

**Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Рязанский государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*На правах рукописи*

**Шаханов Антон Валерьевич**

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ NOS1 И NOS3 И  
ОКСИДА АЗОТА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И  
ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ**

14.01.04 – внутренние болезни

Диссертация на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Урясьев Олег Михайлович

Рязань – 2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений .....	4
Введение.....	7
Глава 1. Обзор литературы.....	14
1.1 Бронхиальная астма как глобальная медико-социальная проблема.....	14
1.2 Коморбидность бронхиальной астмы и гипертонической болезни.....	24
1.3 Генетические факторы в патогенезе бронхиальной астмы и гипертонической болезни .....	28
1.4 Оксид азота и его роль при бронхиальной астме и гипертонической болезни	31
Глава 2. Материалы и методы.....	42
2.1 Общая характеристика исследования .....	42
2.2 Исследование функции внешнего дыхания.....	44
2.3 Определение уровня суммарных метаболитов оксида азота.....	46
2.4 Измерение содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе .....	47
2.5 Определение полиморфизмов генов синтаз оксида азота .....	49
2.6 Статистическая обработка полученных результатов .....	50
Глава 3. Клинико-демографическая характеристика исследуемых групп.....	52
Глава 4. Определение метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью .....	58
Глава 5. Определение выдыхаемой фракции оксида азота у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.....	65
Глава 6. Полиморфизм генов NOS1 и NOS3 у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью .....	71
Глава 7. Обсуждение полученных результатов .....	84
Выводы .....	94

Практические рекомендации.....	95
Список литературы .....	96

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ — артериальная гипертензия

АД — артериальное давление

БА — бронхиальная астма

ВОЗ — всемирная организация здравоохранения

ГБ — гипертоническая болезнь

ГМКСФ — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ДАД — диастолическое артериальное давление

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота

ИБС — ишемическая болезнь сердца

ИГКС — ингаляционные глюкокортикостероиды

ИНФ $\gamma$  — интерферон- $\gamma$

ОНООН — ген пероксинитритной кислоты

ПЦР — полимеразная цепная реакция

РААС — ренин-ангиотензин-альдостероновая система

СГКС — системные глюкокортикостероиды

ФВД — функция внешнего дыхания

ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь лёгких

АСЕ — ген ангиотензинпревращающего фермента

ADRB2 — ген  $\beta$ 2-адренорецепторов

AGT — ген ангиотензиногена

AGTR1 — ген ангиотензиновых рецепторов 1-го типа

AGTR2 — ген ангиотензиновых рецепторов 2-го типа

ALOX5 — ген арахидонат 5-липоксигеназы

ATS — Американское Торакальное Общество

CYP11B2 — ген альдостеронсинтазы

DALY — Disability Adjusted Life Year

ECCS — European Community for Coal and Steel / Европейское Объединение Стали и Угля

EDN1 — ген эндотелина-1

eNOS — эндотелиальная синтаза оксида азота

ERS — European Respiratory Society / Европейское респираторное общество

FCER1B — ген  $\beta$ -цепи высокоаффинного рецептора IgE

FDA — управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов

FeNO — выдыхаемая фракция оксида азота

GINA — Global Initiative for Asthma

GRL — ген рецептора глюкокортикоидов

HLA — ген главного комплекса гистосовместимости

HRF — ген фактора высвобождения гистамина

HTR2A — ген рецептора серотонина

IL — интерлейкин

IL4RA — ген  $\alpha$ -цепи рецепторов ИЛ-4

IL5RA — ген  $\alpha$ -цепи рецепторов ИЛ-5

iNOS — макрофагальную синтаза оксида азота

JAK1 — ген тирозинкиназы 1 семейства Jak

JAK3 — ген тирозинкиназы 3 семейства Jak

LTC4S — ген лейкотриен C4-синтазы

MGF — ген фактора роста тучных клеток

NFKB1 — ген субъединицы 1 ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B

NFYB —  $\beta$ -субъединицы ядерного фактора транскрипции Y

nNOS — нейрональная синтаза оксида азота

NO — оксид азота

NOS — ген синтазы оксида азота

NOS1 — ген нейрональной синтазы оксида азота

NOS2 — ген макрофагальной синтазы оксида азота

NOS3 — ген эндотелиальной синтазы оксида азота

NO-синтаза — синтаза оксида азота

ONOO<sup>-</sup> — пероксинитритный анион

PAFAN — ген ацетилгидролазы фактора активации тромбоцитов

STAT6 — ген трансмиттера сигнала и активатора транскрипции 6

TCRA — ген  $\alpha$ -субъединицы антигенного рецептора Т-клеток

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Несмотря на все усилия, в мире наблюдается рост заболеваемости болезнями органов дыхания [119]. По распространённости среди заболеваний дыхательной системы второе место после хронической обструктивной болезни лёгких занимает бронхиальная астма (БА), что определяет её лидирующее место среди значимых проблем мирового здравоохранения. Бронхиальная астма поражает людей всех возрастов и этнических групп. Общее число людей, страдающих бронхиальной астмой, в мире достигает 300 миллионов человек.

Не меньший вес среди проблем внутренних болезней имеет и артериальная гипертензия (АГ), а в особенности гипертоническая болезнь (ГБ). Гипертоническая болезнь прямо или косвенно является одной из основных причин инвалидизации и смертности населения, выступая в качестве этиологического фактора коронарных, цереброваскулярных и реноваскулярных заболеваний. В России, как и в большинстве других стран мира, гипертоническая болезнь признана пандемией, что связано с её широкой распространённостью, которая в нашей стране достигает 39-40% по данным скрининговых исследований [2].

В настоящее время внимание исследователей всего мира всё больше привлечено к проблеме коморбидности [14, 94, 101, 106]. Изучение коморбидной патологии способствует более детальному пониманию механизма развития болезней и разработке патогенетически обоснованной терапии, что особенно важно в отношении широко распространённых и социально-значимых заболеваний, к которым относятся, в первую очередь, болезни сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

Большой интерес представляет изучение сочетанной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Среди пациентов, страдающих БА более половины страдают различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, среди которых основное место занимает гипертоническая болезнь [5]. Доля

пациентов с бронхиальной астмой, страдающих артериальной гипертензией, составляет от 12.9% до 37.6% и увеличивается с возрастом. Многие вопросы, касающиеся клинического течения и патогенеза коморбидной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни, остаются открытыми. Однако не вызывает сомнения существование патогенетических механизмов взаимного влияния между этими двумя заболеваниями, способных приводить к взаимному отягощению и прогрессированию сочетанной патологии.

Одним из возможных общих звеньев патогенеза БА и ГБ являются нарушения выработки оксида азота (NO). Оксид азота принимает участие во множестве физиологических процессов. Так его синтез в клетках эндотелия регулирует тонус сосудов, кровоток и давление, а также контролирует адгезию тромбоцитов и пролиферацию гладкомышечных клеток [69]. Снижение выработки оксида азота эндотелием приводит к развитию эндотелиальной дисфункции и повышению артериального давления [19]. Показано, что оксид азота выполняет роль дополнительного регулятора работы эпителия дыхательных путей, а в малых концентрациях препятствует бронхоспазму [35]. Также оксид азота участвует в регуляции ионного транспорта и барьерной функции в эпителии [79, 126, 153, 154], синхронного движения ресничек в верхних дыхательных путях, секреции слизи и мукоцилиарного клиренса [75, 92, 135]. Кроме того, при бронхиальной астме NO участвует в развитии воспаления, влияя на продукцию противовоспалительных медиаторов в эпителии и ингибируя функциональную активность Т-лимфоцитов [124].

В организме человека оксид азота синтезируется группой цитохром P-450-подобных гемопротеинов из L-аргинина – синтаз оксида азота (NO-синтаз), включающих три изофермента, кодируемых различными генами [76]. Результаты генетических исследований показывают участие генов NO-синтаз в патогенезе множества заболеваний, среди которых БА и ГБ.

Таким образом, способность NO выступать в качестве физиологического регулятора или же возможного токсического агента может быть обусловлена активностью изоформ синтазы оксида азота, которая различается при наличии тех



или иных мутаций генов NOS. Среди таких мутаций интересен мононуклеотидный полиморфизм гена NOS1 – 84G/A и гена NOS3 – 786C/T.

Представляется весьма актуальным изучение клинического значения оксида азота и полиморфизма генов NOS1 и NOS3 у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.

### **Цель исследования**

Оценить клиническое значение полиморфизма генов NOS1 и NOS3 и оксида азота у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.

### **Задачи исследования**

- 1) изучить клинико-функциональные особенности сочетанного течения бронхиальной астмы смешанной формы и гипертонической болезни;
- 2) оценить клиническое значение уровней метаболитов оксида азота в крови у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни;
- 3) изучить особенности показателей выдыхаемой фракции оксида азота у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни;
- 4) оценить клиническое значение полиморфизмов генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни;
- 5) изучить взаимосвязь полиморфизма генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни с уровнем метаболитов оксида азота в крови и выдыхаемой фракцией оксида азота.

### **Научная новизна**

- 1) впервые изучено клиническое значение уровней метаболитов оксида азота в крови у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни и показана их связь с развитием сочетанной патологии;

2) впервые проведена комплексная оценка показателей оксида азота у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни, включающая уровень метаболитов оксида азота в крови и измерение выдыхаемой фракции оксида азота;

3) впервые изучена распространённость полиморфизма генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни в Рязанской области и изучено клиническое значение.

### **Теоретическая значимость работы**

Полученные результаты расширяют представление о роли генетических факторов и оксида азота в формировании сочетанной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни и особенностях их клинического течения. Полученные данные могут послужить основой для проведения дальнейших исследований, посвящённых изучению коморбидной патологии бронхиальной астмы.

### **Практическая значимость работы**

Результаты исследования позволили оценить распространённость полиморфизмов генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью. Выявление связи уровня метаболитов оксида азота в крови с сочетанной патологией бронхиальной астмы и гипертонической болезнью позволит провести дальнейшие исследования и после разработки референтных значений применять данную методику в целях ранней диагностики гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой. Полученные сведения о связи T-аллеля полиморфизма NOS3 786C/T с повышенным риском развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой могут быть использованы для выявления больных из группы повышенного риска.

### **Степень достоверности результатов**

Достоверность и обоснованность результатов исследования базируется на глубоком анализе литературы по теме диссертации, достаточном объёме исследуемой выборки, строгом соблюдении применяемых методик и тщательной обработке полученных результатов с применением современных методов статистической обработки данных. Достоверность первичной документации исследования подтверждена их экспертной оценкой.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Течение гипертонической болезни у больных со смешанной формой бронхиальной астмы сопровождается более высокой степенью артериальной гипертензии по сравнению с больными с изолированной гипертонической болезнью. Наличие смешанной формы бронхиальной астмы у больного с гипертонической болезнью препятствует достижению целевых показателей артериального давления.

2. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных сочетанной патологией смешанной формы бронхиальной астмы и гипертонической болезни находится на промежуточных значениях относительно больных с изолированной бронхиальной астмой, имеющих наивысший уровень, и больных с изолированной гипертонической болезнью, у которых были зафиксированы наименьшие значения. Уровень метаболитов оксида азота в крови изменяется разнонаправленно, повышаясь при смешанной форме бронхиальной астмы и снижаясь при гипертонической болезни.

3. Сочетанное течение бронхиальной астмы смешанной формы и гипертонической болезни не оказывает влияния на уровень выдыхаемой фракции оксида азота по сравнению с изолированной бронхиальной астмой.

4. В развитии коморбидной патологии смешанной формы бронхиальной астмы и гипертонической болезни принимает участие полиморфизм NOS3 786С/Т. Относительный риск развития коморбидной патологии смешанной формы бронхиальной астмы и гипертонической болезни по сравнению с

изолированной бронхиальной астмой в 2,4 раза выше у носителей Т-аллели полиморфизма NOS3 786С/Т (95% CI: 1,04 – 5,56).

5. Уровень метаболитов оксида азота в крови ассоциирован с полиморфизмом NOS3 786С/Т, при этом наличие С-аллели полиморфизма сопровождается более низкими показателями по сравнению с Т-аллелью.

### **Внедрение результатов в практику**

Результаты работы внедрены в лечебно-диагностический процесс пульмонологического отделения ГБУ РО «Областная клиническая больница», терапевтического отделения госпиталя ФКУЗ «МСЧ МВД России по Рязанской области», терапевтического отделения ГБУ РО «Городская клиническая больница № 5», внедрены в учебный процесс кафедры факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней и кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертации представлены на ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова (Рязань, 2016), всероссийской образовательно-научно-практической конференции студентов и молодых специалистов с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2017), межкафедральном совещания кафедр внутренних болезней и поликлинической терапии, госпитальной терапии, терапии ФДПО с курсом семейной медицины, факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (Рязань, 2017).

### **Объём и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 114 страницах машинописного текста, иллюстрирована 33 таблицами и 17 рисунками. Состоит из введения, 7 глав,

выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 171 источник, в том числе 73 отечественных и 98 зарубежных авторов.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе 6 – в журналах, включенных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в разработке дизайна исследования и его реализации. Автором работы лично проанализированы и систематизированы отечественные и иностранные публикации по теме диссертационного исследования. При участии автора сформулирована тема исследования, определены его цели и задачи, разработаны методы его проведения. Автором самостоятельно разработана первичная документация по исследованию, выполнен осмотр пациентов с бронхиальной астмой и гипертонической болезнью. Самостоятельно автором проведена спирометрия и измерение выдыхаемой фракции оксида азота у больных. При участии автора выполнено измерение уровня метаболитов оксида азота в крови и оценка полиморфизма генов NOS1 и NOS3. Автором самостоятельно разработана и заполнена электронная база данных исследования, проведена статистическая обработка полученных данных. Автором в соавторстве подготовлены и опубликованы статьи по теме диссертации.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В настоящее время по всему миру внимание исследователей всё больше привлекает проблема коморбидности [14, 94, 101, 106]. Термин «коморбидность» был предложен Фейнштейном в 70-х годах XX века от латинского *co* – вместе и *morbus* – болезнь. Тогда это понятие характеризовало наличие дополнительной клинической картины, которая уже существует или может появиться самостоятельно, помимо текущего заболевания, и всегда отличается от него [113]. В своей работе Фейнштейн обратил внимание на ухудшение прогноза течения заболевания у пациентов, одновременно страдающих несколькими заболеваниями. Дальнейшие исследования установили причины коморбидности: анатомическая близость, единый патогенетический механизм, общая причинно-следственная связь и формирование осложнений [14].

Риск развития коморбидных заболеваний увеличивается с возрастом, что отчасти объясняется инволюционными процессами в организме, а отчасти длительностью воздействия вредных факторов окружающей среды и условий жизни. Увеличение продолжительности жизни, отмечающееся в последние годы, способствует старению населения и ведёт к увеличению распространённости коморбидных заболеваний. Всё это определяет понимание того, что проблема коморбидности имеет недооцененное значение и представляет собой одну из самых сложных медицинских проблем.

Изучение вариантов коморбидной патологии способствует более детальному пониманию патогенеза болезней и разработке патогенетически обоснованной терапии. Это особенно важно в отношении широко распространённых и социально-значимых заболеваний, к которым относятся, в первую очередь, заболевания сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

### **1.1 Бронхиальная астма как глобальная медико-социальная проблема.**

Вопреки всем усилиям, распространённость заболеваний дыхательной системы в мире неуклонно растёт [70, 119]. Результаты эпидемиологических

исследований свидетельствуют о том, что распространённость хронических заболеваний органов дыхания в несколько раз превышает данные официальной статистики [25]. В настоящее время среди заболеваний, являющихся причинами инвалидности и смертности, бронхолёгочная патология входит в первую тройку. [28, 120]. Исходя из этого Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) относит болезни органов дыхания к числу приоритетных, наравне с онкологическими заболеваниями и болезнями системы кровообращения. По распространённости среди заболеваний дыхательной системы второе место после хронической обструктивной болезни лёгких занимает бронхиальная астма, что определяет её лидирующее место среди значимых проблем мирового здравоохранения.

