

На правах рукописи

Борисова Алла Ивановна

Клинико-функциональное значение дисбаланса вегетативной нервной системы у пациентов с различными фенотипами тяжёлой бронхиальной астмы

3.1.18. Внутренние болезни (медицинские науки)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2024

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

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
доцент

Галимова Елена Станиславовна

Официальные оппоненты:

Белевский Андрей Станиславович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра пульмонологии факультета дополнительного профессионального образования, заведующий кафедрой.

Демко Ирина Владимировна - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии и иммунологии с курсом постдипломного образования, заведующий кафедрой.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России).

Защита состоится «05» ноября 2024 г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета 21.2.016.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 127006, г. Москва, ул. Долгоруковская, д. 4А.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России (127206, г. Москва, ул. Вучетича, д. 10 стр.2) и на сайте <https://dissov.msmsu-portal.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 21.2.016.01
доктор медицинских наук, профессор

Лобанова Елена Георгиевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

Бронхиальная астма (БА) продолжает оставаться одной из сложнейших проблем современной медицины, ввиду значительного распространения и повсеместно продолжающегося роста. На сегодняшний день бронхиальной астмой страдает приблизительно 348 млн. человек в мире [Asthma / World Health Organization. 2020.]. Несмотря на значительные успехи, уровень достижения контроля БА составляет 23-47% [Global initiative for asthma, 2022.]. Особую проблему представляет ведение пациентов с тяжёлой БА. Бронхиальная астма является гетерогенным заболеванием, характеризующимся хроническим воспалением дыхательных путей, в патогенезе которого принимают участие и «нейрогенные» факторы, дисбаланс звеньев вегетативной нервной системы [Global initiative for asthma, 2022., Г. Б. Федосеев и др., 2015]. В системе иннервации бронхов имеется два типа нервных волокон (А и С), которые обеспечивают афферентную передачу нервных импульсов. Волокна типа С имеют специфические рецепторы для нейропептидов, таких как субстанции Р и нейрокинина А, участвующих в сокращении гладкой мускулатуры дыхательных путей [G. Ravón-Romero et al., 2021]. Ганглии афферентных нервов аккумулируют и высвобождают пептидные нейротрансмиттеры, которые относятся к неадренергической/нехолинергической нервной системе, и воздействуют на рецепторы, присутствующие в органах-мишенях, активация этих рецепторов приводит к ряду физиологических реакций, в том числе сокращению гладкой мускулатуры дыхательных путей, вазодилатации, проницаемости микрососудов (связанное с этим образование отека) и секреции слизи. По литературным данным вазоинтестинальный пепетид (VIP) обладает мощным вазо- и бронходилатирующим эффектом, являясь наиболее сильным эндогенным бронхолитиком. Было установлено, что в изолированных сегментах трахеи или бронхов VIP ослабляет констрикторный эффект гистамина, простагландина F_{2α}, эндотелина, лейкотриена D₄, калликреина и нейрокинина А. Нервные волокна высокой плотности экспрессирующие мРНК VIP и VPAC2

были обнаружены в подслизистых железах дыхательных путей [G. Pavón-Romero et al., 2021, D. Groneberg et al., 2001]. Поскольку субстанция P и VIP влияют на тонус дыхательных путей, можно предположить, что они влияют на течение БА. Рядом авторов были опубликованы данные о связи субстанции P и вазоинтестинального пептида с ожирением [U. Atas et al., 2021].

Согласно литературным данным полиморфные варианты генов субстанции P (rs2072100), его рецептора (rs3771829), гена вазоинтестинального пептида (rs3823082) и его рецептора (rs896) ассоциированы с уровнем субстанции P и уровнем вазоинтестинального пептида, в этой связи для изучения молекулярно-генетических аспектов диагностики и течения БА, были отобраны эти гены.

Имеющиеся на сегодняшний день работы, не в полной мере отражают механизмы и степень влияния дисбаланса вегетативной нервной системы и её нейромедиаторов на клинические особенности течения различных фенотипов тяжёлой бронхиальной астмы. Учитывая литературные данные о связи нейромедиаторов (SP и VIP) с избыточной массой тела изучение этой темы является особенно актуальным у пациентов с фенотипом бронхиальная астма в сочетании с ожирением, представляет практический интерес и может способствовать совершенствованию персонализированного подхода к терапии больных БА.

Цель исследования

Совершенствование прогнозирования тяжёлого течения и формирования различных фенотипов бронхиальной астмы на основе изучения характера вегетативного дисбаланса и уровня нейромедиаторов.

Задачи исследования

1. Провести клиническую характеристику и оценку качества жизни у пациентов с бронхиальной астмой тяжёлого течения с фенотипами: бронхиальная астма в сочетании с ожирением, бронхиальная астма с фиксированной обструкцией дыхательных путей и бронхиальная астма с поздним дебютом.
2. Изучить вариабельность сердечного ритма, определить тип вегетативной дисфункции у пациентов с изучаемыми фенотипами бронхиальной астмы.

3. Оценить уровень нейропептидов (вазоинтестинального пептида и субстанции P) в плазме крови у пациентов с изучаемыми фенотипами тяжёлой бронхиальной астмы, выявить клиничко-функциональные ассоциации.
4. Провести исследование полиморфных вариантов генов субстанции P (rs2072100), его рецептора (rs3771829), гена вазоинтестинального пептида (rs3823082) и его рецептора (rs896) у больных бронхиальной астмой. Выявить клиничко-генетические ассоциации с изучаемыми фенотипами бронхиальной астмы, тонусом вегетативной нервной системы и уровнем маркёров нейрогенного воспаления (вазоинтестинального пептида и субстанции P).
5. Разработать прогностические модели для оценки риска развития тяжёлой бронхиальной астмы с учётом параметров вариабельности сердечного ритма, уровнем нейропептидов и молекулярно-генетических ассоциаций.

Методология и методы исследования

Исследование выполнялось на базе отделения профессиональной аллергологии и иммунореабилитации в ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека». Для достижения поставленной цели и решения, сформулированных в работе задач, был выполнен проспективный анализ медицинских карт, анкетирование пациентов, направленное на определение социального статуса, рода деятельности, социально-бытовых условий и качества жизни. План исследования был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. На основании письменного добровольного информированного согласия были отобраны 174 пациента с БА тяжелого и среднетяжёлого течения в возрасте от 18 до 70 лет. Отобранные нами пациенты с БАТТ (N=80) – группа исследования и БАСТ (N=94) – группа сравнения, в соответствии с классификацией (GINA 2021), в качестве объектов исследования были представленными тремя фенотипами: БА в сочетании с необратимой бронхиальной обструкцией, БА с поздним дебютом, БА в сочетании с ожирением.

