNA and mRNA Expression Profiles in Humans Exposed to Carbon Nanotubes // PLoS One. 2016. Vol. 11 (3). P. e0150628. DOI: 10.1371/journal.pone.0150628.

9. Mo Y., Jiang M., Zhang Y., Wan R., Li J., Zhong C.J., Li H., Tang S., Zhang Q. Comparative mouse lung injury by nickel nanoparticles with differential surface modification // *J. Nanobiotechnology*. 2019. Vol. 17 (1). P. 2. DOI: 10.1186/s12951-018-0436-0.
10. Каменева М.Ю., Черняк А.В., Айсанов З.Р., Авдеев С.Н., Бабак С.Л., Белевский А.С., Берестень Н.Ф., Калманова Е.Н., Малявин А.Г., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Стручков П.В., Чикина С.Ю., Чушкин М.И. Спирометрия: методическое руководство по проведению исследования и интерпретации результатов Межрегиональная общественная организация «Российское респираторное общество» Общероссийская общественная организация «Российская ассоциация специалистов функциональной диагностики» Общероссийская общественная организация «Российское научно-медицинское общество терапевтов» // *Пульмонология*. 2023. Т. 33. № 3. С. 307-340. DOI: 10.18093/08690189-2023-33-3-307-340.
11. Zhang Y., Li Y., Ye Z., Ma H. Expression of Matrix Metalloproteinase-2, Matrix Metalloproteinase-9, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1, and Changes in Alveolar Septa in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Med. Sci Monit*. 2020. Vol. 26. P. e925278. DOI: 10.12659/MSM.925278.
12. Maspero J., Adir Y., Al-Ahmad M., Celis-Preciado C.A., Colodenco F.D., Giavina-Bianchi P., Lababidi H., Ledanois O., Mahoub B., Perng D.W., Vazquez J.C., Yorgancioglu A. Type 2 inflammation in asthma and other airway diseases // *ERJ Open Res*. 2022. Vol. 8 (3). С. 00576-2021. DOI: 10.1183/23120541.00576-2021.
13. Kapellos T.S., Bonaguro L., Gemünd I., Reusch N., Saglam A., Hinkley E.R., Schultze J.L. Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases // *Front Immunol*. 2019. Vol. 10. P. 2035. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02035.
14. Madahar P., Duprez D.A., Podolanczuk A.J., Bernstein E.J., Kawut S.M., Raghu G., Barr R.G., Gross M.D., Jacobs D.R. Jr, Lederer D.J. Collagen biomarkers and subclinical interstitial lung disease: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis // *Respir Med*. 2018. Vol. 140. P. 108-114. DOI: 10.1016/j.rmed.2018.06.001.
15. Troncoso M.F., Ortiz-Quintero J., Garrido-Moreno V., Sanhueza-Olivares F., Guerrero-Moncayo A., Chiong M., Castro P.F., García L., Gabrielli L., Corbalán R., Garrido-Olivares L., Lavandero S. VCAM-1 as a predictor biomarker in cardiovascular disease // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2021. Vol. 1867 (9). P. 166170. DOI: 10.1016/j.bbadis.2021.166170.