Бронхиальная астма поражает людей всех возрастов и этнических групп. Общее число людей, страдающих этим тяжёлым инвалидизирующим заболеванием дыхательных путей, в мире достигает 300 миллионов человек. Используя стандартизированные методики оценки распространённости бронхиальной астмы установлено, что её распространённость в разных странах находится в диапазоне от 1 до 18% [рисунок 1] [72, 164]. Так в Северной Америке

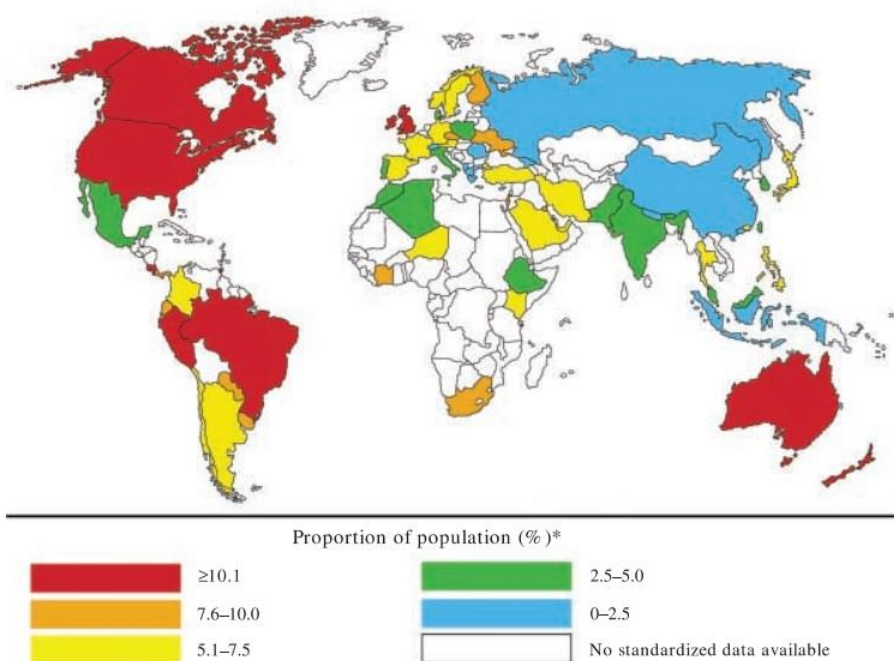


Рисунок 1 – Распространённость бронхиальной астмы

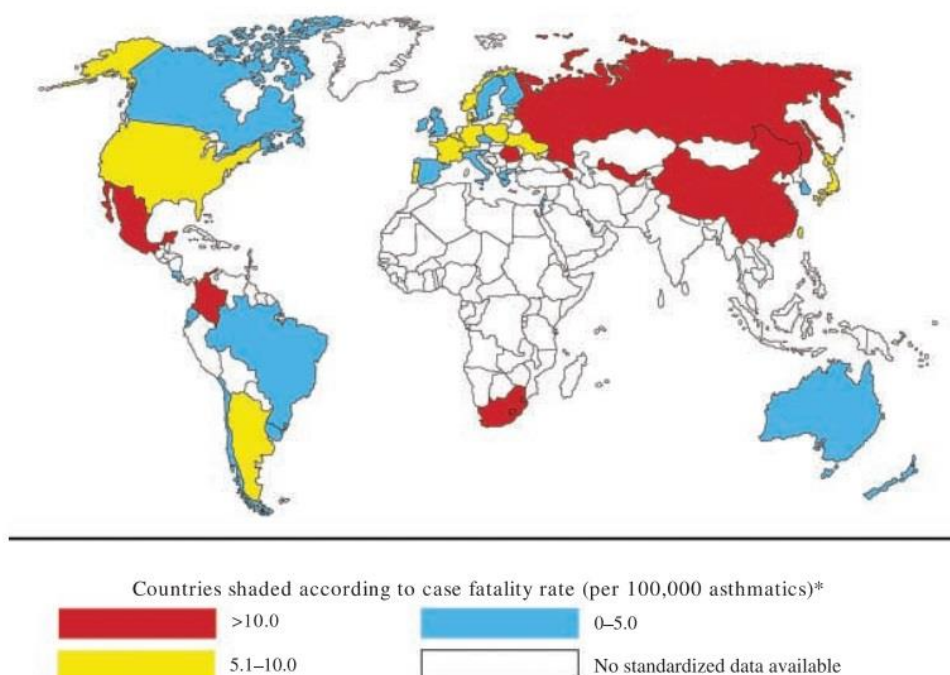
(цит. по: Masoli M. et al., 2004)

бронхиальной астмой страдает около 10% населения [91], а в Великобритании – каждый пятый ребёнок и каждый восьмой взрослый житель. Столь высокие показатели распространённости бронхиальной астмы получены в результате стандартизированных эпидемиологических исследований, в то время как в странах, где подобные исследования не проводились, проблема бронхиальной астмы не считается столь актуальной. Так, во многих странах, включая и Россию, частота симптомов бронхиальной астмы, выявляемая при эпидемиологических исследованиях, определяется в 1,5-6 раз выше, чем диагностированная бронхиальная астма, что говорит о гиподиагностике этого заболевания. Например, эпидемиологическое исследование, проведённое в начале 2000-х годов в Свердловской области, показало, что распространённость БА, полученная эпидемиологическими методами, превышает полученную в результате регистровых исследований в 4 раза [72]. В целом по данным некоторых эпидемиологических исследований распространённость бронхиальной астмы в России достигает 16% [26]. Преимущественно высокая заболеваемость бронхиальной астмой наблюдается в развитых странах, таких как США, Канада, Австралия и Великобритания, в то время как наибольшая смертность от бронхиальной астмы наблюдается в странах СНГ, Китае и России [рисунок 2]. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) по состоянию на 2012 год с бронхиальной астмой ежегодно связано до 25 млн лет жизни, скорректированных по нетрудоспособности (показатель DALY – Disability Adjusted Life Year, оценивает суммарное «бремя» болезни и представляет собой линейную сумму потенциальных лет жизни, утраченных из-за преждевременной смерти и нетрудоспособности) [118]. Ущерб, наносимый бронхиальной астмой, составляет 0,9% от общего по всему миру, связанного с болезнями. [118, 164].

По данным эпидемиологических исследований в настоящее время в ряде стран отмечается увеличение распространённости бронхиальной астмы [116, 148, 170], в других же странах увеличение распространённости наблюдалось раньше, а в данный момент тенденция стабилизировалась [156, 160].



В последние десятилетия заболеваемость бронхиальной астмой в Российской Федерации выросла более чем в 3 раза и составила 902,8 на 100000 населения (2007 г.), при диапазоне показателей от 98,7 на 100000 населения (Чеченская республика) до 1444,5 (Ярославская область), что связано с различными климатогеографическими и социально-экономическими условиями внешней среды. Число больных бронхиальной астмой ежегодно увеличивается в среднем на 7% согласно статистическим данным Министерства здравоохранения РФ. Такое увеличение не обязательно свидетельствует об истинном росте заболеваемости, а может говорить об улучшении качества диагностики бронхиальной астмы, которое в нашей стране наблюдается в связи с внедрением на федеральном уровне глобальной стратегии по выявлению и лечению бронхиальной астмы. Так, например, в эпидемиологическом исследовании Бельтюкова Е. К., показано, что улучшение диагностики БА с введением регистра больных бронхиальной астмой в начале 2000-х годов привело к значительному росту распространённости астмы, максимум которого был достигнут в 2008 году [7]. Однако в дальнейшем в этом исследовании показано снижение



*Рисунок 2 – Смертность от бронхиальной астмы  
(цит. по: Masoli M. et al., 2004)*

распространённости БА, сопровождающееся низким числом первично установленных диагнозов. Это говорит в пользу того, что ранее отмечающийся рост заболеваемости был связан с нарастанием качества диагностики БА, которое достигло уровня плато к 2008 году по данным проведённого исследования.

Кроме роста распространённости заболеваемости в последние годы отмечается «старение» бронхиальной астмы. Большое число случаев заболеваний бронхиальной астмой в последние годы регистрируются после 50 лет, встречаются и случаи развития заболевания после 70 лет [93]. Более того отмечается увеличение распространённости бронхиальной астмы с увеличением возраста во всех возрастных группах [93]. Бронхиальная астма, развившаяся во взрослом возрасте, характеризуется наиболее неблагоприятным течением, часто приводящим к развитию осложнений и инвалидности [21]. Практически три четверти больных БА пожилого возраста страдают хотя бы одним сопутствующим хроническим заболеванием [88]. Пожилые пациенты часто имеют более выраженную бронхообструкцию и меньший процент обратимости по сравнению с молодыми, что затрудняет диагностику [87, 144].

Немаловажным является и тот факт, что в России в настоящее время большинство больных страдают тяжёлыми формами бронхиальной астмы, обуславливающими высокий процент утраты трудоспособности и тяжёлое социально-экономическое бремя [28]. Так по данным национального исследования качества медицинской помощи больным бронхиальной астмой в России у 71% пациентов выявляется тяжёлое течение бронхиальной астмы, при этом отмечается, что более половины врачей недооценивают тяжесть заболевания [13].

Таким образом, необходимо признать, что бронхиальная астма представляет собой глобальную медико-социальную проблему, решение которой требует мобилизации ресурсов научно-медицинского сообщества и органов управления здравоохранением по всему миру.

Согласно современному определению бронхиальная астма является гетерогенным заболеванием, характеризующимся хроническим воспалением

дыхательных путей, наличием респираторных симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди и кашель, которые варьируют по времени и интенсивности и проявляются вместе с вариабельной обструкцией дыхательных путей [66]. Целью лечения бронхиальной астмы, согласно современным рекомендациям, является достижение контроля заболевания и его длительное поддержание с применением минимально возможного объёма терапии. Кроме этого лечение должно способствовать улучшению переносимости терапии и снижению побочных эффектов и экономических затрат [120].

Впервые термин «контроль», определяющий цели терапии, был представлен в глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы 2006 г. (Global Initiative for Asthma – GINA) и означал управление клиническими проявлениями болезни. Понятие контроля астмы включает в себя два компонента. Первый – контроль «сегодня» – отсутствие симптомов и потребности в короткодействующих бронхолитиках, нормальные значения функции внешнего дыхания, а также способность пациента к сохранению активного образа жизни. И второй – контроль «завтра» направленный на уменьшение риска обострения, ухудшения лёгочной функции и неблагоприятных побочных эффектов в будущем [120]. Для достижения и поддержания контроля рекомендован регулярный длительный приём препаратов, направленных на подавление воспаления в слизистой оболочке дыхательных путей, что является базисом современного лечения бронхиальной астмы. [120]. Согласно современным рекомендациям «золотым стандартом» базисной терапии бронхиальной астмы являются ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС) в комбинации с  $\beta_2$ -агонистами, которые могут быть заменены на ингаляционные глюкокортикостероиды в монотерапии. Другие препараты для контроля БА – антагонисты лейкотриеновых рецепторов, кромоны, длительнодействующие антихолинэргические и анти-IgE препараты в терапии бронхиальной астмы у взрослых на сегодня играют лишь дополнительное значение [120].

В зависимости от достижения уровня контроля GINA рекомендует классифицировать бронхиальную астму на хорошо контролируемую, частично контролируемую и неконтролируемую [таблица 1].

Таблица 1 – Классификация бронхиальной астмы по уровню контроля

За последние 4-е недели у пациента отмечались:	Уровень контроля		
	Хорошо контролируемая	Частично контролируемая	Неконтролируемая
Дневные симптомы чаще, чем 2 раза в неделю	Ничего из перечисленного	1-2 из перечисленного	3-4 из перечисленного
Ночные пробуждения из-за БА			
Потребность в препарате для купирования симптомов чаще, чем 2 раза в неделю			
Любое ограничение активности из-за БА			

Важность достижения контроля над бронхиальной астмой обусловлена значительным увеличением экономических затрат на ведение пациентов, не достигающих контролируемого течения заболевания. В то же время возможность улучшения контроля у этих пациентов позволяет значительно снизить социально-экономическое бремя и оптимизировать затраты, значительно уменьшив долю инвалидности и смертности среди больных БА [104, 149, 167].

Распределение больных бронхиальной астмой по степени контроля над заболеванием весьма значительно отличается в разных странах [121]. Наибольший интерес в эпидемиологическом плане представляет распространённость тяжёлой неконтролируемой БА, которая по данным проведённых исследований достигает 18% в западной Европе, 19 % в США и

даже 32% в центральной Европе [84, 85, 133, 171]. Среди пожилого населения доля неконтролируемой бронхиальной астмы достигает 30% даже в относительно благополучных европейских странах, что представляет собой серьёзную проблему [152]. Не менее печальным является и тот факт, что даже в группе пациентов молодого возраста неконтролируемая бронхиальная астма остаётся в числе причин, приводящих к летальному исходу в развитых европейских странах [159]. Однако, даже столь высокие значения ранее проведённых исследований могут быть сильно занижены. Так, крупное исследование SERENA, проведённое в Италии в 2010-2011 годах и специально направленное на выявление доли пациентов, не достигающих полного контроля в реальной клинической практике, оценивает долю неконтролируемой БА в 51,3% [80].

По данным многоцентрового исследования «НИКА» в Российской Федерации 42% больных остаются неконтролируемыми, а только у 23% пациентов выявляется полный контроль над заболеванием [4]. Обращает внимание, что даже среди пациентов с лёгким течением бронхиальной астмы полный контроль достигается лишь у 39%. Кроме того, среди больных с контролируемым течением бронхиальной астмы у 42% в анамнезе были госпитализации по причине астмы или сохранялась потребность в вызове скорой медицинской помощи для купирования тяжёлых приступов астмы. Таким образом, полный контроль над астмой, включающий контроль над симптомами и отсутствие обострений в течение года достигался только у 13% больных [4]. Несмотря на широкое применение в реальной клинической практике высокоэффективных лекарств, таких как ИГКС и антилейкотриеновые препараты, в России у 10-20% пациентов диагностируется тяжёлое течение БА с признаками резистентности к терапии [48]. Так резистентность к ИГКС достигает 20%, к  $\beta_2$ -агонистам до 15%, к блокаторам лейкотриеновых рецепторов – 40%. Около 10% больных с тяжёлой астмой не отвечают на традиционную терапию, включая высокие дозы ИГКС, а 1% пациентов нуждаются в постоянной терапии системными глюкокортикостероидами (СГКС) [47].

Среди причин формирования резистентной к терапии бронхиальной астмы выделяют персистенцию эозинофильного воспаления, реализацию наследственной предрасположенности, ремоделирование бронхов и развитие резистентности к глюкокортикостероидам [62, 95, 131].

Одной из причин неполного достижения контроля является клиническая и патогенетическая гетерогенность бронхиальной астмы. В настоящее время некоторые исследователи считают, что бронхиальная астма не является самостоятельным заболеванием, а представляет собой «зонтик» объединяющий группу сходных по клинической картине болезней, отличающихся участием различных генетических и средовых факторов [143]. Гетерогенность бронхиальной астмы проявляется существованием различных фенотипов заболевания, часть из которых может быть выделена в традиционной клинической практике [66]. Под фенотипом понимают видимые характеристики организма, обусловленные взаимодействием его генетической составляющей и факторов внешней среды [40]. Выделение фенотипов бронхиальной астмы подразумевает существование группы больных, объединённых общими клиническими и/или биологическими признаками заболевания [39]. Среди наиболее известных фенотипов выделяют аллергическую бронхиальную астму, неаллергическую бронхиальную астму, бронхиальную астму с поздним дебютом, бронхиальную астму с фиксированной обструкцией дыхательных путей и бронхиальную астму с ожирением [66]. Кроме особенностей клинической картины фенотип играет роль в ответе на базисную терапию, так пациенты с аллергической бронхиальной астмой обычно хорошо отвечают на терапию ингаляционными глюкокортикостероидами, в то время как пациенты с неаллергической бронхиальной астмой могут не отвечать на терапию ИГКС. Выявление фенотипических особенностей заболевания является важным элементом подбора методов диагностики и лечения, оптимально подходящих для конкретной группы пациентов, то есть одним из компонентов персонализированной медицины. Таким образом, целью фенотипирования пациентов является оптимизация профилактики, диагностики и лечения [39, 146].