При отборе пациентов так же были определены больные с аллергическим и неаллергическим фенотипами БА, но в связи с тем, что они были представлены

единичными случаями в группе с БАТТ, то для сопоставимости групп исследования, они были исключены. Пациентам с бронхиальной астмой тяжёлого и среднетяжёлого течения был определён уровень нейропептидов и проведен молекулярно-генетический анализ полиморфных вариантов генов субстанции Р (rs2072100), его рецептора (rs3771829), гена вазоинтестинального пептида (rs3823082) и его рецептора (rs896) у больных бронхиальной астмой. Также в исследование вошли 44 человека (контрольная группа), не страдающих бронхиальной астмой и не имеющих любые другие хронические заболевания. Контрольная группа была сопоставима по полу и возрасту с группой пациентов с бронхиальной астмой. Данной категории обследуемых был проведён анализ уровня нейропептидов (субстанции Р и вазоинтестинального пептида) в плазме крови (Рисунок 1).

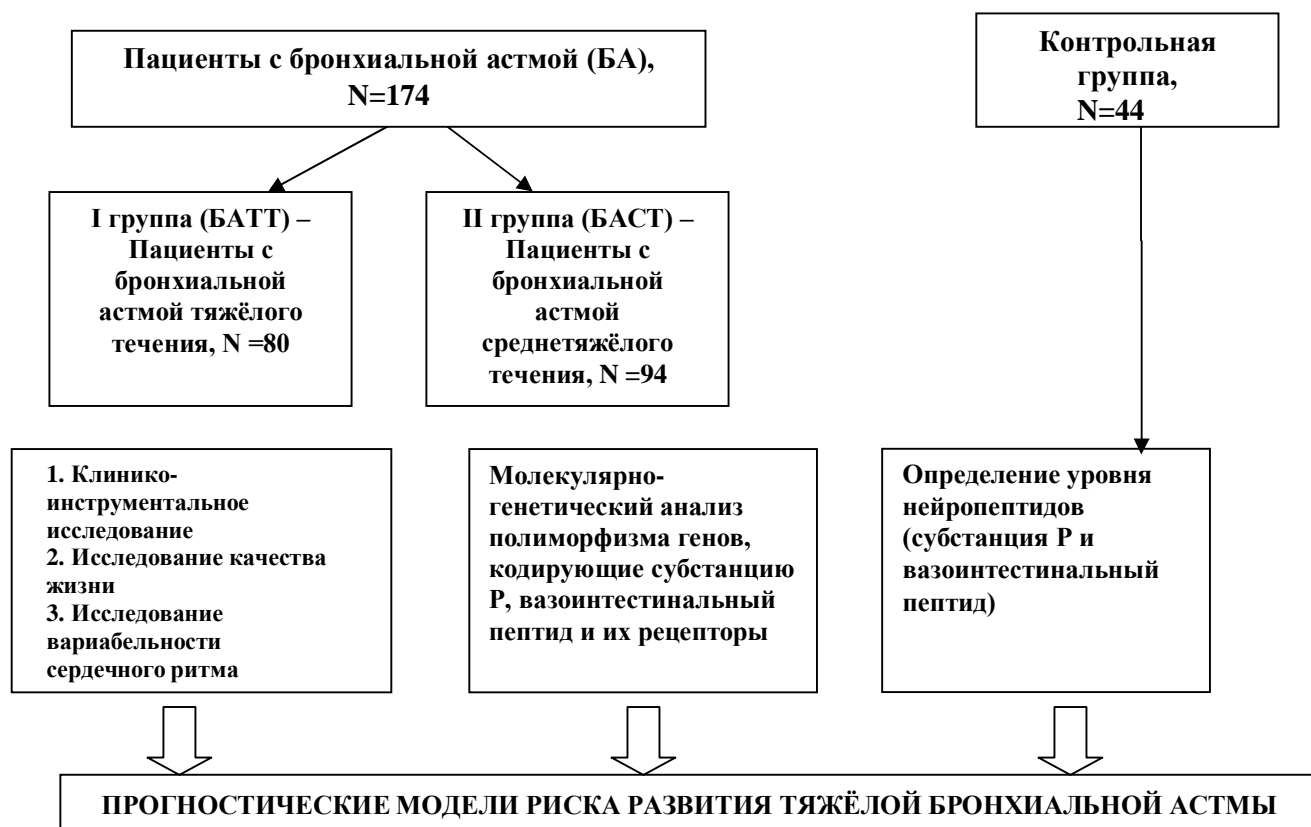


Рисунок 1 – Дизайн исследования.

Постановка диагноза «бронхиальная астма» и определение степени тяжести заболевания проводились в соответствии с рекомендациями GINA-2021-2022гг. Всем пациентам представляли подробную информацию о планирующемся исследовании.

Статистическая обработка в IBM SPSS Statistics. Статистический анализ данных проводился при помощи программы IBM SPSS Statistics. Распределение соответствия нормальному проверяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении - переменные представлялись в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SE$), а статистическую значимость оценивали при помощи многократной генерации выборок методом Монте-Карло с поправкой Холма-Бонферрони (Bootstrap). Для сравнения двух (использовали t-критерий Стьюдента) и трёх групп (однофакторный дисперсионный анализ) по количественным показателям (при нормальном распределении) или U-критерий Манна-Уитни и критерий Краскела – Уоллиса (при ненормальном распределении). Для анализа корреляций применялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s). Риск развития и ассоциации молекулярно- генетических маркеров с клинической формой и прогнозом оценивали с использованием показателя «соотношение шансов» (OR). $OR > 1$ рассматривался как фактор, повышающий вероятность возникновения заболевания и/или особенности течения («Фактор риска»), $OR < 1$ - как понижающий такую вероятность («протективный фактор»), $OR = 1$ - отсутствие влияния. Оценка диагностической значимости количественных переменных при прогнозировании определенного исхода проводилась с помощью ROC-анализа. Для прогнозирования бинарной переменной по исходным значениям нескольких показателей применялся метод бинарной логистической регрессии. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Прогноз тяжести БА оценивался при помощи модели «Дерево решений», построенной с помощью библиотеки Scikit-learn в программе Jupyter notebook на языке Python 3.9.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора

Работа выполнена на достаточном клиническом материале – 174 пациента с тяжёлой и среднетяжёлой бронхиальной астмой. В работе использованы современный дизайн исследования, а также лабораторные, инструментальные и генетические методы исследования, которые полностью соответствуют выполнению поставленных задач. Полученные результаты были проанализированы современными методами статистического анализа с

применением программы IBM SPSS Statistics и с помощью библиотеки Scikit-learn в программе Jupyter notebook на языке Python 3.9.

Разработка идеи, протокола исследования, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования проводились совместно с научным руководителем: доктором медицинских наук, доцентом, профессором кафедры пропедевтики внутренних болезней Галимовой Е.С. Диссертант проводила лечение больных при поступлении в стационар, курировала пациентов в качестве лечащего врача. Самостоятельно проводила анкетирование пациентов, создавала базу данных. Интерпретация и анализ полученных результатов выполнены совместно с научным руководителем. Интерпретация молекулярно-генетических результатов производилась совместно с заведующим отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» Каримовым Д.О., кандидатом медицинских наук. Научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации и научным руководителем, основаны на изучении достаточного объема клинического материала. Написание и оформление рукописи диссертации выполнено автором лично.