Фенотип бронхиальной астмы у пациента формируется на основе взаимодействия генотипа и факторов окружающей среды. Участие генетических особенностей в реализации фенотипа бронхиальной астмы послужило поводом к выделению генетических фенотипов бронхиальной астмы. На данный момент описано более 50 генов, взаимодействие которых определяет фенотипические особенности бронхиальной астмы [17, 68]. Показано, что различные гены взаимодействуют между собой, увеличивая или уменьшая риск развития заболевания. Это указывает на важность изучения влияния генетических факторов на развитие бронхиальной астмы и их роли в патогенезе заболевания, но на данный момент не может быть широко использовано в клинической практике [33].

Фенотип заболевания акцентирует внимание на особенностях клинической картины, но не этиологии и патогенеза заболевания, поэтому в последние годы было предложено выделять эндотипы бронхиальной астмы – подтипы болезни, выделение которых основано на определении биомаркеров, гистопатологии, генетических факторов, и иных показателей физиологии лёгких [33, 86].

Выделение фенотипов и эндотипов бронхиальной астмы позволяет целенаправленно группировать пациентов для эпидемиологических исследований, что способствует более точному определению показателей распространённости, заболеваемости и смертности, а также оценке ресурсов здравоохранения, направленных на ведение отдельных групп пациентов [168]. Повсеместное повышение интереса к фенотипической и эндотипической гетерогенности бронхиальной астмы привело к увеличению числа исследований, направленных на разработку и изучение персонализированной терапии бронхиальной астмы. [120]. Ожидается, что использование подходов персонализированной медицины к выбору терапии бронхиальной астмы будет способствовать повышению эффективности лечения, снижению экономических затрат, связанных с бронхиальной астмой [168]. Для каждого же отдельного пациента в будущем определение его генетических характеристик и биомаркеров

будет способствовать наиболее оптимальной диагностике и фармакотерапии бронхиальной астмы [73].

## **1.2 Коморбидность бронхиальной астмы и гипертонической болезни**

Не меньший вес в общей массе проблем терапии имеет и артериальная гипертензия (АГ), а в особенности гипертоническая болезнь (ГБ). Гипертоническая болезнь прямо или косвенно является одной из основных причин инвалидизации и смертности населения, выступая в качестве этиологического фактора коронарных, цереброваскулярных и реноваскулярных заболеваний. Международное общество по артериальной гипертензии (АГ) в 2008 г. опубликовало прогноз, где было показано, что к 2025 г. АГ станет ведущей причиной смерти и нетрудоспособности во всем мире, а не только в развитых странах [67]. В России, как и в большинстве других стран мира, гипертоническая болезнь признана пандемией, что связано с её широкой распространённостью, которая в нашей стране достигает 39-40% по данным скрининговых исследований [2]. При этом в Рязанской области по данным эпидемиологического исследования МЕРИДИАН-РО распространённость артериальной гипертензии даже выше, чем в России, и достигает 45,9%, при этом каждый третий пациент с артериальной гипертензией в Рязанской области относится к группе высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска, то есть требует немедленного проведения лечебно-профилактических мероприятий [67]. Проблема артериальной гипертензии усугубляется постепенном ростом её распространённости, которая однако не сопровождается улучшением достижения целевых показателей артериального давления. Так, по данным исследования ЭПОХА, эффективность контроля артериальной гипертензии составляет всего 18,7%, что на фоне роста распространённости заболевания, составляет значительную угрозу для населения по причине развития ассоциированных клинических состояний у лиц с неконтролируемым артериальным давлением [3]. В Рязанской области благодаря широкому внедрению профилактических программ эффективность лечения артериальной гипертензии несколько выше, чем в целом по России, и достигает 21,45, что, однако, также нельзя считать высоким показателем достижения целей



лечения, т.к. четверо из пяти пациентов подвергаются дополнительному риску сердечно-сосудистых осложнений [56, 57].

Важность изучения сочетанной патологии связана с её широкой распространённостью, так более половины больных БА страдают различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, среди которых основное место занимает гипертоническая болезнь [5, 6, 44]. Доля пациентов с бронхиальной астмой, страдающих артериальной гипертензией, составляет от 12.9 до 37.6% и увеличивается с возрастом. По данным обширного исследования, проведённого в Финляндии на основе национального регистра, включающего всех больных бронхиальной астмой, получающих возмещение затрат на лекарственное обеспечение, артериальная гипертензия является самым частым сопутствующим диагнозом [93]. А российское исследование, проведённое в Новокуйбышевске оценивает распространённость артериальной гипертензии среди больных бронхиальной астмой в 38% [5]. В других исследованиях распространённость артериальной гипертензии при бронхообструктивных заболеваниях оценивается в пределах 30-34% [10, 38]. С другой стороны, по данным исследования РЕКВАЗА, при артериальной гипертензии в 25% случаев выявляются те или иные заболевания органов дыхания, что также указывает на существование тесной связи между заболеваниями сердечно-сосудистой и дыхательной систем [53].

Впервые в отечественной литературе на возможность сочетания бронхиальной астмы и артериальной гипертензии обратили внимание в 1961 году Б. Г. Кушелевский и Т. Г. Ренева [34]. Они рассматривали такое сочетание, как пример «конкурирующих заболеваний». Изучение развития сочетанной патологии бронхиальной астмы и артериальной гипертензии подталкивало исследователей на поиски механизмов развития повышения артериального давления. Так в отечественной литературе Н. М. Мухарлямовым в 1966 году была выдвинута гипотеза о симптоматической «пульмогенной» гипертензии. В патогенезе этой формы артериальной гипертензии он предполагал участие гипоксии и гиперкапнии, а также нарушения роли лёгких в метаболизме вазоактивных веществ, таких как катехоламины, серотонин, гистамин, кинины и другие [38]. К

признакам «пульмогенной» гипертензии Н.М. Мухарлямов относил: повышение АД на фоне обострения хронического заболевания лёгких; снижение АД по мере улучшения показателей функции внешнего дыхания, но без воздействия гипотензивных препаратов; развитие АГ через несколько лет после начала заболевания лёгких, первоначально лабильной, с повышением АД только во время усиления обструкции, а затем - стабильной. В тех случаях, когда артериальная гипертензия предшествовала заболеванию лёгких и не имела связи с нарушением бронхиальной проходимости, её следовало расценивать как гипертоническую болезнь [38]. Ряд исследователей в поддержку концепции «пульмогенной» гипертензии приводят существование особенности её течения – недостаточное снижение АД в ночное время [23, 65]. Однако большинство учёных отвергают идею существования «пульмогенной» гипертензии и склонны рассматривать повышение АД у больных бронхиальной астмой как гипертоническую болезнь [22, 43]. В поддержку этого приводится факт того, что больные бронхиальной астмой с повышенным и нормальным АД не отличаются между собой по форме и тяжести течения астмы, наличию наследственной предрасположенности к ней или воздействию факторов окружающей среды [43]

Несмотря на отвержение концепции «пульмогенной» гипертензии нельзя отрицать, что некоторые патологические процессы, протекающие при бронхиальной астме, играют важную роль в развитии артериальной гипертензии. Так показано, что уже на ранних стадиях бронхиальной астмы определяется повышение уровня серотонина в крови, который обладает вазоконстрикторным действием [9, 11, 18]. Некоторые работы показывают возможную связь артериальной гипертензии при бронхиальной астме с усилением выработки эндотелина-1, который обладает мощным вазоконстрикторным действием, однако результаты этих работ весьма противоречивы [58, 111, 123]. К другим веществам повышение концентрации которых при бронхиальной астме может способствовать повышению артериального давления некоторые исследователи относят ИЛ-5, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  [27]. Существуют и данные противоречащие существованию единых звеньев патогенеза при бронхиальной астме в сочетании с

гипертонической болезнью. Так возникновение гипертонической болезни в большинстве случаев ассоциировано с семейной предрасположенностью, в то же время в работе Н. А. Кароли показано, что среди пациентов с сочетанным течением гипертонической болезни с обструктивными заболеваниями лёгких наследственная отягощённость по гипертонической болезни выявлялась в 2 раза реже, чем у больных с «чистой» гипертонической болезнью [29]

Наличие бронхиальной астмы и гипертонической болезни у одного больного оказывает взаимное влияние друг на друга, что определяет существование особенностей такого сочетанного течения. В литературе описан феномен взаимного утяжеления течения БА и ГБ при их сочетанном течении [24, 64, 65]. Наличие коморбидных состояний при бронхиальной астме сопровождается ухудшением контроля над заболеванием [65, 125, 163] и увеличением смертности [99]. В работе М.В. Гамазиной в 2008 году в группе больных с коморбидной патологией бронхиальной астмы и гипертонической болезни уровень контроля был в полтора раза хуже, чем в группе с «чистой» бронхиальной астмой, аналогично в 1,5 и 1,8 раза было повышено число госпитализаций и обострений [15]. Наличие гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой негативно влияет и на качество жизни пациентов [8]. Помимо этого, наличие бронхиальной астмы у больного оказывает влияние и на течение артериальной гипертензии. Так исследование Н. Н. Боровкова показало, что пациенты, страдающие сочетанной патологией БА и ГБ, имели более высокие показатели клинического систолического АД (150,0 [140,0; 150,0] мм рт. ст. против 140,0 [135,0; 140,0],  $p < 0,05$ ), диастолического АД (95,0 [90,0; 100,0] против 87,5 [80,0; 90,0] мм рт. ст.,  $p < 0,05$ ), и чаще имели нарушения суточного ритма артериального давления по сравнению с больными ГБ [12]. Кроме того, в исследовании отмечено влияние бронхиальной обструкции на суточный ритм АД. Аналогичные результаты, но лишь среди больных с неконтролируемым течением БА, получены и в работе А. И. Матвейчик, исследовавшей в 2013 году связь суточного профиля артериального давления больных АГ в сочетании с БА [36]. Напротив, некоторые исследователи высказывают мнение, что гипертоническая

болезнь на фоне бронхиальной астмы характеризуется доброкачественным течением и замедленным развитием признаков сердечной недостаточности [20]. И наконец, существует третье мнение, которое предполагает отсутствие влияния гипертонической болезни на течение бронхиальной астмы [63].

Таким образом, на данный момент многие вопросы, касающиеся клинического течения и патогенеза коморбидной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни, остаются открытыми. Однако не вызывает сомнения существование патогенетических механизмов взаимного влияния между этими двумя заболеваниями, способных приводить к взаимному отягощению и прогрессированию сочетанной патологии.

### **1.3 Генетические факторы в патогенезе бронхиальной астмы и гипертонической болезни**

Общеизвестно, что важную роль в развитии бронхиальной астмы играет взаимодействие наследственности и факторов окружающей среды. Однако механизмы такого взаимодействия на сегодня в полной мере не установлены.

Факторы, оказывающие влияние на развитие и проявление бронхиальной астмы, могут быть разделены на две большие группы [120]. К первой относят факторы, обуславливающие развитие заболевания, а ко второй – факторы, провоцирующие появление симптомов. Традиционно, к факторам риска развития бронхиальной астмы относят, так называемые, внутренние факторы: наследственность, пол и ожирение, и внешние факторы, такие как аллергены, профессиональные сенсibilизаторы, инфекции и курение табака. Ко второй большой группе факторов относят те, что вызывают проявление симптомов бронхиальной астмы, то есть являются «триггерами». К ним относятся ирританты, физическая нагрузка и другие. Обращает внимание то, что некоторые факторы, например, аллергены, относятся к обеим большим группам, а значит способствуют и развитию заболевания, и появлению симптомов астмы.

Среди факторов, способствующих развитию БА, ведущую роль играют генетические. Однако, в настоящий момент установлено, что наследственная предрасположенность к бронхиальной астме, вероятно, реализуется через

взаимодействие генетических факторов и факторов внешней среды [78, 142]. На сегодняшний день, развитие методов молекулярной генетики позволило разработать методики для поиска связанных с заболеванием генетических маркёров, позволяющие точно определить локализацию конкретных генов и изменения в их нуклеотидном составе [16, 55]. К этим методам относят позиционное и кандидатное картирование. При кандидатном картировании выполняется поиск связи гена, несущего информацию о белке-кандидате, нарушения которого способны запустить то или иное звено патогенеза или вызвать симптомы заболевания. Позиционное картирование направлено на обнаружение локусов наследственных заболеваний, связанных с неизвестным биохимическим маркёром, путём построения подробной карты генома человека и анализа сцепления хромосомного положения с заболеванием [68]. Этим методом обнаружена связь БА с локусами 5q31.1-33, 6p12-21.2, 11q12-13, 12q14-24.1, 13q12-22, 14q11-12, 16p12.1-11.2 и Xq28/Yq12.

На сегодняшний день показано, что патогенез бронхиальной астмы реализуется с участием многих генов, которые могут быть разделены на 5 больших групп [55, 134]:

1. Гены факторов гуморального иммунного ответа и антигенного распознавания. В этой группе показана связь БА с генами интерлейкинов (IL4, IL5, IL9, IL13), фактора роста тучных клеток (MGF),  $\alpha$ -субъединица антигенного рецептора Т-клеток (TCRA) и генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-B, HLA-DR).

2. Гены, кодирующие хемокины, медиаторы воспаления и молекулы межклеточной адгезии, среди которых гены синтаз оксида азота (NOS1, NOS2, NOS3), ацетилгидролазы фактора активации тромбоцитов (PAFAN), лейкотриен С4-синтазы (LTC4S), арахидонат 5-липоксигеназы (ALOX5), фактора высвобождения гистамина (HRF) и некоторые другие.

3. Гены рецепторов, которые осуществляют прикрепление на клетках-мишенях внешних молекул-лигандов. Среди них гены  $\alpha$ -цепей рецепторов ИЛ-4 и ИЛ-5 (IL4RA, IL5RA), рецептора глюкокортикоидов (GRL),  $\beta$ 2-адренорецепторов

(ADRB2),  $\beta$ -цепи высокоаффинного рецептора IgE (FCER1B) и рецептора серотонина (HTR2A).

4. Гены, регулирующие синтез факторов транскрипции и внутриклеточных сигнальных молекул, к которым относят гены субъединицы 1 ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B (NFKB1),  $\beta$ -субъединицы ядерного фактора транскрипции Y (NFYB), трансмиттера сигнала и активатора транскрипции 6 (STAT6), гены тирозинкиназ 1 и 3 семейства Jak (JAK1, JAK3).

5. Другие гены, например, участвующие в биотрансформации ксенобиотиков (NAT2, CYP1A, GSTT1, GSTM1).

Среди этих генов часть ассоциирована с формированием повышенной предрасположенности к развитию БА, а другая реализует фармакогенетические особенности ответа на терапию противоастматическими средствами. К последней, например, относится полиморфизм гена ADRB2, связанный с разной чувствительностью пациентов к  $\beta$ 2-адреномиметикам, и полиморфизма гена GRL, отвечающего за ответ на лечение глюкокортикостероидами [55, 90].

Не менее важную роль генетические факторы играют и в патогенезе гипертонической болезни. В реализации артериальной гипертензии участвует довольно широкий спектр генов-кандидатов, нарушения в работе которых участвуют в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Среди этих генов выделяют гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Ряд исследований подтверждает связь полиморфных маркеров генов ангиотензиногена (AGT), ангиотензинпревращающего фермента (ACE), ангиотензиновых рецепторов 1-го типа (AGTR1), ангиотензиновых рецепторов 2-го типа (AGTR2) и альдостеронсинтазы (CYP11B2) с наследственной отягощенностью по ГБ. Кроме РААС в патогенезе АГ обсуждается участие генов, связанных с синтезом метаболитов, регулирующих состояние эндотелия. Описана связь развития гипертонической болезни с полиморфизмом гена EDN1, кодирующего эндотелин-1 и генами синтаз оксида азота (NOS) [46]. К настоящему времени сформировалось представление о важной роли ген-генных ассоциаций в развитии наследственной предрасположенности к гипертонической

болезни, вопреки более ранним попыткам объяснить развитие артериальной гипертензии нарушением работы какого-либо одного гена.

Обращает внимание участие некоторых генов, таких как NOS, и в патогенезе бронхиальной астмы, и в патогенезе гипертонической болезни, что может указывать на существование единых патогенетических механизмов при этих заболеваниях, играющих роль в формировании коморбидной патологии.

#### **1.4 Оксид азота и его роль при бронхиальной астме и гипертонической болезни**

Для понимания механизма влияния генов NOS на патогенез бронхиальной астмы и гипертонической болезни следует остановиться на физиологической роли оксида азота (NO). Молекула NO содержит неспаренный электрон и является простым радикалом, легко образующим ковалентные связи [35]. Срок существования молекулы оксида азота в естественных условиях составляет лишь несколько секунд, после чего он быстро превращается в нитриты. Малая величина молекулы и нейтральный заряд позволяют молекуле оксида азота беспрепятственно проникать в клетку сквозь клеточные мембраны, что позволяет ему выступать в качестве сигнальной молекулы межклеточного взаимодействия.

Оксид азота принимает участие во множестве физиологических процессов. Так его синтез в клетках эндотелия регулирует тонус сосудов, кровоток и давление, а также контролирует адгезию тромбоцитов и пролиферацию гладкомышечных клеток [69]. Снижение выработки оксида азота эндотелием приводит к развитию эндотелиальной дисфункции и повышению артериального давления [19, 71, 128]. Снижение синтеза NO связывают с дисфункцией эндотелия, участвующей в патогенезе атеросклероза, сахарного диабета, инфаркта миокарда и артериальной гипертензии. В некоторых исследованиях, показано, что введение L-аргинина, который является предшественником оксида азота, способствует нормализации артериального давления у больных ГБ. Напротив, ингибиторы синтеза оксида азота вызывают увеличение периферического сосудистого сопротивления у здоровых добровольцев. Оксид азота участвует в формировании памяти, болевого чувства, координации между нейрональной

активностью и кровотоком, выступая в качестве нейромедиатора [69]. Показано что оксид азота выполняет роль дополнительного регулятора работы эпителия дыхательных путей, а в малых концентрациях препятствует бронхоспазму [35]. Также оксид азота участвует в регуляции ионного транспорта и барьерной функции в эпителии [79, 126, 153, 154], синхронного движения ресничек в верхних дыхательных путях, секреции слизи и мукоцилиарного клиренса [74, 75, 92, 117, 135, 147]. Кроме того, при бронхиальной астме NO участвует в развитии воспаления, влияя на продукцию противовоспалительных медиаторов в эпителии и ингибируя функциональную активность Т-лимфоцитов [124, 140]. Ещё один эффект оксида азота – расслабляющее действие на гладкую мускулатуру реализуется через активацию растворимой гуанилатциклазы и синтеза вторичного посредника - циклического гуанозинмонофосфата.

При бронхиальной астме воспалительные изменения в бронхах, вызывают рост уровня NO, связанный с изменением активности синтаз оксида азота. Связь увеличения NO с воспалительным процессом подтверждается тем, что при других воспалительных заболеваниях, таких как бронхоэктатическая болезнь и острые инфекции дыхательных путей, также отмечается повышение уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе. Гиперпродукция NO первично носит приспособительно-адаптивный характер, реализуемый через накопление в дыхательных путях эндогенного бронходилататора - нитрозоглутатиона [1]. Однако, у лиц страдающих бронхиальной астмой отмечается повышенная активность фермента S-нитрозоглутатионредуктазы в бронхоальвеолярном лаваже, [150, 155], сопровождающаяся сниженными уровнями нитрозоглутатиона [92]. Кроме того выявлена обратная корреляция активности S-нитрозоглутатионредуктазы и провокационными концентрациями метахолина, вызывавшими 20% снижение ОФВ1 [155]. Исследования на животных, имеющих мутацию гена S-нитрозоглутатионредуктазы, показали снижение вызываемой метахолином гиперреактивности бронхов при высоких значениях нитрозоглутатиона [150]. Дефицит нитрозоглутатиона, связанный с повышенным разрушением может способствовать персистирующей продукции NO [31]. Воспаление сопровождается



чрезмерным накоплением NO, что в условиях дефицита активности глутатионтрансферазы и антиоксидантной защиты, приводит к росту продуктов его метаболизма – пероксинитритного аниона (ONOO<sup>-</sup>), пероксинитритной кислоты (ONOOH). Последние, в свою очередь, являются сильнейшими оксидантами и принимают непосредственное участие в ремоделировании бронхов. [35]. Это ведёт к окислению липидов клеточных мембран, что способствует увеличению сосудистой проницаемости и появлению воспалительного отёка, ведущих к прогрессирующему расширению зоны воспаления в дыхательных путях. Показано влияние пероксинитрита на продукцию фибронектина, коллагена и десмина (маркера миофибробластов) и увеличение синтеза трансформирующего фактора роста  $\beta$  за счёт активности NF- $\kappa$ B [145]. Также ONOO<sup>-</sup> вызывает повреждение тирозина, способствующему повреждению структурных и ферментных систем, в частности приводящему к нарушению межклеточной сигнализации, реализуемой тирозинкиназой [130]. Модификация тирозиновых остатков активными формами кислорода и азота, может быть одним из основных механизмов персистенции воспаления и ремоделирования дыхательных путей при бронхиальной астме [32].

Кроме того, в больших концентрациях оксид азота может снижать активность растворимой гуанилатциклазы и конститутивной синтазы оксида азота. Это вызывает уменьшение выработки циклического-ГМФ, увеличению внутриклеточного содержания Ca<sup>2+</sup>, что в итоге приводит к развитию бронхоспазма.

NO может оказывать влияние также и на воспалительный и иммунный ответ. Установлено, что синтез ИЛ2 и ИНФ $\gamma$  Th1-клетками ингибируется NO. Уменьшая активность Th1-клеток, оксид азота способствует развитию Th2-ответа, активирует хемотаксис эозинофилов и нейтрофилов и тормозит их апоптоз, участвуя в формировании atopического воспаления [69]. Также NO оказывает влияние на продукцию провоспалительных цитокинов в альвеолярных макрофагах, в зависимости от степени активности этих клеток. Влияние оксида азота крайне дифференцировано в зависимости от активности клеток. Так NO не

влияет на базальный синтез ФНО $\alpha$  покоеющимися моноцитами периферической крови, но тормозит продукцию ФНО $\alpha$ , ГМКСФ, ИЛ-1 $\beta$  в активированных моноцитами и альвеолярных макрофагах здоровых доноров и больных БА.

Установление того факта, что некоторые заболевания дыхательной системы сопровождаются повышением уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе, позволило использовать определение NO в выдыхаемом в воздухе для контроля над течением заболевания и диагностики. В особенности данная методика нашла применение при бронхиальной астме для оценки аллергического воспаления. Выдыхаемая фракция оксида азота (FeNO) может быть измерена неинвазивно в выдыхаемом воздухе как биомаркер персистирующего аллергического воспаления [42]. Исходный уровень FeNO <25 ppb у взрослых и <20 ppb у детей с бронхиальной астмой говорит о том, что чувствительность к ИГКС маловероятна, а FeNO >50 ppb у взрослых и >35 ppb у детей, напротив, сопровождается высокой эффективностью применения ИГКС [77].

Терапия, получаемая больным, значимо влияет на уровень NO в выдыхаемом воздухе. Достоверно известно, что более низкий уровень NO в выдыхаемом воздухе имели больные, получавшие глюкокортикостероиды [30], это позволило рассматривать FeNO как показатель эффективности лечения. В исследованиях показано, что FeNO более точно способен прогнозировать ожидаемую эффективность от назначения ИГКС, чем пикфлоуметрия и спирометрия [169]. Повышение FeNO связано со снижением контроля над астмой [165], а его снижение зависит от объёма противовоспалительной терапии [103, 110], однако необходимо учитывать, что на уровень NO влияют и внелёгочные причины – сепсис, цирроз печени, диета и другие [35].

В настоящее время оксид азота признан достоверным маркёром воспаления при бронхиальной астме и основным маркёром эндотелиальной дисфункции при сердечно-сосудистых заболеваниях. Определение выдыхаемой фракции оксида азота одобрено управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов (FDA, США) для оценки эффективности базисной противовоспалительной терапии БА [162]. Однако отсутствие разработанных

практических руководств по применению ограничивает широкое использование метода в реальной клинической практике [169]. В целом существует несколько направлений определения FeNO в клинической практике – мониторинг активности воспаления при подборе противовоспалительной терапии на этапе достижения полного контроля БА; мониторинг контроля бронхиальной астмы и прогнозирование обострений; контроль за уровнем аллергического воспаления при уменьшении объёма базисной терапии [77]. В исследовании M. Fritsch и др., 2008 г. [108] были показаны 80% чувствительность и 60% специфичность определения выдыхаемой фракции оксида азота для предсказания обострений в пороговой точке 23 ppb. Польза от использования определения FeNO для мониторинга контроля бронхиальной астмы и подбора оптимальной базисной терапии разными исследователями оценивается по-разному. Результаты нескольких крупных исследований показали, что подбор терапии с использованием показаний FeNO сопровождается уменьшением количества обострений и увеличением времени до их наступления [102, 132, 161]. Однако, некоторые работы показывают отсутствие преимуществ от использования определения FeNO [108, 166]. Сохранение повышенного уровня FeNO у пациентов, не достигших полного контроля над бронхиальной астмой, указывает на субоптимальное управление воспалительным процессом [109]. Персистирующий высокий уровень FeNO у пациентов с бронхиальной астмой позволяет предположить наличие у них фенотипа тяжёлой астмы [112]. У этих пациентов необходимо оценить приверженность к лечению и правильность соблюдения техники ингаляций, исключить наличие провоцирующих факторов и коморбидных состояний, способных препятствовать достижению контроля, а также рассмотреть вопрос об увеличении объёма базисной терапии [77].

Таким образом, оксид азота играет важную роль в патогенетических процессах при бронхиальной астме и гипертонической болезни, и его определение способствует улучшению диагностики и оптимизации подбора терапии у больных бронхиальной астмой, в том числе у тяжёлых больных с коморбидной патологией.

В организме человека оксид азота синтезируется группой цитохром Р-450-подобных гемопротеинов из L-аргинина. Это группа ферментов носит название синтазы оксида азота (NO-синтазы). Особенностью этих ферментов является выполнение их функции без затрат АТФ, что находит отражение в их названии, и отличает их от иных ферментов, называемых синтетазами. Впервые синтазы оксида азота описаны в 1989 году [76]. Дальнейшие исследования показали, что группа ферментов синтаз оксида азота включает три изоформы: нейрональную (nNOS), макрофагальную (iNOS) и эндотелиальную (eNOS). Каждая из изоформ кодируется отдельным геном и имеет особенности экспрессии и локализации в организме человека. Нейрональная NO-синтаза является продуктом экспрессии гена NOS1, макрофагальная – NOS2 и эндотелиальная – NOS3, соответственно. В начале 90-х годов XX века были проведены исследования, посвящённые установлению локализации генов синтаз оксида азота в геноме человека. Так установлено, что ген, кодирующий нейрональную синтазу оксида азота – NOS1, локализован в позиции 12q24.2–12q24.3 12 хромосомы и состоит из 29 экзонов и 28 интронов [96, 158]. Ген NOS2 локализован на 17 хромосоме в положении 17cen–q11.2 и включает 26 экзонов и 25 интронов [97, 137, 151]. А кодирующий эндотелиальную NO-синтазу ген расположен на 7 хромосоме в позиции 7q35–7q36 и, так же как и NOS2, содержит 26 экзонов и 25 интронов [98, 136].

nNOS и eNOS –  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые ферментами, что означает что их активность зависит от наличия в клетке ионов кальция [69]. Нейрональная NO-синтаза локализуется преимущественно в центральной и периферической нервной системе, но может быть обнаружена и в поперечнополосатой мускулатуре, плаценте и других тканях [69]. Эндотелиальная синтаза оксида азота, в основном, экспрессируется в клетках эндотелия сосудов. Экспрессия нейрональной и эндотелиальной синтаз в физиологических условиях поддерживается на постоянном уровне, то есть конститутивна. Однако патологические состояния могут сопровождаться повышением их экспрессии, что ведёт к росту синтеза оксида азота. Постоянный уровень синтеза NO конститутивными NO-синтазами

способствует поддержанию определённого тканевого равновесия в метаболизме NO [89].

В отличие от конститутивных изоформ, макрофагальная NO-синтаза является индуцибельной, то есть синтезируется в тканях не постоянно, а только в ответ на воздействие воспалительных стимулов. Механизм её активации не зависит от наличия ионов кальция, то есть является  $Ca^{2+}$ -независимым. iNOS является источником больших количеств оксида азота, вызывающего губительное действие на микроорганизмы. Несмотря на защитный механизм синтеза оксида азота под действием iNOS, его высокая концентрация приводит к расширению воспалительных изменений при БА в дыхательных путях [89].

Иммуногистохимические исследования показали, что в тканях лёгких могут быть обнаружены все три изоформы NO-синтаз [69]. Так в эндотелии сосудов бронхов и эпителиальных клетках обнаруживается eNOS, в нервах и эпителиальных клетках – nNOS, а в ответ на действие оксидантов, эндотоксинов и цитокинов во многих тканях лёгких определяется экспрессия iNOS. При астме она локализована преимущественно в эпителиальных клетках, макрофагах и эозинофилах [122]. При эозинофильном фенотипе бронхиальной астмы воспаление в дыхательных путях сопровождается активной экспрессией индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) [129, 138].

Все изоформы синтаз оксида азота связаны с провоспалительным ответом, так как они участвуют в выработке NO в ранней фазе воспаления [59]. Противовоспалительный ответ также ассоциирован с активностью NO-синтаз, так как они регулируют продукцию ингибиторов воспаления, в частности интерлейкинов ИЛ-4, ИЛ-11, ИЛ-13 [59]. Это позволяет считать оксид азота, продуцируемый NO-синтазами «подлинным» регулятором воспаления.

При поиске генов, ассоциированных с повышенным риском развития бронхиальной астмы, было установлено, что одними из генов-кандидатов являются NOS1, NOS2 и NOS3 – гены, кодирующие изоформы синтаз оксида азота. Эти же гены обсуждаются как предикторы повышенного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и в частности артериальной гипертензии.

Наибольший интерес с точки зрения предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям представляет ген, кодирующий эндотелиальную синтазу оксида азота (NOS3). К. Miyahara et al. описали 26 экзонов NOS3. Описано и изучается несколько полиморфизмов гена NOS3. Среди них: экзон 7 Glu298Asp полиморфизм (структурный), мутация 786C/T в 5'-конце гена NOS-3, интрон 18 локус A27C, интрон 23 локус G10T, интрон 4 eNOS 4a/b полиморфизм.

Один из полиморфизмов – полиморфизм экзона 7 характеризуется заменой гуанина тимидином в 894-й позиции гена NOS3, что ведёт к замене глутамин-аспарагин в 298-й позиции фермента. Исходя из этого в литературе встречаются разные варианты записи данного полиморфизма, либо по отношению к структуре гена – G894T (варианты GG, GT и TT), либо по отношению к структуре фермента – Glu298Asp. Для данного полиморфизма описана более высокая распространённость аллеля 298Asp среди больных артериальной гипертензией по сравнению со здоровыми лицами в японской популяции [100].