Апробация диссертации состоялась 10 января 2024 г. на заседании проблемной комиссии «Внутренние болезни» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Материалы диссертации были доложены на научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины труда и экологии человека», в рамках IV медицинского форума-выставки «Неделя здравоохранения в Республике Башкортостан», посвященной 100-летию РБ, учрежденного и реализованного Правительством Республики Башкортостан, 5 апреля 2019 года в г. Уфа и на XI Всероссийском научно-практической конференции с международным участием «Анализ риска здоровью – 2021 внешнесредовые, социальные, медицинские и поведенческие аспекты совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью RISE-2021», Качество жизни

пациентов с тяжёлой бронхиальной астмой, заочное участие, 18-20 мая 2021г. На Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «ЗДОРОВАЯ СРЕДА» 13 - 14 апреля 2023 года, г. Уфа, «Биомаркёры нейрогенного воспаления у пациентов с различными фенотипами тяжёлой бронхиальной астмы».

Положения, выносимые на защиту

1. Изучение характера вегетативной дисфункции у пациентов с тяжёлым течением бронхиальной астмы показало преобладание активности симпатического отдела нервной системы, повышение уровня нейропептидов: субстанции P и вазоинтестинального пептида. Установлена взаимосвязь между уровнем изученных нейромедиаторов, функцией внешнего дыхания и показателем вариабельности ритма сердца, а также - между уровнем субстанции P и частотой обострения бронхиальной астмы.
2. Молекулярно – генетический анализ полиморфизмов генов, кодирующих нейромедиаторы и их рецепторы, выявил наличие ассоциаций с тяжёлым течением бронхиальной астмы и формированием фенотипов бронхиальная астма с ожирением и бронхиальная астма с фиксированной обструкцией.
3. Прогностические модели, разработанные на основе показателей вариабельности ритма сердца, уровня субстанции P, вазоинтетсинального пепитида и полиморфизмов генов, кодирующих эти нейроопептиды, можно использовать для определения прогноза риска развития тяжёлойбронхиальной астмы.

Научная новизна исследования

1. Впервые проведена оценка качества жизни и вегетативного статуса у больных с различными фенотипами бронхиальной астмы: бронхиальная астма в сочетании с ожирением, бронхиальная астма с фиксированной обструкцией дыхательных путей и бронхиальная астма с поздним дебютом и установлено, что для больных бронхиальной астмой тяжёлого течения характерно низкое качество жизни по показателям, характеризующим общее здоровье, физическую активность, психическое здоровье и эмоциональные проблемы в жизнедеятельности, а также преобладание симпатического отдела нервной системы у пациентов с тяжёлым течением.

2. Впервые проанализированы уровни нейромедиаторов (вазоинтестинального пептида и субстанции P) в зависимости от тяжести бронхиальной астмы, фенотипа и типа дисфункции вегетативной нервной системы и выявлено значимое повышение уровня нейропептидов у пациентов с тяжёлым течением бронхиальной астмы с фенотипом бронхиальная астма в сочетании с ожирением, определена корреляция уровня субстанции P с частотой обострения бронхиальной астмы и отрицательная - между уровнем нейропептидов, функцией внешнего дыхания и показателем средневзвешенной вариации ритмограммы.

3. Впервые изучены ассоциации полиморфизма генов субстанции P (rs2072100), его рецептора (rs3771829), гена вазоинтестинального пептида (rs3823082) и его рецептора (rs896) с тяжестью бронхиальной астмы, фенотипом, тонусом вегетативной нервной системы и уровнем нейропептидов (вазоинтестинального пептида и субстанции P) и выявлены ассоциации с тяжёлым течением бронхиальной астмы и формированием фенотипов бронхиальная астма с ожирением и бронхиальная астма с фиксированной обструкцией.

4. Разработаны прогностические модели для прогнозирования риска развития тяжёлой бронхиальной астмы на основе показателей variability ритма сердца, концентрации вазоинтестинального пептида и субстанции P в плазме крови и полиморфизма генов, кодирующие данные нейропептиды и их рецепторы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты проведенного исследования позволят дополнить концепцию участия нейровегетативных механизмов в патогенезе различных фенотипов тяжёлой бронхиальной астмы. Установленные генетические ассоциации могут быть использованы для выявления повышенного риска развития тяжёлой бронхиальной астмы, а также для прогнозирования риска развития фенотипа бронхиальной астмы с фиксированной обструкцией, БА в сочетании с ожирением и фенотипа бронхиальная астма с поздним дебютом. Разработанные прогностические формулы для расчета риска развития тяжёлой бронхиальной астмы позволят принимать обоснованные персонализированные решения для

каждого пациента, а именно определение объема базисной противовоспалительной терапии и иметь в виду данную категорию больных для возможной инициации генно-инженерной биологической терапии в будущем.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования Борисовой А.И. внедрены в учебный процесс на кафедре пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России в курс лекций, а также в лечебно-диагностический процесс отделения профессиональной аллергологии и иммунореабилитации ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» (раздел «Изучение variability сердечного ритма у пациентов с тяжёлой бронхиальной астмой и клинические особенности течения заболевания в зависимости от типа вегетативной дисфункции»).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 157 машинописных страницах и состоит из введения, 4 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы (208 источников литературы: 74 отечественных и 134 зарубежных авторов). Работа иллюстрирована 46 таблицами и 25 рисунками.

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 7 печатных работ, из них 4 статьи в журналах, включенных в число изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикаций основных результатов диссертации, 1 статья в издании, индексируемом международной базой данных Scopus, 1 статья в издании, индексируемом международной базой данных Web of Science. Получен 1 патент на изобретение.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Группа исследования (I группа) была представлена 80 пациентами (46,0%) с

тяжёлой бронхиальной астмой, средний возраст составил – $57,27 \pm 1,13$ лет, среди них женщин - 56 человек (70,0%), мужчин – 24 (30,0%). Группа сравнения (II группа) включала в себя 94 пациента (54,0%) со среднетяжёлой БА, средний возраст составил $58,41 \pm 0,9$ лет. Среди них женщин – 68 (72,3%), мужчин – 26 (27,6%). I группа в качестве объектов исследования была представлена тремя фенотипами: БА в сочетании с необратимой бронхиальной обструкцией – 23,0% (40 пациентов), БА с поздним дебютом – 39,1% (68 пациентов), БА в сочетании с ожирением – 37,9% (66 пациентов). Было выявлено, что среди пациентов с тяжёлой бронхиальной астмой чаще встречается фенотип бронхиальная астма в сочетании с фиксированной бронхиальной обструкцией (Рисунок 2).