Другой полиморфизм, дислоцированный в интроне 4, представлен двумя аллелями, различающимися числом tandemных повторов, которых может быть 4 (аллель 4a) или 5 (аллель 4b). Данный полиморфизм не относится к структурным. В японской популяции отмечается большая частота аллеля у пациентов с гипертонической болезнью и гипертрофией левого желудочка по сравнению со здоровыми японцами. Наиболее обширное исследование данного полиморфизма проведено в 2005 году в США Н. Zhu [127]. В исследование включено 579 подростков, относящихся к негроидной и европеоидной расам. В рамках исследования за исследуемой группой наблюдали в течение 15 лет и была выявлена связь полиморфизма гена eNOS4a/b с развитием артериальной гипертензии, в зависимости от пола и возраста испытуемых. Так у мужчин с более низким диастолическим артериальным давлением (ДАД) был ассоциирован генотип aa, в то время как у женщин этот же генотип aa был ассоциирован с повышенным ДАД. В этом же исследовании показано, что гомозиготы по гаплотипу non4a-Glu имеют нарастание ДАД на 0,51 мм рт. ст. в год по сравнению с носителями других гаплотипов. В другом исследовании показано,

что генотип bb сопровождается сниженным в 2 раза уровнем базального NO, по сравнению с пациентами с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Кроме того установлена связь этого аллеля с гипертрофией левого желудочка у больных гипертонической болезнью [50].

Ещё один полиморфизм гена NOS3 - мутация 786C/T сопровождается сниженной промоторной активности гена и, соответственно, ведёт к уменьшению продукции NO в эндотелии. В исследовании, проведённом в иранской популяции, для данного полиморфизма показана ассоциация мутантной С аллели со сниженным синтезом оксида азота в эндотелии у больных ишемической болезнью сердца [82]. Исследование полиморфизма NOS3 786C/T в 2011 году легло в основу крупного мета-анализа, проведённого Wenquan Niu, в котором доказана роль «редкой» С-аллели в формировании артериальной гипертензии у белокожих пациентов, что вероятно также связано с дефицитом выработки оксида азота в эндотелии [141]. Связь этого полиморфизма с сердечно-сосудистой патологией подтверждается и в исследовании проведённом на пациентах с острым коронарным синдромом в Киеве [51]. Несмотря на обширное количество работ, указывающих на ассоциацию полиморфизма NOS3 786C/T с патологией, есть исследования, опровергающие такую связь [115]. Таким образом, роль этого полиморфизма на данный момент остаётся дискуссионной.

Полиморфизмы генов NOS1, NOS2, NOS3 исследовались и у больных с бронхообструктивными заболеваниями. Например, исследование, проведённое во Франции, показало связь генетических вариантов NOS2 и NOS3 с определяемым в крови и выдыхаемом воздухе уровнем оксида азота [83]. Так СС генотип NOS2 rs6505510, а также С и Т аллели rs1549758 и rs2853796 соответственно были ассоциированы с повышенным уровнем NO в выдыхаемом воздухе у лиц, не страдающих бронхиальной астмой, а G аллель NOS2 rs4795067 была связана с повышенным уровнем оксида азота в крови. В этой же работе показано, что у больных бронхиальной астмой с повышенным уровнем оксида азота в выдыхаемом воздухе ассоциирована С аллель NOS3 rs743507. Исследования посвящённые роли синтаз оксида азота в развитии бронхообструктивных

заболеваний проводились и в России. В сибирской популяции показана связь бронхиальной астмы с полиморфизмами 954G/C и (CCTTT)<sub>n</sub> гена NOS2 [41]. Изучена связь генотипа 4a/4b NOS2 с увеличенной распространённостью дисфункции эндотелия среди больных БА [54]. В другом исследовании, проведённом на больных хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ), показано отсутствие связи развития заболевания с полиморфными маркерами генов NOS (NOS1 rs41279104, NOS2 rs8078340, NOS3 rs18679), однако выявлено влияние G аллели полиморфизма NOS3 rs18679 на снижение экспрессии эндотелиальной синтазы, что послужило основанием для предположения о возможном влиянии этого полиморфизма на уровень оксида азота [139]. В других исследованиях изучалось влияние полиморфизмов генов NOS1 и NOS3 на уровень выдыхаемого оксида азота. Так в 2009 году A.J. Spanier и др. исследовали 225 детей с диагнозом бронхиальной астмы с определением полиморфизмов NOS1 (тандемный повтор AAT в интроне) и NOS3 (G894T) и не выявили их прямого влияния на уровень выдыхаемого оксида азота [105]. В то же время в более раннем исследовании M. E. Wechsler, проведённом в 2000 году, показана достоверная связь тандемного повтора AAT в интроне гена NOS1 и уровней FeNO у взрослых пациентов, страдающих бронхиальной астмой [107].

В настоящее время стали появляться первые работы, пытающиеся оценить вклад полиморфизмов синтаз оксида азота в формировании коморбидности бронхиальной астмы и гипертонической болезни, основанные на сведениях о вовлеченности данных полиморфизмов в патогенез обоих заболеваний. Так в исследовании А.Х. Ахминеевой и соавт. в 2014 году исследовалась частота встречаемости полиморфизмов eNOS4a/b и eNOS4b/b гена NOS3 у больных с сочетаниями бронхообструктивных заболеваний с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца в сравнении с каждой патологией в отдельности [54]. Показана более высокая частота полиморфизма 4a/4b как у больных с ишемической болезнью сердца (ИБС), так и в группах с коморбидными сочетаниями ХОБЛ+ИБС, БА+ИБС. Однако в данной работе не выявлено связи данного полиморфизма с артериальной гипертензией, в отличие от других



исследований [50, 127]. В работе Л.П. Ворониной и соавт. в 2014 году показана роль полиморфизма 4a/4b в формировании лёгочной гипертензии у больных бронхиальной астмой, кроме того указано на участие данного полиморфизма в формировании гипертрофии и дилатации левого желудочка без указания на связь с уровнем артериального давления у больных [52]. В других исследованиях было показано, что носительство данного аллеля сопровождается развитием артериальной гипертензии и других сердечно-сосудистых заболеваний [51, 141].

Таким образом, гены синтаз оксида азота участвуют в развитии бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Однако их патогенетическая роль в формировании коморбидной патологии остаётся до конца не ясной.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Общая характеристика исследования

Исследование проводилось с января 2014 года по сентябрь 2016 года на кафедре факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России и выполнено в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2008 года, Национального стандарта Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика – Good Clinical Practice (GCP) ГОСТ Р 52379-2005». На проведение исследования получено одобрение Локального Этического Комитета ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России от 2014 года.

В исследование был включён 91 пациент, проходивший стационарное лечение в пульмонологическом и профпатологическом отделениях Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Областная клиническая больница» по поводу бронхиальной астмы или гипертонической болезни. Все пациенты были представителями европеоидной расы, постоянно проживали на территории города Рязани и Рязанской области и не состояли в родстве.

В исследования были включены пациенты, отвечающие критериям включения:

- пациент подписал добровольное информированное согласие на участие в данном исследовании;
- пациент способен понимать процедуры исследования, а также адекватно сотрудничать с исследователем;
- возраст пациента в диапазоне от 45 до 69 лет;
- диагноз «Бронхиальная астма, смешанная форма» и/или «Гипертоническая болезнь», установленный согласно глобальной стратегии

лечения и профилактики бронхиальной астмы и рекомендаций Всероссийского научного общества кардиологов / Российского кардиологического общества соответственно.

Больные БА включались в исследование после купирования обострения БА и отмены системных глюкокортикостероидов или перевода на поддерживающие дозы системных ГКС, если больной получал их до поступления в стационар.

В исследование не включались пациенты, удовлетворяющие следующим критериям исключения:

- беременность и период лактации;
- пациенты, находящиеся в приступном периоде бронхиальной астмы;
- наличие патологии сердечно-сосудистой системы в фазе декомпенсации;
- наличие психозов и психиатрических заболеваний в анамнезе;
- наличие тяжёлых нарушений функции печени в анамнезе, сопровождающихся повышением АЛТ, АСТ, общего билирубина, или щелочной фосфатазы более чем в 3 раза выше верхней границы нормы;
- наличие тяжёлых нарушений функции почек в анамнезе, сопровождающихся снижением скорости клубочковой фильтрации ниже 60 мл/мин (рассчитанной по формуле MDRD);
- наличие иных сопутствующих заболеваний и состояний, способных оказывать влияние на функцию дыхательной и сердечно-сосудистой систем и исследуемые показатели;
- злоупотребление и/или зависимость от психоактивных веществ и/или алкоголя.

Пациенты, включённые в исследование, были разделены на 3 группы. Основная группа включала 31 пациента, страдающего сочетанной патологией бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Группы сравнения – первая и вторая включали по 30 пациентов с изолированной бронхиальной астмой и изолированной гипертонической болезнью соответственно. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Всем пациентам было выполнено клиническое обследование, включающее сбор жалоб, анамнеза жизни и анамнеза заболевания, объективное исследование с использованием методов пальпации, перкуссии и аускультации, измерение артериального давления, согласно правилам измерения артериального давления, изложенным в рекомендациях Всероссийского научного общества кардиологов. Помимо клинического обследования пациентам была выполнена оценка функции внешнего дыхания (спирометрия), измерение выдыхаемой фракции оксида азота и лабораторное исследование, включающее общеклинический анализ крови, измерение суммарных метаболитов оксида азота в крови и определение полиморфизма генов синтаз оксида азота – NOS1 (84G/A) и NOS3 (786C/T).

## **2.2 Исследование функции внешнего дыхания**

Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводилось на спирометре MicroLab MK8 фирмы Micro Medical (Великобритания) с использованием должных величин ECCS / ERS (European Community for Coal and Steel / European Respiratory Society – Европейское Объединение Стали и Угля / Европейское респираторное общество) и автоматической интерпретацией результатов согласно рекомендациям ATS / ERS 2005 [рисунок 3].

Спирометрия проводилась согласно рекомендациям Американского Торакального Общества / Европейского Респираторного Общества [157]. Измерения проводились сидя, после 20 минутного отдыха, в утренние часы. За 2 часа перед обследованием пациентам рекомендовали воздерживаться от употребления крепкого кофе и чая, обильного приёма пищи. Перед измерением за 1 час исключалось курение, употребление алкоголя – за 4 ч до исследования, значительные физические нагрузки – за 30 мин до исследования. Измерение проводилось не ранее чем через 6 часов после приёма короткодействующих бронхолитиков, не ранее чем через 12 часов после приёма длительнодействующих бронхолитиков и не ранее чем 24 часа после приёма тиотропия бромида и гликопиррония бромида.

В ходе исследования определялись ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ1, модифицированный индекс Тиффно (ОФВ1/ФЖЕЛ), МОС<sub>25</sub>, МОС<sub>50</sub> и МОС<sub>75</sub>.

Для измерения ЖЕЛ пациенту предлагали сделать максимально возможный вдох, а затем спокойный и полный выдох в мундштук спирометра. Измерение ФЖЕЛ и остальных показателей производилось при выполнении форсированного дыхательного манёвра, для этого пациенту предлагалось после спокойного выдоха делать максимально глубокий вдох и сразу же после этого без паузы выдохнуть весь воздух с максимальным усилием.

Измерения производились до получения воспроизводимых результатов. Для этого пациентами выполнялось не менее трёх дыхательных манёвров, при условии, что разница между двумя наибольшими ФЖЕЛ не более 150 мл, а разница между двумя наибольшими ОФВ1 не более 150 мл. Результаты измерений выражали в процентах по отношению к должным величинам, в зависимости от расы, пола, роста и возраста пациента.



*Рисунок 3 – Спирометр MicroLab MK8*

### 2.3 Определение уровня суммарных метаболитов оксида азота

Определение уровня суммарных метаболитов оксида азота проводили в сыворотке крови фотоколориметрическим методом в реакции с реактивом Грисса в модификации В. А. Метельской [37]. Забор крови осуществлялся натощак, до приёма лекарственных препаратов из периферической вены. Для получения сыворотки крови цельная венозная кровь отстаивалась в течение 30 минут при комнатной температуре до полного образования сгустка, затем центрифугировалась при скорости вращения ротора 3000 оборотов в минуту в течение 20 минут. Для центрифугирования использовалась настольная центрифуга ELMi CM-6M, оснащённая датчиком дисбаланса [рисунок 4].

Полученную сыворотку крови депротеинизировали 96% этиловым спиртом в соотношении 1 к 2 и центрифугировали в течение 20 мин в микроцентрифуге при ускорении 800 g. Для восстановления нитрит-иона в нитрат-ион использовали хлорид ванадия. Определение суммарного уровня метаболитов оксида азота проводили колориметрическим методом по окраске в реакции с реактивом Грисса (Нева-Реактив, Санкт-Петербург), растворённым в 12% уксусной кислоте, после инкубации в течение 30 минут при температуре 37 °С. Для определения концентрации метаболитов оксида азота измеряли оптическую плотность проб в видимой области спектра при длине волны 540 нм на микропланшетном анализаторе StatFax 3200 (Awareness Technology, США) [рисунок 5]. Для



Рисунок 4 – Центрифуга ELMi CM-6M



Рисунок 5 – Микропланшетный анализатор StatFax 3200

построения калибровочного графика использовали соответствующие водные растворы  $\text{NaNO}_2$ . Полученный результат выражали в  $\text{мкмоль/л}$ .

## 2.4 Измерение содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе

Измерение содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO) проводилось портативной тест-системой NObreath фирмы Bedfont Scientific Ltd (Великобритания) [рисунок 6]. Данный прибор позволяет измерить FeNO – выдыхаемую фракцию оксида азота с помощью электрохимического принципа определения. В качестве единицы измерения FeNO данная тест-система использует миллиардную долю концентрации – ppb. Для NO 1 ppb соответствует  $1.25 \text{ мкг/м}^3$ . Диапазон допустимых измеримых концентраций FeNO для прибора Quark NObreath составляет от 5 до 300 ppb, при погрешности измерений равной  $\pm 5 \text{ ppb}$  при значениях измерений  $\leq 50 \text{ ppb}$  и  $\pm 10\%$  при значениях измерений  $> 50 \text{ ppb}$ . Согласно данным производителя чувствительность датчика составляет 5 ppb. Тест-система Quark NObreath соответствует требованиям, предъявляемым рекомендациями ATS / ERS к измерителям выдыхаемой фракции



Рисунок 6 – Портативная тест-система NObreath

оксида азота используемым в клинической практике. Точность измерений данного портативного прибора по данным исследований не уступает стационарным [114].

Методика измерения включала обучение пациента технике правильного дыхательного манёвра (продолжительность выдоха около 12 секунд со скоростью 50 мл/мин по данным комплектного расходомера). После получения адекватных результатов выполнения дыхательного манёвра производилось трёхкратное измерение. Из трёх полученных значений рассчитывалось среднее арифметическое, которое округлялось до целых единиц и заносилось в индивидуальную регистрационную карту. Измерению предшествовал отказ от приёма пищи и курения в течение не менее чем 2 часов, для исключения искажения полученных результатов. Полученные результаты интерпретировались согласно инструкции по эксплуатации прибора:

Уровень FeNO  $\leq 25$  ppb – низкий: аллергическое воспаление маловероятно. Если пациент получает лечение по поводу бронхиальной астмы и есть симптоматика, вероятно нейтрофильная астма, гипервентиляционный синдром/тревога, дисфункция голосовых связок, риносинусит. Если бессимптомный пациент, получающий ИГКС свидетельствует о хорошей приверженности лечению, рассмотрите возможность снижения дозы ИГКС или, в случае исходно низкой дозы, полной отмены ИГКС.

Уровень FeNO 26-49 ppb – средний: аллергическое воспаление имеется, но умеренное. Если пациент получает лечение по поводу бронхиальной астмы и есть симптоматика, вероятно вирусная инфекция или большая экспозиция аллергена, усильте терапию (не ИГКС), увеличьте дозу ИГКС. Если бессимптомный пациент, получающий ИГКС – при стабильном течении терапию не изменяйте.

Уровень FeNO  $\geq 50$  ppb – высокий: аллергическое воспаление достоверно доказано. Если пациент получает лечение по поводу бронхиальной астмы и есть симптоматика – уточните, соблюдает ли пациент рекомендации полностью, проверьте технику ингаляции, возможно, неадекватно низкая доза ИГКС, продолжается контакт с большой дозой аллергена, угроза обострения/рецидива



бронхиальной астмы. Если бессимптомный пациент, получающий ИГКС при стабильном течении терапию не изменяйте.

## **2.5 Определение полиморфизмов генов синтаз оксида азота**

Материалом для молекулярно-генетического анализа служили образцы ДНК, выделенные из периферической венозной крови. Для исследования выбраны полиморфизмы генов NOS1 (84G/A, rs41279104) и NOS3 (786C/T, rs2070744). Забор крови осуществляли с использованием вакуумных пробирок, содержащих нанесённый на стенки антикоагулянт ЭДТА-К3. Геномная ДНК человека для анализа выделялась из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» фирмы ООО НПФ «Литех» (г. Москва). Анализ генетического полиморфизма осуществляли методом аллель-специфичной ПЦР с последующим электрофоретическим разделением продуктов амплификации. С образцом выделенной ДНК выполняли две параллельные реакции амплификации – по одной с каждой парой аллель-специфичных праймеров. Разделение продуктов амплификации проводили в 3% агарозном геле, приготовленном на TAE буфере, методом горизонтального электрофореза. Для визуализации результатов электрофореза в качестве красителя использовали 1% раствор бромистого этидия. Фрагменты анализируемой ДНК визуализировались под УФ-излучением с длиной волны 310 нм. Результаты анализа флуоресцентного сигнала для каждого из образцов позволяют дать ответ о наличии или отсутствии каждого аллеля в гетеро- или гомозиготной форме. Определение полиморфизмов проводилось на базе Центральной Научно-Исследовательской Лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Для оценки связи полиморфизма с развитием заболевания использовалась общая и мультипликативная модель наследования. Выбор модели основывался на соответствии распределения аллелей равновесию Харди-Вайнберга. В случае выполнения условий равновесия использовалась мультипликативная модель наследования (расчёт частот аллелей) предполагающая, что пенетрантность гена зависит от количества копий предрасполагающего аллеля. При несоответствии полученного распределения генетической информации равновесию Харди-

Вайнберга использовалась общая модель наследования с расчётом частот генотипов.

## 2.6 Статистическая обработка полученных результатов

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась с использованием персонального компьютера под управлением операционной системы Microsoft Windows 8.1 и программного обеспечения Microsoft Excel 2016, StatSoft Statistica 10, DoctorStat 1.9.

Оценка распределения признаков производилась с использованием критерия Шапиро-Уилка, при рассчитанном значении  $p > 0,05$  распределение признавалось нормальным. Для описания признаков, имеющих нормальное распределение, использовались среднее значение ( $M$ ) и стандартная ошибка среднего ( $m$ ) с учётом 95% доверительного интервала, запись результатов дана в виде  $M \pm m$ . Описание количественных признаков, распределение которых отличается от нормального, дано в виде  $Me [Q25; Q75]$ , где  $Me$  – медиана, а  $Q25$  и  $Q75$  – значения нижнего и верхнего квартиля соответственно.

Сравнение двух групп пациентов по количественным признакам произведено с использованием  $t$ -критерия Стьюдента для несвязанных совокупностей для признаков, имеющих нормальное распределение, и  $U$ -критерия Манна-Уитни в случае распределения, отличающегося от нормального.

Сравнение трёх и более несвязанных между собой групп по количественному признаку выполнено с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в случае нормально распределённых признаков и критерия Краскела-Уоллиса для признаков, имеющих распределение отличное от нормального. В дальнейшем, в случае выявления статистически значимых различий между всеми группами для точного описания наблюдаемых явлений использовался критерий Тьюки для нормально распределённых признаков и критерий Манна-Уитни для признаков, имеющих другое распределение.

Для сравнения относительных показателей качественных признаков (частот и долей) между двумя независимыми группами использовался критерий  $\chi^2$

Пирсона или точный критерий Фишера (при наименьшем значении ожидаемого явления менее 5). Для количественной оценки зависимости вероятности исхода от наличия фактора применён показатель отношения шансов с 95% доверительным интервалом.

Для выявления взаимосвязи между двумя количественными признаками использован корреляционный анализ с расчётом коэффициента корреляции  $r$  Пирсона для нормально распределённых показателей и коэффициент корреляции  $r$  Спирмена для показателей, распределение которых отличается от нормального.

Определение сопоставимости распределения аллелей изучаемых полиморфизмов в исследуемой выборке по отношению к популяции проводилось путем оценки соответствия равновесию Харди-Вайнберга.

Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

### ГЛАВА 3. КЛИНИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

В исследование был включён 91 пациент: 43 мужчины (47%) и 48 женщин (53%) в возрасте от 45 до 69 лет. Из них в возрасте от 45 до 49 лет – 21 человек, от 50 до 54 лет – 20 человек, от 55 до 59 лет – 17 человек, от 60 до 64 лет – 29 человек, от 65 до 69 лет – 4 человека. Возрастная структура представлена на рисунке [рисунок 7]. Медиана возраста пациентов составила 55 [50; 62] лет.

Пациенты были разделены на три группы. В основную группу вошёл 31 пациент, страдающий сочетанной патологией бронхиальной астмы и гипертонической болезни, в возрасте от 45 до 66 лет. Из них от 45 до 49 лет – 7 человек, от 50 до 54 лет – 4 человека, от 55 до 59 лет – 7 человек, от 60 до 64 лет – 11 человек, от 65 до 69 лет – 2 человека. Медиана возраста пациентов основной

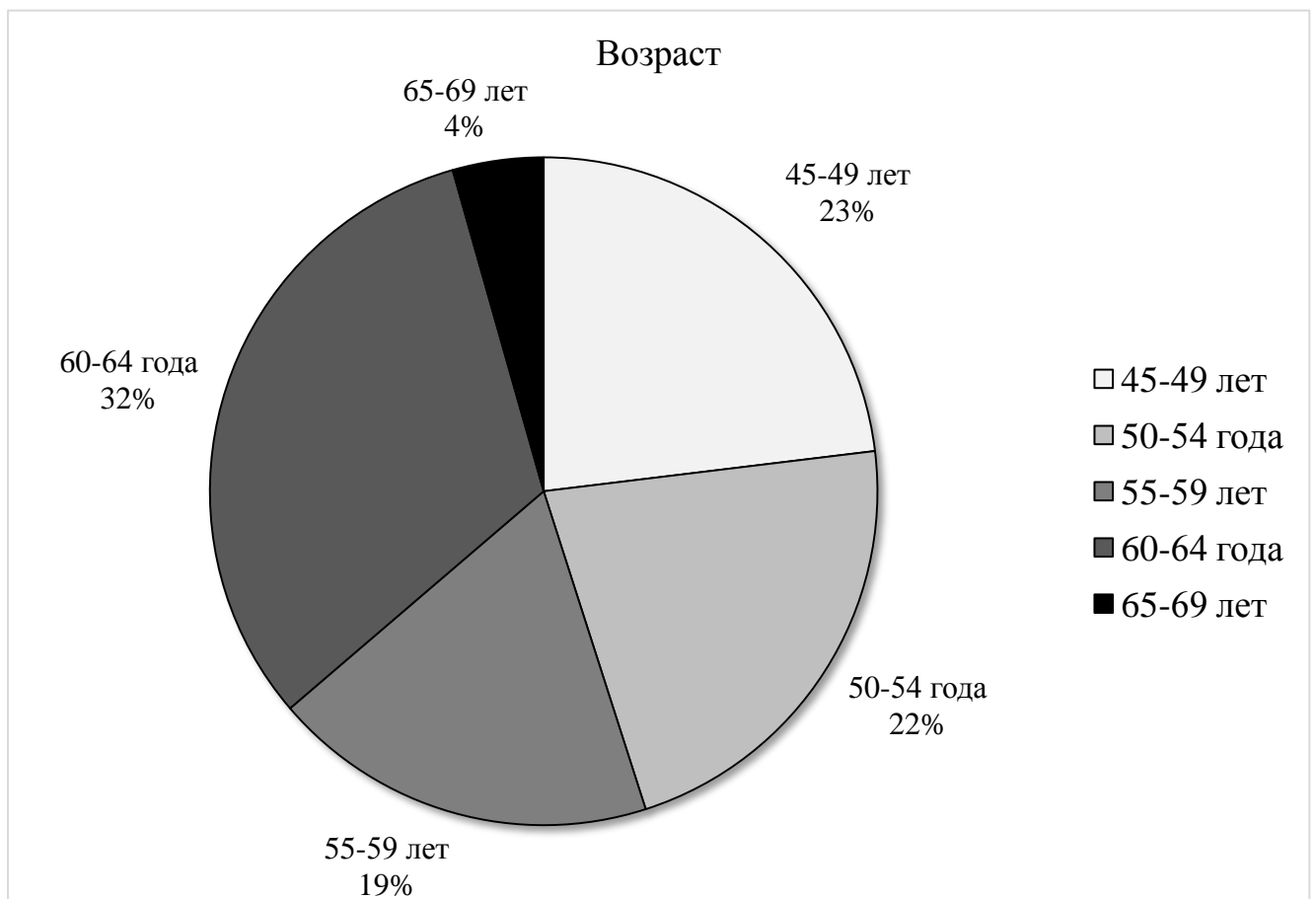
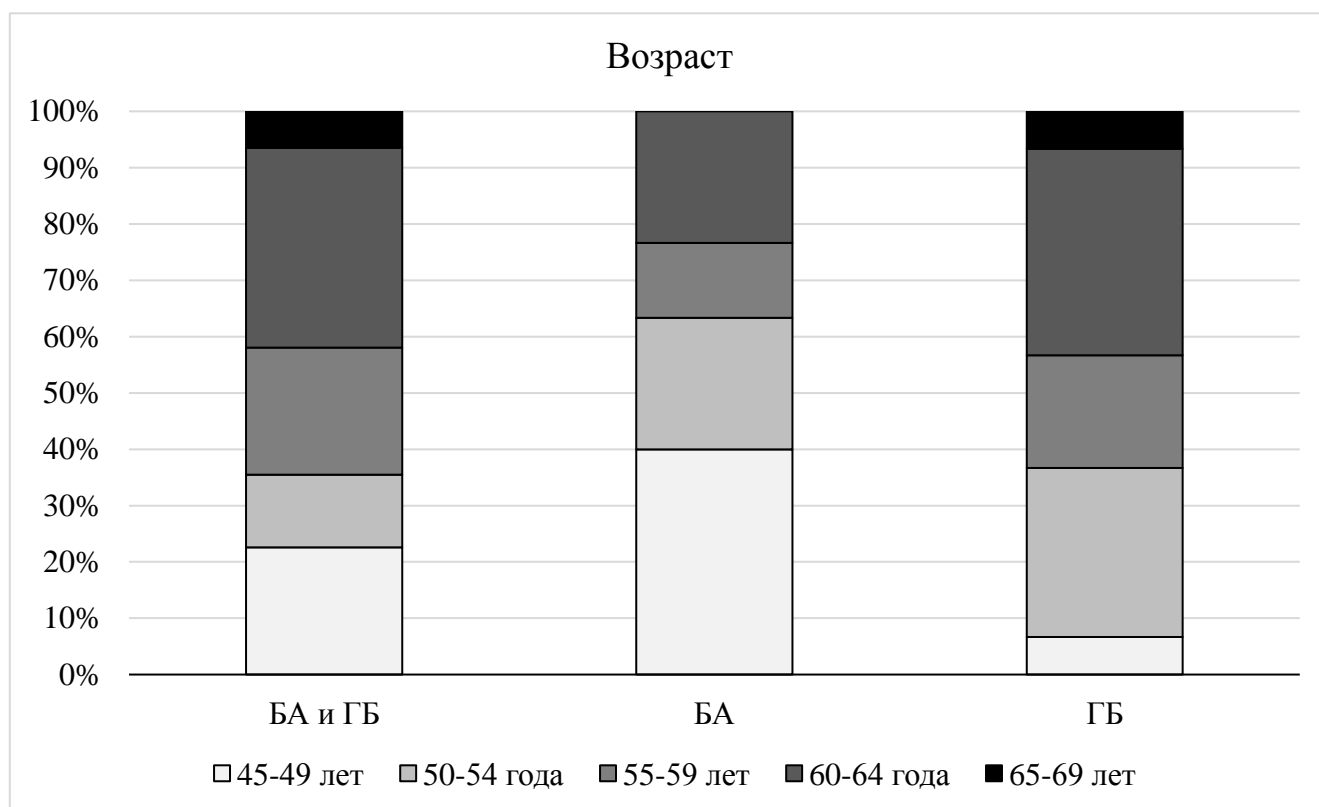


Рисунок 7 – Возрастная структура

группы составила 58 [53; 62] года. Среди пациентов основной группы было 16 мужчин (52%) и 15 женщин (48%).

В первую группу сравнения вошли 30 пациентов с изолированной бронхиальной астмой, в возрасте от 45 до 64 лет. Из них от 45 до 49 лет – 12 человек, от 50 до 54 лет – 7 человек, от 55 до 59 лет – 4 человека, от 60 до 64 лет – 7 человек. Медиана возраста пациентов данной группы составила 53 [46; 58] года. Среди пациентов первой группы сравнения было 15 мужчин (50%) и 15 женщин (50%).

Вторую группу сравнения составляли 30 пациентов с изолированной гипертонической болезнью, в возрасте от 47 до 69 лет. Из них от 45 до 49 лет – 2 человека, от 50 до 54 лет – 9 человек, от 55 до 59 лет – 6 человек, от 60 до 64 лет – 11 человек, от 65 до 69 лет – 2 человека. Медиана возраста пациентов данной группы составила 58 [53; 62] года. Среди пациентов второй группы сравнения было 12 мужчин (40%) и 18 женщин (60%). Возрастная структура исследуемых групп представлена на рисунке [рисунок 8].



*Рисунок 8 – Возрастная структура исследуемых групп*

Среди пациентов страдающих бронхиальной астмой (основная группа и первая группа сравнения) течение средней тяжести встречалось у 17 человек (28%), тяжёлое течение заболевания у 44 человек (72%). В том числе в основной группе (БА и ГБ) – течение средней тяжести у 8 человек (26%), тяжёлое течение у 23 человек (74%), а в группе больных с изолированной БА течение средней тяжести заболевания встречалось у 9 человек (30%), тяжёлое течение заболевания у 21 человека (70%). Не выявлено различий в тяжести бронхиальной астмы у пациентов в зависимости от наличия или отсутствия гипертонической болезни ( $p = 0,937$ ). Выделяя ступени базисной терапии БА больные, постоянно получающие системные ГКС, выделены в 5 ступень базисной терапии, так как использование системных ГКС на более ранних ступенях терапии не предусматривается классификацией GINA. Также не выявлено различий между ступенями базисной терапии ( $p = 0,672$ ) и дозами ИГКС у пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от наличия сопутствующей гипертонической болезни [таблица 2, 3]. Группы изолированной БА и сочетанной БА и ГБ не отличались по используемой противоастматической терапии ( $p = 0,745$ ) [таблица 4] и статусу курения ( $p = 0,441$ ).

Таблица 2 – Распределение пациентов по ступени базисной терапии БА

Ступень базисной терапии БА	Исследуемая группа	
	БА и ГБ (n=31)	БА (n=30)
3	26%	30%
4	55%	43%
5	19%	27%

Таблица 3 – Распределение пациентов по дозам ИГКС при базисной терапии БА

Дозы ИГКС, используемые для базисной терапии БА	Исследуемая группа	
	БА и ГБ (n=31)	БА (n=30)
Низкие	16%	7%
Средние	19%	26%
Высокие	65%	67%

Таблица 4 – Базисная терапия БА в исследуемых группах

Степень базисной терапии БА	Используемая терапия	Исследуемая группа	
		БА и ГБ (n=31)	БА (n=30)
3	ИГКС в низких дозах + ДДБА	16%	7%
	ИГКС в средних дозах	7%	20%
	ИГКС в высоких дозах	3%	3%
4	ИГКС в средних дозах + ДДБА	13%	7%
	ИГКС в высоких дозах + ДДБА	42%	36%
5	ИГКС в высоких дозах + ДДБА + СГКС	19%	27%

Примечание: ИГКС – ингаляционные глюкокортикостероиды, СГКС – системные глюкокортикостероиды, ДДБА – длительнодействующий  $\beta_2$ -адреномиметик.