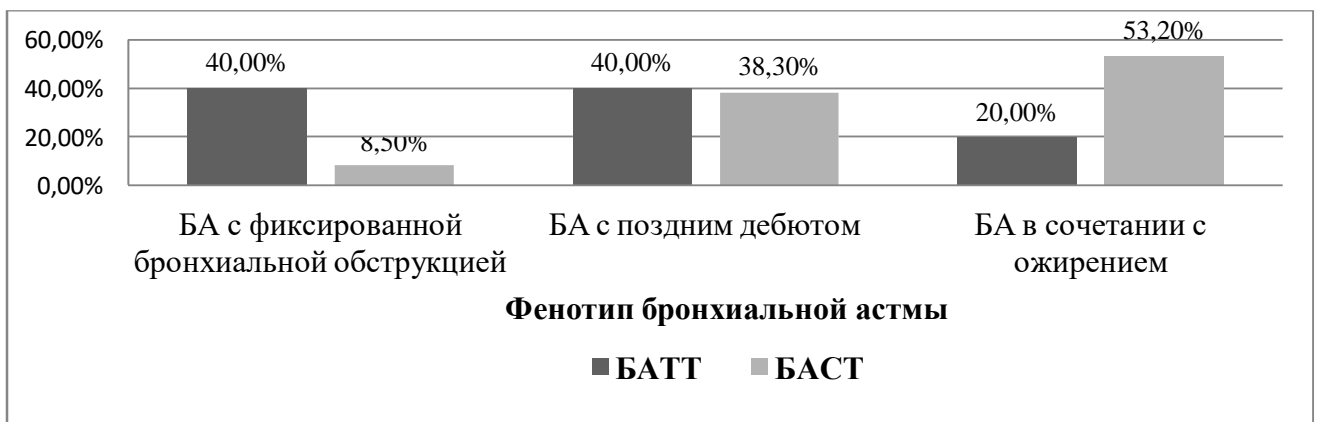


Рисунок 2 – Распределение по фенотипам в зависимости от степени тяжести бронхиальной астмы.

Качество жизни пациентов оценивалось при помощи вопросника SF-36. Также был проведен комплекс клинических, лабораторных и функциональных методов исследования (исследование объективного статуса пациентов с бронхиальной астмой, оценка контроля симптомов бронхиальной астмы с помощью ACQ теста, клинический анализ крови, спирометрия с проведением бронходилатационной пробы). Вариабельность ритма сердца (ВРС) оценивалась методом Холтеровского мониторирования электрокардиограммы (24 часа) (критерий оценки индекс LF/HF) при помощи аппаратно-компьютерного комплекса «Кардиотехника-4000 АД», АОЗТ «ИНКАРТ» (Санкт-Петербург), также использовался опросник Вейна для выявления признаков вегетативной дисфункции. Проводилось определение концентрации общего иммуноглобулина класса IgE методом ИФА (Анализатор иммуноферментный Лазурит, Россия). Определение уровня субстанции P (ИФА набор Human Substance P, SP ELISA Kit,

CSB, США) и вазоинтестинального пептида (ИФА набор Human Vasoactive Intestinal Peptide, VIP, США) в плазме крови проводили методом ИФА. Анализ полиморфизма генов - методом полимеразной цепной реакции с детекцией накопления аллелей в реальном времени. Для проведения ПЦР использовались аликвоты исследуемых образцов ДНК. Амплификация проводилась на приборе Rotor-Gene Q производства компании Quiagen [С. Mathew, 1984. – Vol. 2. – P. 31–34.].

Критерии отбора пациентов

Критериями включения пациентов в исследование являлись: наличие диагноза БА продолжительностью не менее 6 месяцев; возраст старше 18 лет; наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании.

Критериями исключения из исследования: иные заболевания дыхательной системы, кроме БА, сопровождающиеся бронхообструктивным синдромом; тяжелые сопутствующие заболевания печени и почек с развитием печеночной или почечной недостаточности, сахарный диабет, онкологические заболевания, диффузные заболевания соединительной ткани; беременность и лактация; наличие в анамнезе психических заболеваний.

Результаты и обсуждения

Длительность бронхиальной астмы у пациентов с тяжёлым течением заболевания составила $14,47 \pm 1,13$ лет, что статистически значимо выше, чем у больных со среднетяжёлой степенью тяжести - $10,96 \pm 0,87$ ($p=0,010$). Было определено, что у пациентов с БАТТ значимо чаще возникают обострения БА – $6,03 \pm 0,38$, в сравнении с БАСТ – $2,74 \pm 0,09$ ($p=0,01$). Анализ функции внешнего дыхания выявил, что у пациентов с БАТТ ОФВ₁, МОС₂₅, МОС₅₀, МОС₇₅ и Индекс Тиффно значимо ниже в сравнении с группой больных с БАСТ (Рисунок 3).

Выявлено, что в группе больных с фенотипом БА с фиксированной бронхиальной обструкцией ишемическая болезнь сердца встречалась в 62,5% случаев, что чаще в сравнении с другими изучаемыми фенотипами ($p=0,011$).

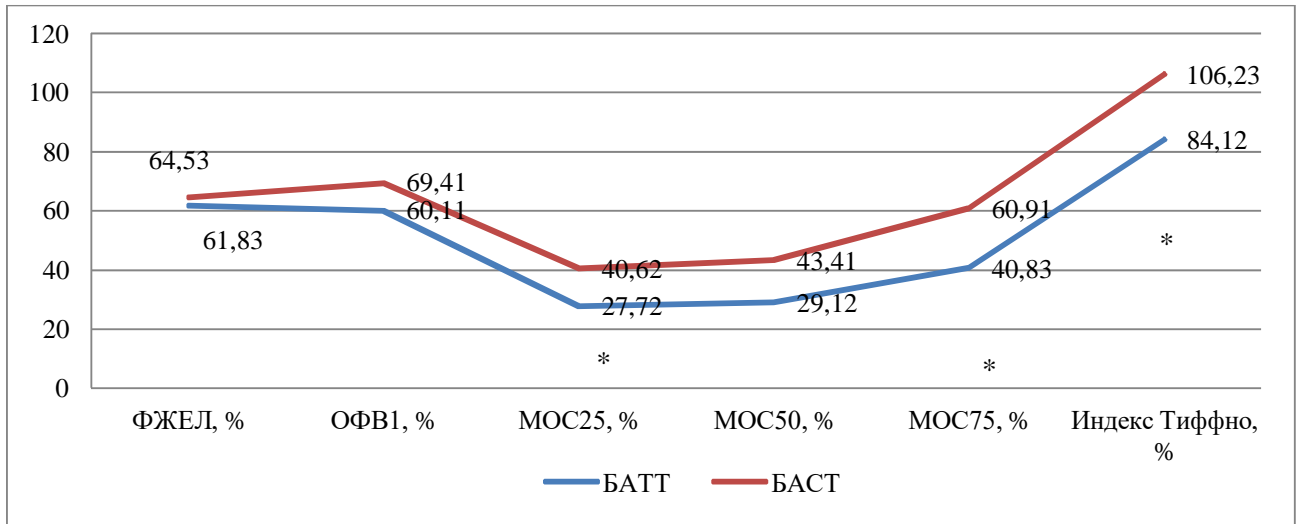


Рисунок 3 – Показатели функции внешнего дыхания у пациентов с различной степенью тяжести бронхиальной астмы (* - статистически значимые различия).

У пациентов с фенотипом БА с фиксированной обструкцией из I группы определено, что обострение БА развивается чаще, чем у пациентов с фенотипом БА с поздним дебютом ($p=0,0004$). В этой группе также были найдены различия по показателям функции внешнего дыхания в зависимости от фенотипа БА (Рисунок 4).

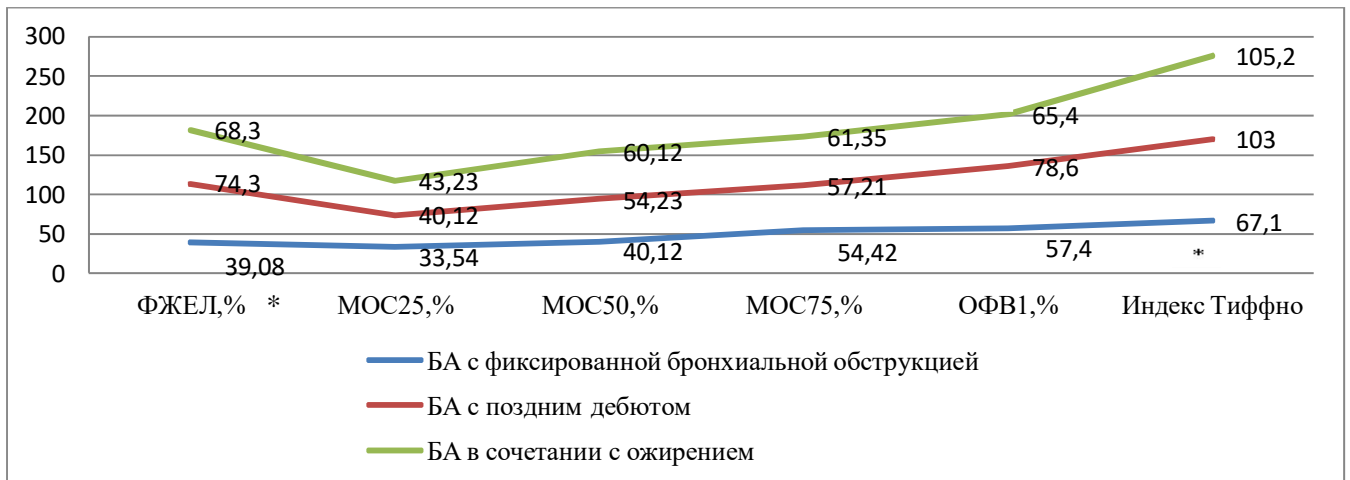


Рисунок 4 - Показатели функции внешнего дыхания у пациентов с тяжёлой бронхиальной астмой в зависимости от фенотипа (* - статистически значимые различия).

У пациентов с бронхиальной астмой выявлено снижение всех показателей качества жизни, представленных в вопроснике SF-36. Больные с БАТТ имели статистически значимо низкие показатели, характеризующие общее здоровье и физическую активность, психическое здоровье и эмоциональные проблемы в жизнедеятельности, в сравнении с группой с БАСТ [3]. У пациентов с фенотипом

бронхиальная астма с ожирением показатели качества жизни по критериям, характеризующие физические проблемы в жизнедеятельности, жизненную и социальную активность были ниже, в сравнении с другими изучаемыми фенотипами, однако статистически значимых различий найдено не было.

В ходе анализа анкетирования, Холтеровского мониторирования электрокардиограммы было выявлено наличие дисбаланса вегетативной нервной системы как в группе с тяжёлым течением БА, так и среди пациентов со среднетяжёлой БА. Анализ отношения LF/HF в зависимости от степени тяжести БА показал, что у всех пациентов с БАТТ преобладает тонус симпатического отдела нервной системы, в сравнении с пациентами с БАСТ, у которых преобладание симпатического отдела было у 89,4% обследуемых ($p=0,002$). Анализ вариабельности сердечного ритма в зависимости от фенотипа выявил, что показатель СВВР, который является количественной характеристикой вариабельности ритма сердца, оказался наиболее низким среди пациентов с фенотипом БА в сочетании с ожирением в сравнении с пациентами с БА с фиксированной обструкцией ($p=0,02$) и поздним дебютом ($p=0,03$). Чем меньше СВВР, тем более низкой можно считать ВРС, что ведёт к снижению сердечной парасимпатической функции и ухудшает сердечно-сосудистый прогноз.

Установлено, что уровень субстанции Р и вазоинтестинального пептида в плазме крови статистически значимо выше у пациентов с бронхиальной астмой, в сравнении с группой контроля. Так среднее значение субстанции Р у пациентов с БА составило $1,52 \pm 0,46$ пг/мл, а в контрольной группе – $0,47 \pm 0,39$ пг/мл ($p=0,036$), уровень вазоинтестинального пептида – $118,74 \pm 7,07$ пг/мл и $91,21 \pm 11,88$ пг/мл соответственно ($p=0,004$) (Рисунок 5).

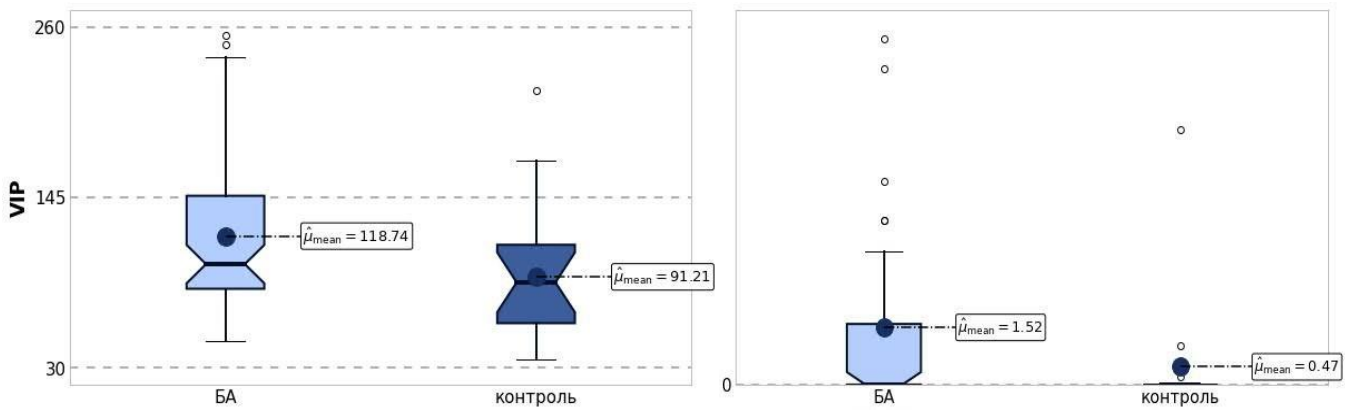


Рисунок 5 – Уровень нейропептидов у пациентов с бронхиальной астмой и контрольной группой, пг/мл.