Анализируя течение гипертонической болезни у пациентов основной группы (БА и ГБ) и второй группы сравнения (ГБ) установлено, что I стадия заболевания встречалась у 10 человек (16%), II стадия у 17 человек (28%), III стадия у 34 человек (56%). В том числе среди пациентов с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни: I стадия – 9 человек (29%), II стадия – 9 человек (29%), III стадия – 13 человек (42%). А в группе больных изолированной гипертонической болезнью: I стадия – 1 человек (3%), II стадия – 8 человек (27%), III стадия – 21 человек (70%). Распределение пациентов по

степени АГ, достигнутой степени АГ и степени риска сердечно-сосудистых осложнений представлено в таблицах 5, 6, 7.

Таблица 5 – Распределение пациентов по степени артериальной гипертензии

Степень артериальной гипертензии	Группа	
	БА и ГБ (n=31)	ГБ (n=30)
I	23%	3%
II	45%	40%
III	32%	57%

Таблица 6 – Распределение пациентов по достигнутой степени АГ

Достигнутая степень артериальной гипертензии	Группа	
	БА и ГБ (n=31)	ГБ (n=30)
I	52%	80%
II	35%	20%
III	13%	0%

Таблица 7 – Распределение пациентов по степени риска сердечно-сосудистых осложнений

Риск сердечно-сосудистых осложнений	Группа	
	БА и ГБ (n=31)	ГБ (n=30)
2 (средний)	29%	3%
3 (высокий)	23%	17%
4 (очень высокий)	48%	80%

При сравнении показателей функции внешнего дыхания между группами получены следующие значения [таблица 8].



Таблица 8 – Показатели функции внешнего дыхания по группам

<b>Показатель ФВД</b>	<b>БА и ГБ</b>	<b>БА</b>	<b>ГБ</b>	<b>p</b>	<b>p<sup>I-II</sup></b>
ФЖЕЛ, %	82 [71; 91]	80 [69; 91]	92 [85; 93]	p = 0,044	p = 0,791
ОФВ1, %	80 [74; 84]	82 [73; 87]	92 [88; 95]	p < 0,001	p = 0,704
ОФВ1/ФЖЕЛ, %	83 [76; 92]	84 [77; 88]	85 [83; 89]	p = 0,227	p = 0,726
МОС25, %	79 [70; 109]	85 [72; 100]	95 [88; 98]	p = 0,120	p = 0,621
МОС50, %	66 [58; 91]	75 [63; 85]	74 [71; 80]	p = 0,206	p = 0,469
МОС75, %	64 [55; 87]	74 [54; 99]	82 [79; 88]	p = 0,035	p = 0,452

У больных сочетанной патологией БА и ГБ по сравнению с группами сравнения отмечаются более низкие показатели ОФВ1 и МОС75, однако не выявлено влияния наличия сочетанной патологии БА и ГБ на другие показатели функции внешнего дыхания. Кроме этого при попарном сравнении основной группы и группы больных изолированной БА установлено отсутствие влияния наличия гипертонической болезни на показатели функции внешнего дыхания больных.

## ГЛАВА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В КРОВИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

При анализе уровня метаболитов оксида азота в крови в зависимости от пола пациентов, не выявлено различий между мужчинами и женщинами (71,6 [67,0; 82,0] мкмоль/л и 74,3 [70,4; 80,8] мкмоль/л соответственно) [рисунок 9].

Анализ корреляционной связи уровней метаболитов оксида азота в крови и возраста пациентов показал наличие достоверной отрицательной корреляции средней силы ( $r = -0,339402$ ,  $p = 0,001$ ). Однако в отдельных группах пациентов данная корреляция не наблюдалась [таблица 9].

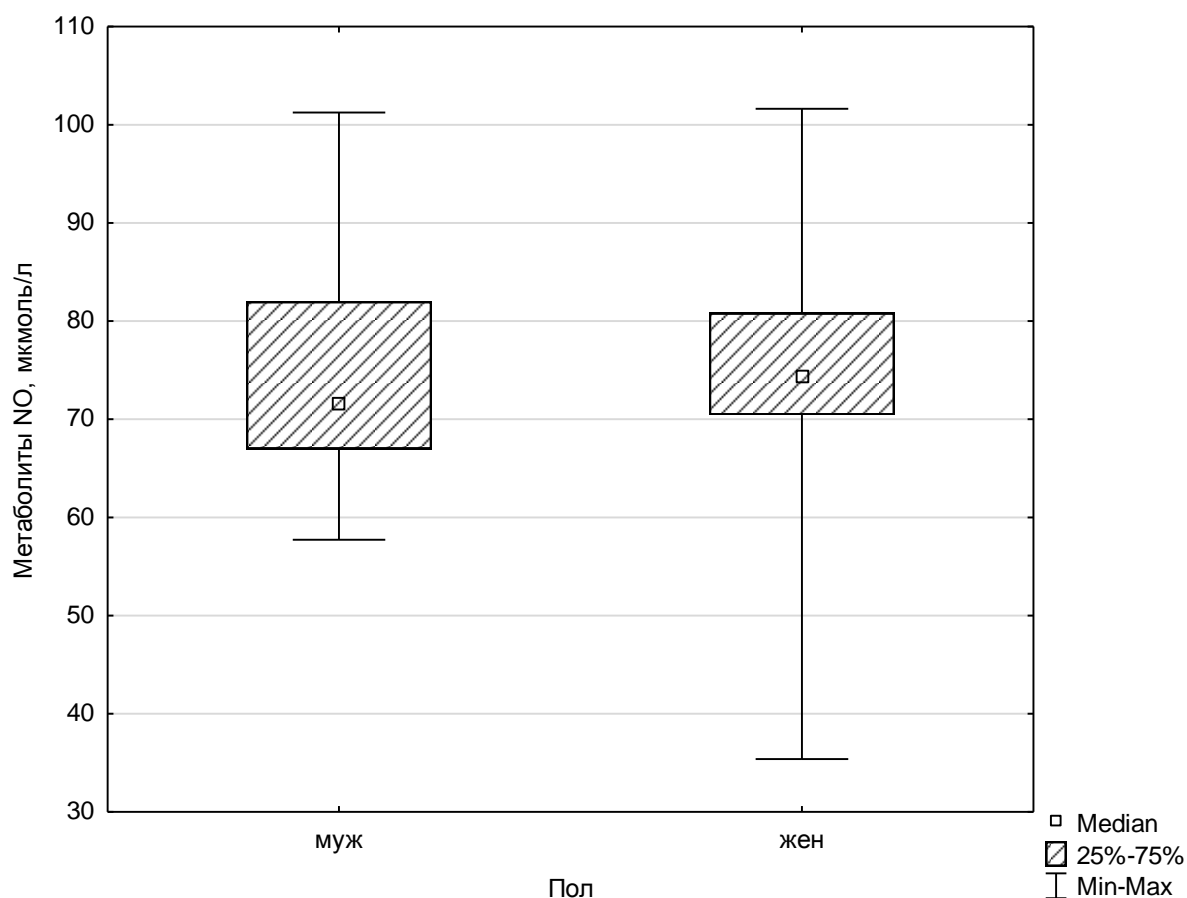


Рисунок 9 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от пола пациентов

Таблица 9 – Взаимосвязь уровней метаболитов оксида азота в крови и возраста в исследуемых группах

Группа пациентов	Коэффициент корреляции r, по Спирмену	Уровень значимости p
БА и ГБ	-0,492160	0,004918
БА	-0,248324	0,185779
ГБ	0,151370	0,424594
Все пациенты	-0,339402	0,000998

Медиана уровня метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой имела наивысшее значение [рисунок 10], составляя 75,6 [70,4; 80,8] мкмоль/л, больных бронхиальной астмой в сочетании с гипертонической болезнью – 72,4 [66,2; 81,2] мкмоль/л, а больных гипертонической болезнью –

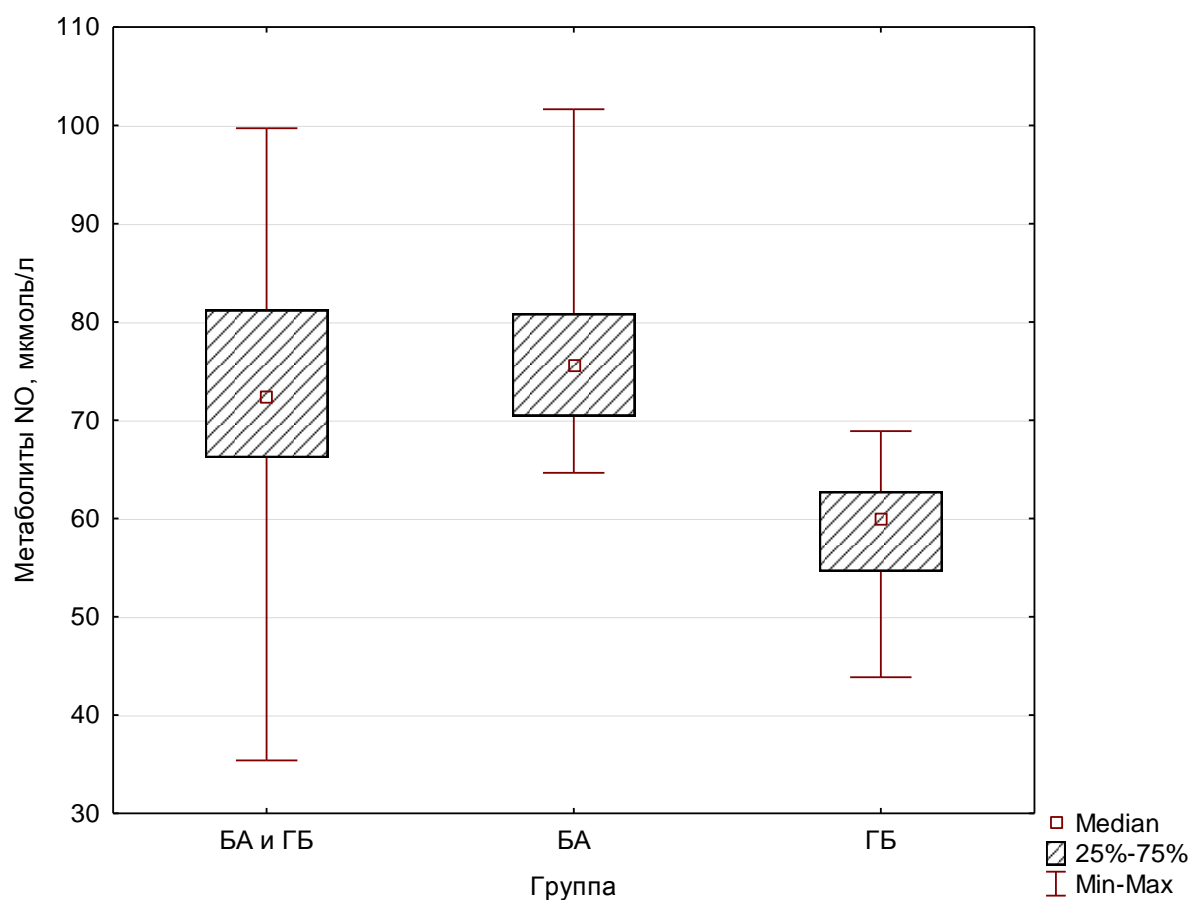


Рисунок 10 – Уровень метаболитов оксида азота в крови по группам

60,0 [54,6; 62,7] мкмоль/л. Наблюдаемые различия уровней метаболитов оксида азота в крови в зависимости от заболевания были статистически значимы ( $p < 0,001$ ).

Парные сравнения групп с помощью критерия Манна-Уитни позволили установить статистически значимые различия уровней метаболитов оксида азота в группе больных бронхиальной астмой и бронхиальной астмой в сочетании с гипертонической болезнью по сравнению с группой больных гипертонической болезнью ( $p < 0,001$  и  $p < 0,001$ , соответственно). Различия между уровнем оксида азота больных бронхиальной астмой с сопутствующей гипертонической болезнью и без неё были статистически не значимы ( $p = 0,188$ ).

При сравнении уровней метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой в зависимости от степени тяжести заболевания [рисунок 11] установлено не статистически значимое ( $p = 0,114$ ) превышение уровней

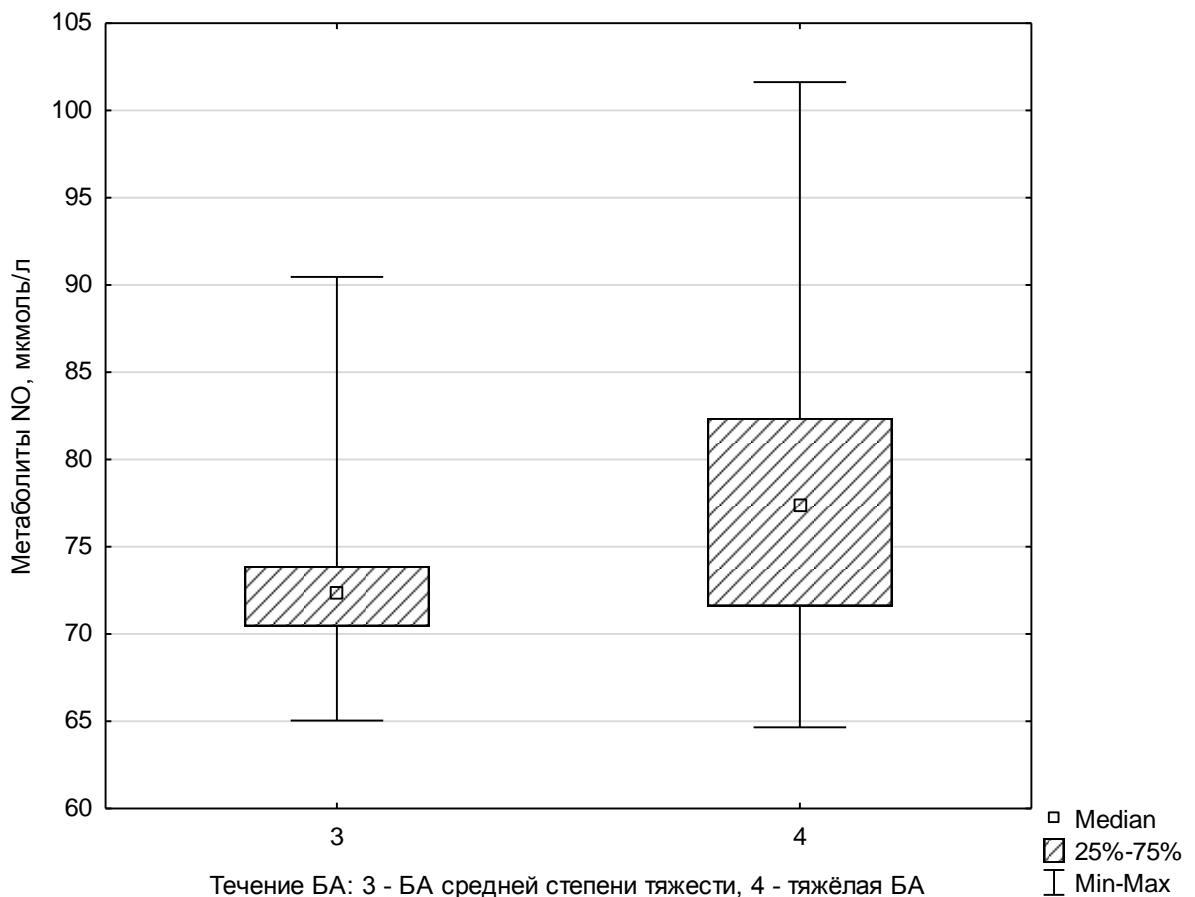


Рисунок 11 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от степени тяжести БА

метаболитов оксида азота у больных с тяжёлым течением БА по сравнению со среднетяжёлым течением БА (77,4 [71,6; 82,4] мкмоль/л против 72,4 [70,4; 73,9] мкмоль/л).