У пациентов с БАТТ была установлена положительная корреляция между частотой обострения БА и уровнем субстанции P ($r=0,340$; $p=0,018$). Выявлена отрицательная корреляция между уровнем нейропептидов и показателями функции внешнего дыхания (Таблица 1).

Таблица 1 - Корреляционный анализ между уровнем нейропептидов и клинико-функциональными показателями

	Частота обострений	Уровень эозинофилов	ОФВ1	Индекс Тиффно	СВВР
Субстанция P	$r=0,34$; $p=0,02$	$r=0,513$; $p=0,01$	$r=-0,32$; $p=0,04$	$r=-0,29$; $p=0,04$	$r=-0,31$; $p=0,03$
Вазоинтестинальный пептид	$r=-0,31$; $p=0,03$	$r=0,327$; $p=0,06$	$r=-0,25$; $p=0,08$	$r=-0,31$; $p=0,03$	$r=-0,38$; $p=0,007$

Определено, что среднее значение уровня как субстанции P, так и вазоинтестинального пептида в плазме крови у пациентов с преобладанием симпатического отдела нервной системы, оказался выше в сравнении с пациентами с парасимпатикотонией.

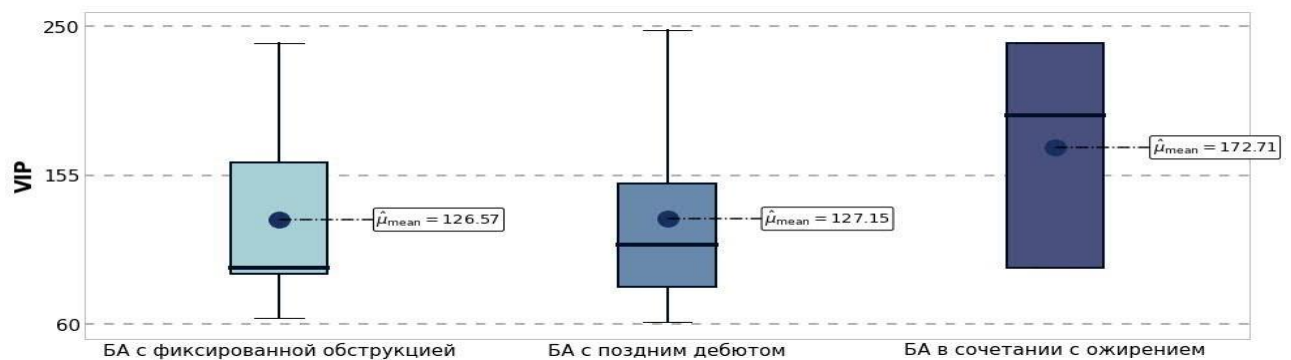


Рисунок 6 – Уровень вазоинтестинального пептида у пациентов с различными фенотипами тяжёлой бронхиальной астмы.

Исследование уровня нейропептидов у пациентов с тяжёлым течением БА в

зависимости от фенотипа показало, что в группе с фенотипом бронхиальная астма с ожирением значимо выше уровень субстанции P ($p=0,004$) и VIP ($p=0,041$) в сравнении с другими изучаемыми фенотипами (Рисунки 6,7).

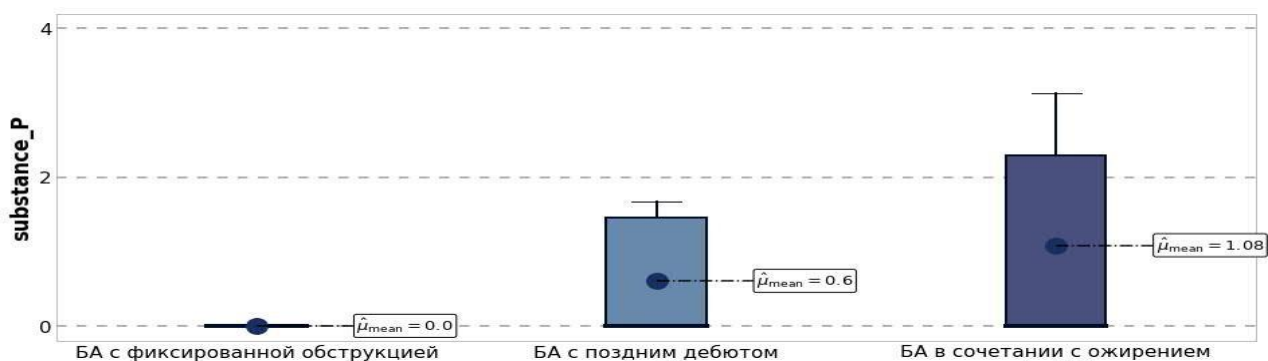


Рисунок 7 – Уровень субстанции P у пациентов с различными фенотипами тяжёлой бронхиальной астмы.

При проведении молекулярно-генетического анализа полиморфизма генов субстанции P, вазоинтестинального пептида и их рецепторов определено, что генотип AG гена субстанции P *TAC1* ассоциирован с тяжёлой БА ($\chi^2=7,11$; $p=0,009$; OR=3,24) и с развитием фенотипа БА с фиксированной бронхиальной обструкцией ($p=0,005$; OR=5,53). Генотип CC гена рецептора субстанции P rs3771829 ассоциирован с развитием фенотипа БА с ожирением ($p=0,033$; OR=6,44). Генотип CC гена VIP rs3823082 ассоциирован с развитием фенотипа БА с поздним дебютом ($\chi^2=5,582$; $p=0,019$; OR=4,0) [5]. Статистически значимое повышение уровня субстанции P и вазоинтестинального пептида в сыворотке крови у пациентов с тяжёлой бронхиальной астмой ассоциированы с гомозиготным генотипом AA полиморфного локуса rs 2072100 гена субстанции P, генотипом CC полиморфного локуса rs3771829 гена рецептора субстанции P, генотипом TT полиморфного локуса rs896 гена рецептора вазоинтестинального пептида. Выявлена молекулярно-генетическая ассоциация между уровнем нейропептидов и полиморфизмом гена субстанции P rs 3771829 и фенотипом бронхиальная астма в сочетании с ожирением. По полученным результатам была предложена гипотеза формирования фенотипа бронхиальная астма в сочетании с ожирением (Рисунок 8).



Рисунок 8 - Гипотеза формирования фенотипа бронхиальная астма в сочетании с ожирением.

Прогностическая модель развития тяжёлой бронхиальной астмы № 1

Для прогнозирования риска развития тяжёлой БА на основе генотипирования полиморфных локусов генов, задействованных в патогенезе БА была построена логистическая регрессия, которая включала SNP_rs896 SNP_rs2072100 SNP_rs3771829 SNP_rs3823082.

Для анализа прогностической значимости, построенной логистической регрессии, был произведен анализ ROC-кривых. В итоговую совокупность вошли 48 пациентов с тяжёлой БА и 54 пациента со среднетяжёлой БА.

Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза тяжести БА и коэффициента риска развития тяжёлой БА, составила $0,731 \pm 0,051$ с 95% ДИ: 0,63-0,83. Модель была статистически значимой $p=0,001$. Пороговое значение коэффициента риска развития тяжёлой БА в точке cut-off – 0,57. При коэффициенте равном или выше указанного, прогнозировался высокий риск тяжёлого течения БА (чувствительность – 70,8%, специфичность – 74,1%). Способ прогнозирования риска развития тяжёлой бронхиальной астмы,

включающий генотипирование методом полимеразной цепной реакции, отличающийся тем, что проводят генотипирование полиморфных локусов rs896 гена рецептора вазоинтестинального пептида, rs2072100 гена субстанции P, rs3771829 гена рецептора субстанции P, rs3823082 гена вазоинтестинального пептида, после чего определяют вероятность развития БАТТ по уравнению

$$\text{логистической регрессии: } y = \frac{\exp(b_0 + x_1 + x_2 + x_3 + x_4)}{1 + \exp(b_0 + x_1 + x_2 + x_3 + x_4)} \quad (1)$$

где: y – вероятность развития ТБА, b_0 - константа, равная -1,763,

x_1 – коэффициент полиморфного локуса rs896, равный -0,181 при генотипе СС, или 0,314 при генотипе СТ, или 0 при генотипе СС,

x_2 – коэффициент полиморфного локуса rs2072100, равный -1,053 при генотипе АА, или 0,790 при генотипе АG, или 0 при генотипе GG,

x_3 - коэффициент полиморфного локуса rs3771829, равный 1,316 при генотипе СС, или 0 при генотипе СG,

x_4 - коэффициент полиморфного локуса rs3823082, равный -0,168 при генотипе СС, или 0,413 при генотипе СТ, или 0 при генотипе ТТ, и при значении вероятности 0,57 и больше прогнозируют высокий риск развития тяжёлой бронхиальной астмы.

Прогностическая модель развития тяжёлой бронхиальной астмы № 2

Прогноз тяжести БА оценивался при помощи модели «Дерево решений», построенной с помощью библиотеки Scikit-learn в программе Jupyter notebook на языке Python 3.9. «Дерево решений» было построено с целью прогнозирования степени тяжести БА. Были проанализированы результаты обследования 104 человека. Для построения данной модели были использованы следующие параметры: показатели вариабельности ритма сердца, уровень субстанции P, VIP и 4 генотипа: rs896, SNP rs2072100, SNP rs3771829, SNP rs3823082. По результатам наших расчётов мы рекомендуем модель, включающую именно эти параметры в связи с ее большей вероятностью прогнозирования.

Данная модель визуализируется в качестве диалогового окна, куда вводят цифровые значения показателей вариабельности ритма сердца, уровня субстанции P и VIP и 4 генотипа: rs896, rs2072100, rs3771829, rs3823082. По итогу происходит расчёт данных и на экране отображается высокий или низкий риск развития БАТТ.

В процессе разработки способа прогнозирования риска развития БАТТ было предложено несколько моделей: учитывающие результаты только генетического исследования, генетические и уровень нейропептидов.

Однако модель, включающая 3 компонента: показатели variability ритма сердца, уровень нейропептидов и молекулярно-генетические особенности, обладала большей специфичностью и чувствительностью (Cut-off = 0,3; (чувствительность – 92,3%, специфичность - 100,0%)).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведённого исследования свидетельствуют о клинико-фенотипических особенностях бронхиальной астмы тяжёлого течения в зависимости от дисбаланса вегетативной нервной системы, уровня нейромедиаторов и молекулярно-генетических ассоциаций. Для пациентов с БА характерно наличие вегетативной дисфункции, а тяжёлое течение заболевания ассоциировано с преобладанием симпатического отдела нервной системы. Установлен статистически значимо высокий уровень субстанции P и вазоинтестинального пептида в плазме крови у пациентов с бронхиальной астмой, в сравнении с группой контроля, следует отметить, что у пациентов с БАТТ уровень данных нейропептидов оказался достоверно выше в группе пациентов с фенотипом БА в сочетании с ожирением. Молекулярно-генетический анализ выявил ассоциации между полиморфизмами генов нейромедиаторов, тяжестью и различными фенотипами бронхиальной астмы.

Полученные данные позволили разработать прогностические модели риска развития тяжёлой бронхиальной астмы, что в дальнейшем можно использовать в качестве персонализированного подхода в диагностике БА.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Учитывая, выявленные в ходе исследования результаты анализа показателей variability ритма сердца, уровня нейропептидов, молекулярно-генетические ассоциации и их роль в зависимости от фенотипа и степени тяжести бронхиальной астмы, перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в продолжение изучения участия вегетативной нервной в патогенезе бронхиальной

астмы на выборке пациентов, представленной большим количеством больных.

В связи с наличием низких показателей качества жизни, характеризующих психическое состояние здоровья необходима разработка индивидуальных программ реабилитации таких пациентов совместно с профильными специалистами – психотерапевтами.

Принимая во внимание предложенную гипотезу формирования фенотипа бронхиальная астма в сочетании с ожирением, перспективным видится исследование возможностей применения блокаторов нейрокининовых рецепторов у данной группы пациентов, что позволит обеспечить персонифицированный подход и улучшить качество жизни пациентов с бронхиальной астмой.

ВЫВОДЫ

1. Для больных бронхиальной астмой тяжёлого течения характерно низкое качество жизни по показателям, характеризующим общее здоровье, физическую активность, психическое здоровье и эмоциональные проблемы в жизнедеятельности. Пациенты с тяжёлым течением бронхиальной астмы в 27,5% случаев нуждались в постоянном приеме пероральных глюкокортикоидов.
2. У пациентов с различными фенотипами тяжёлой бронхиальной астмы выявлено преобладание активности симпатического отдела нервной системы. В группе пациентов с тяжёлым течением с фенотипом бронхиальная астма в сочетании с ожирением статистически был значимо ниже показатель средневзвешенной вариации ритмограммы ($1273,52 \pm 96,27$) по сравнению с пациентами с фенотипом с фиксированной обструкцией ($1477,45 \pm 74,43$) и фенотипом бронхиальная астма с поздним дебютом ($1450,74 \pm 93,78$).
3. У всех пациентов с бронхиальной астмой, независимо от фенотипа, установлено статистически значимое повышение в плазме крови уровня нейромедиаторов (субстанции Р и вазоинтестинального пептида). У больных с фенотипом бронхиальная астма в сочетании с ожирением уровень этих нейропептидов был значимо выше в сравнении с другими фенотипами. Выявлена положительная корреляция уровня субстанции Р с частотой обострения бронхиальной астмы ($r=0,34$; $p=0,02$), отрицательная - между уровнем субстанции Р ($r= - 0,32$; $p=0,04$) и функцией внешнего дыхания и уровнем

вазоинтестинального пептида и показателем средневзвешенной вариации ритмограммы ($r = -0,38$; $p = 0,007$).

4. Молекулярно-генетический анализ выявил ассоциации генотипа AG гена субстанции P с развитием тяжёлой бронхиальной астмы ($p = 0,009$; $OR = 3,24$) и фенотипа бронхиальная астма с фиксированной обструкцией ($p = 0,005$; $OR = 5,53$), а генотип CC гена рецептора субстанции P – с фенотипом бронхиальная астма с ожирением ($p = 0,033$; $OR = 6,44$).

5. Разработаны прогностические модели риска развития тяжёлой бронхиальной астмы: логистическая регрессия, включающая результаты генотипирования полиморфных локусов rs896 гена рецептора вазоинтестинального пептида, rs2072100 гена субстанции P, rs3771829 гена рецептора субстанции P и rs3823082 гена вазоинтестинального пептида) (чувствительность – 70,8%; специфичность – 74,1%); «Дерево решений», учитывающее показатели вариабельности ритма сердца, уровень нейропептидов и молекулярно-генетические полиморфизмы субстанции P и вазоинтестинального пептида для прогноза тяжёлой бронхиальной астмы (чувствительность – 92,3%; специфичность – 100,0%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Пациентам с тяжёлой бронхиальной астмой целесообразно проводить комплексное обследование, включающее оценку качества жизни, проведение Холтеровского мониторирования электрокардиограммы с целью анализа показателей вариабельности сердечного ритма. В дальнейшем ведение пациентов с низкими показателями, характеризующие состояние ментального здоровья и низким показателем средневзвешенной вариации ритмограммы, может быть осуществлено совместно с профильными специалистами (кардиологам, психотерапевтам).

Пациентам с бронхиальной астмой с целью прогнозирования тяжести заболевания рекомендовано определение уровня субстанции P и вазоинтестинального пептида в плазме крови.

Для своевременного прогноза риска развития фенотипа бронхиальная астма в сочетании с ожирением рекомендовано проводить молекулярно-генетическое

исследование с определением полиморфного варианта rs3771829 гена рецептора субстанции Р и для фенотипа бронхиальная астма с фиксированной обструкцией - полиморфного варианта rs2072100 гена субстанции Р.

Для своевременной диагностики и прогнозирования риска развития тяжёлой бронхиальной астмы целесообразно использовать предложенные прогностические модели. Получение вероятности 0,57 и выше, при построении логистической регрессии, прогнозирует высокий риск развития тяжёлой бронхиальной астмы, что следует учитывать при определении объема базисной противовоспалительной терапии и решении вопроса инициации генно-инженерной биологической терапии.

СПИСОК НАИБОЛЕЕ ВАЖНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Борисова А. И.** Ассоциация полиморфного локуса rs3939286 гена IL33 с риском развития и степенью тяжести бронхиальной астмы / Д. О. Каримов, Э. Ф. Идиятулина [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2018. – Т. 12, №4. – С. 612-614.
2. **Борисова А. И.** Нейрогенное воспаление и особенности вегетативной нервной системы у пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от степени тяжести и фенотипа заболевания / Э. Ф. Кабирова, Э. Р. Уразаева [и др.] // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2022. - № 8. – С. 63-68.
3. **Борисова А. И.** Оценка качества жизни пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от фенотипа и степени тяжести заболевания / Е. С. Галимова, Э. Ф. Кабирова [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2022. - Т. 17, №3(22). – С. 1-6.
4. Mukhammadiyeva G. F. Analysis of the *GSTP1* rs1695 polymorphism association with the development of asthma and phenotypic manifestations /, D. O. Karimov, M. M. Ziatdinova, Y. V. Valova, **A. I. Borisova**, A. A. Distanova // J. Asthma. – 2022. – Vol. 59, № 6. – P. 1065-1069.
5. **Борисова А. И.** Ассоциации полиморфного локуса rs 3823082 гена вазоинтестинального пептида у пациентов с различными фенотипами

бронхиальной астмы / Е. С. Галимова, Д. О. Каримов [и др.] // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2023. – № 4. – С. 96–101.

6. **Борисова А. И.** Ассоциации полиморфного варианта rs2072100 гена субстанции Р-ТАС 1 с тяжестью бронхиальной астмы / Е. С. Галимова, Д. О. Каримов [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2023. - № 4 (142). – С. 76–82.

Патент на изобретение

7. Получен 1 патент на изобретение: Способ прогнозирования риска развития тяжелой бронхиальной астмы: патент РФ № 2 803 263 от 11.09.2023г. / **Борисова А. И.**, Каримов Д. О., Бакиров А. Б., Галимова Е.С., Кабирова Э. Ф., Кутлина Т. Г., Валова Я. В., Репина Э. Ф., Абдрахманова Е. Р., Дистанова А. А. – Заявка 2023103417 от 14.02.2023, опубл.11.09.2023; Бюл. № 26.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БА – бронхиальная астма

БАТТ – бронхиальная астма тяжёлого течения

БАСТ – бронхиальная астма среднетяжёлого течения

ГСК - глюкокортикостероиды

ВНС – вегетативная нервная система

ВИП – вазоинтестинальный пептид

ВСР – вариабельность сердечного ритма

ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду

МОС25, МОС50, МОС75 – максимальная объёмная скорость на выдохе

ФВД – функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ – форсированная жизненная ёмкость лёгких

СВВР – показатель средневзвешенной вариации ритмограммы

АСQ – asthma control questionnaire (опросник по контролю симптомов астмы)

GINA – Global Initiative for Asthma (Глобальная инициатива по бронхиальной астме)

М – Mean (среднее значение)

LF/HF –Low Frequency (Низкие частоты)/ High Frequency (Высокие частоты)

SE – Standard Error (Стандартная ошибка)

SP – substance P (субстанция Р)

SNP - Single Nucleotide Polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм)

VIP – vasointestinal peptide (вазоинтестинальный пептид)

Подписано в печать: 19.06.2024
Объем: 1,0 усл.п.л.
Тираж: 100 экз. Заказ № 7255
Отпечатано в типографии «Реглет»
117485, г. Москва, ул. Профсоюзная, д.102, стр. 1
(495) 973-28-32 www.reglet.ru