Анализируя уровень метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой в зависимости от степени базисной терапии установлено, что медиана уровня метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой, находящихся на 5 степени терапии имела наивысшее значение, составляя 80,8 [75,6; 82,6] мкмоль/л, на 4 степени – 77,4 [69,7; 78,9] мкмоль/л, а на 3 степени – 72,4 [70,4; 73,9] мкмоль/л [рисунок 12]. Отмеченная тенденция к росту уровней метаболитов оксида азота в зависимости от увеличения объёма базисной терапии, однако, не является статистически значимой ( $p = 0,1850$ ).

Сравнение уровней метаболитов оксида азота в крови больных гипертонической болезнью показало наличие статистически значимой ( $p = 0,0244$ ) тенденции к снижению уровней метаболитов оксида азота в зависимости от

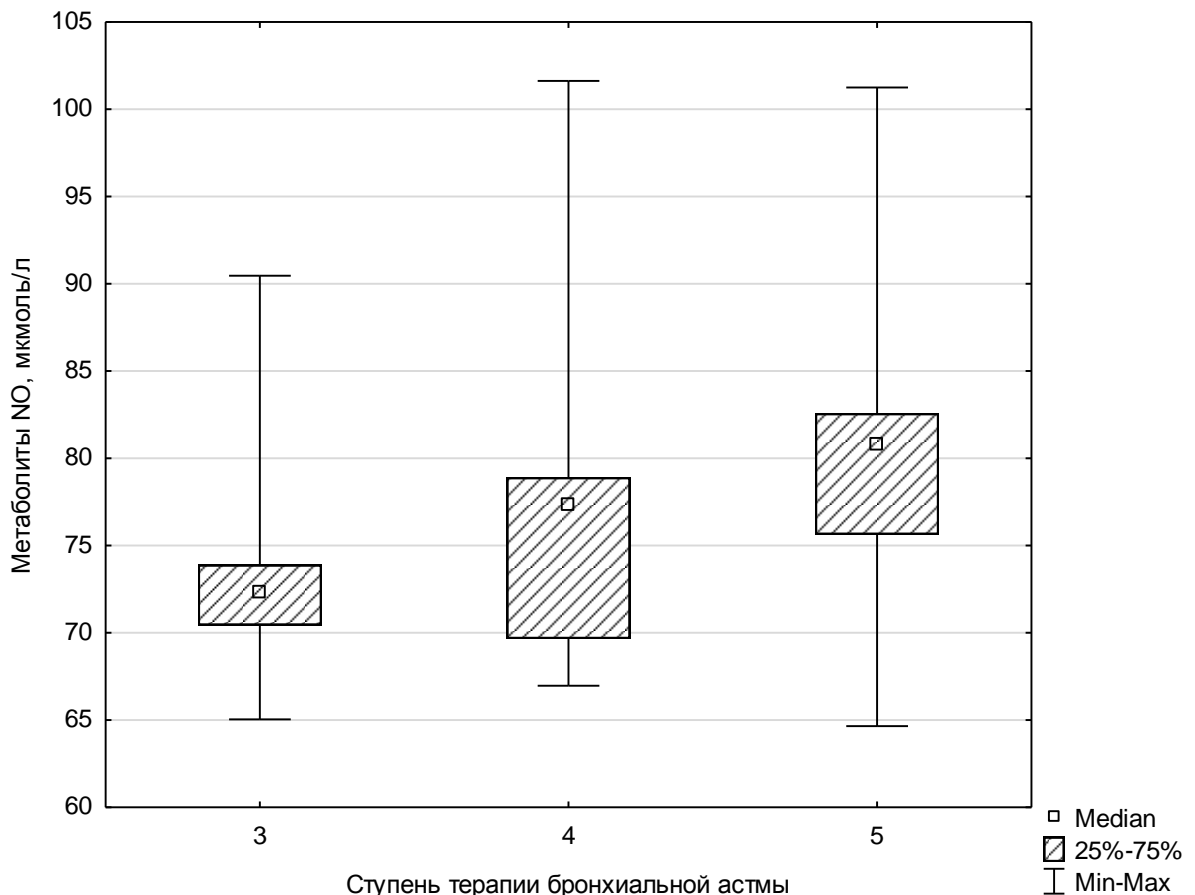


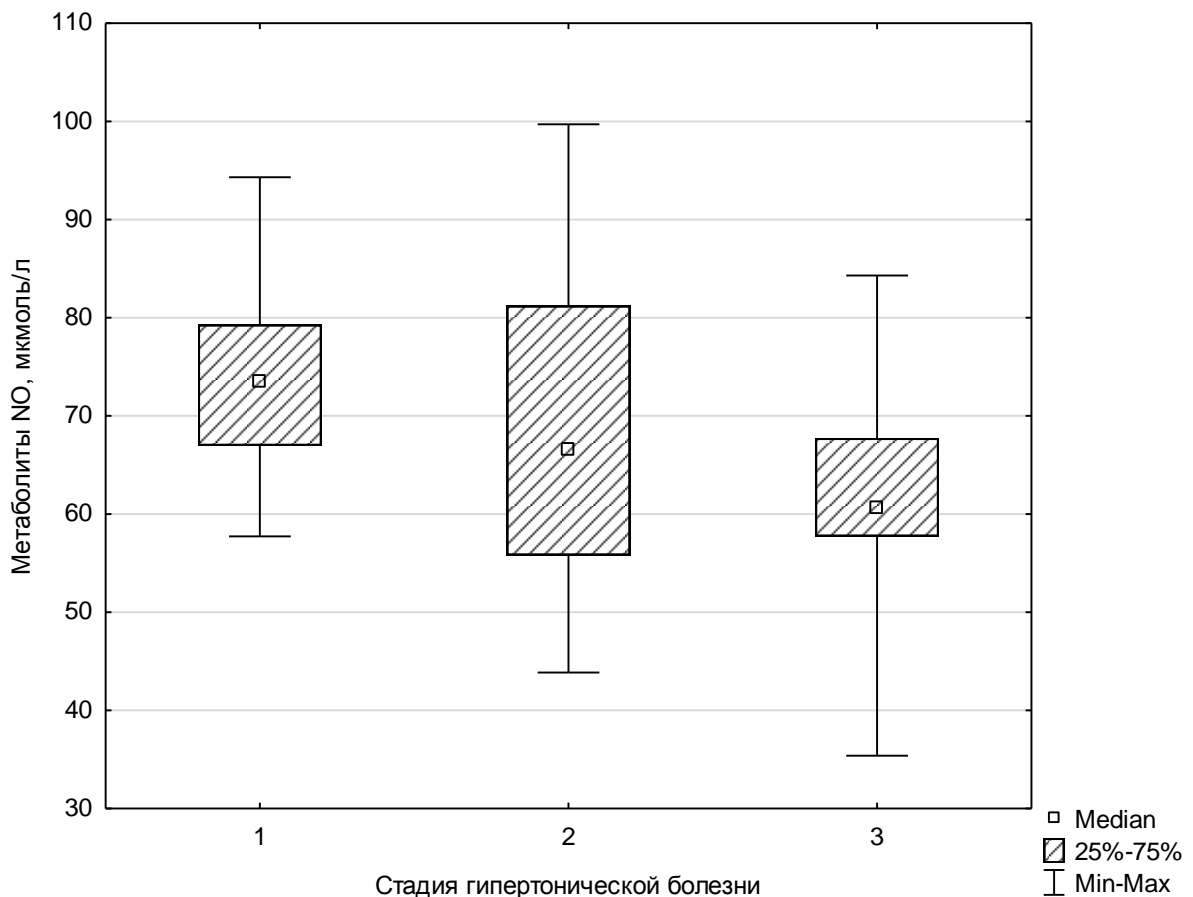
Рисунок 12 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от степени терапии БА

стадии гипертонической болезни [рисунок 13].

Так медиана уровней оксида азота в крови у больных гипертонической болезнью I стадии составила 73,5 [67,0; 79,3] мкмоль/л, II стадии – 66,6 [55,8; 81,2] мкмоль/л, III стадии – 60,8 [57,7; 67,7] мкмоль/л.

Похожая тенденция отмечается и при анализе уровней метаболитов оксида азота в крови больных гипертонической болезнью в зависимости от степени артериальной гипертензии: медиана уровня метаболитов оксида азота при I степени АГ составила 76,6 [64,5; 87,6] мкмоль/л, II степени АГ – 66,0 [57,7; 71,6] мкмоль/л, III степени АГ – 60,8 [58,5; 68,9] мкмоль/л [рисунок 14]. Однако различия между группами статистически незначимы ( $p = 0,1245$ ).

Результаты оценки связи уровня метаболитов оксида азота в крови и показателей функции внешнего дыхания представлены в таблицах 10, 11 и 12.



*Рисунок 13 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от стадии гипертонической болезни*

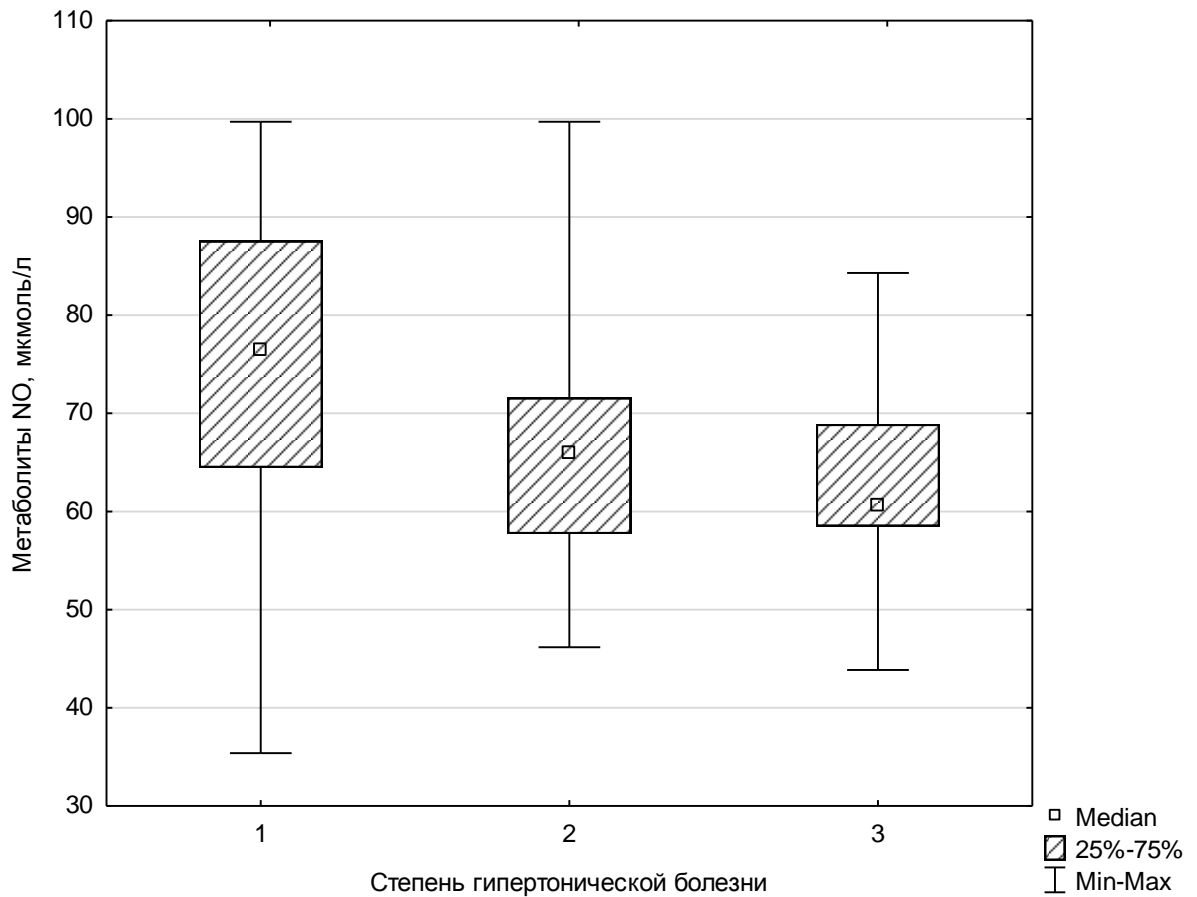


Рисунок 14 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от степени гипертонической болезни

Таблица 10 – Взаимосвязь уровней метаболитов оксида азота в крови, ФВД и числа эозинофилов в ОАК у больных бронхиальной астмой

Пара показателей	Коэффициент корреляции $r$ , по Спирмену	Уровень значимости $p$
Метаболиты NO & ФЖЕЛ	0,250390	0,182025
Метаболиты NO & ОФВ1	0,097044	0,609944
Метаболиты NO & ОФВ1/ФЖЕЛ	0,055580	0,770503
Метаболиты NO & МОС25	-0,025958	0,891695
Метаболиты NO & МОС50	0,339474	0,066461
Метаболиты NO & МОС75	0,030232	0,873994
Метаболиты NO & Эозинофилы в ОАК	-0,188082	0,319585

Таблица 11 – Взаимосвязь уровней метаболитов оксида азота в крови, ФВД и числа эозинофилов в ОАК у больных гипертонической болезнью

<b>Пара показателей</b>	<b>Коэффициент корреляции r, по Спирмену</b>	<b>Уровень значимости p</b>
Метаболиты NO & ФЖЕЛ	-0,069318	0,715877
Метаболиты NO & ОФВ1	-0,173866	0,358168
Метаболиты NO & ОФВ1/ФЖЕЛ	0,104969	0,580921
Метаболиты NO & МОС25	-0,009050	0,962143
Метаболиты NO & МОС50	0,076906	0,686263
Метаболиты NO & МОС75	-0,315520	0,089426
Метаболиты NO & Эозинофилы в ОАК	0,222070	0,238223

Таблица 12 – Взаимосвязь уровней метаболитов оксида азота в крови, ФВД и числа эозинофилов в ОАК у больных БА в сочетании с ГБ

<b>Пара показателей</b>	<b>Коэффициент корреляции r, по Спирмену</b>	<b>Уровень значимости p</b>
Метаболиты NO & ФЖЕЛ	-0,130936	0,482622
Метаболиты NO & ОФВ1	0,045882	0,806387
Метаболиты NO & ОФВ1/ФЖЕЛ	-0,034065	0,855644
Метаболиты NO & МОС25	0,082988	0,657159
Метаболиты NO & МОС50	0,029611	0,874357
Метаболиты NO & МОС75	-0,057945	0,756846
Метаболиты NO & Эозинофилы в ОАК	0,005874	0,974979

При анализе связи уровней метаболитов оксида азота в крови и показателей функции внешнего дыхания, и числа эозинофилов в общем анализе крови не выявлено статистически значимой корреляции ни в одной из трёх групп [таблица 10, 11, 12].



## ГЛАВА 5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЫДЫХАЕМОЙ ФРАКЦИИ ОКСИДА АЗОТА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Измерение содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO) проводилось портативной тест-системой Quark NObreath фирмы Cosmed (Италия). Данный прибор позволяет измерить FeNO – выдыхаемую фракцию оксида азота с помощью электрохимического принципа определения. В качестве единицы измерения FeNO данная тест-система использует миллиардную долю концентрации – ppb, что для NO соответствует  $1.25 \text{ мкг/м}^3$ . Согласно данным производителя чувствительность датчика при измерении оксида азота в выдыхаемом воздухе составляет 5 ppb с погрешностью измерений равной  $\pm 5 \text{ ppb}$  при значениях измерений  $\leq 50 \text{ ppb}$  и  $\pm 10\%$  при значениях измерений  $> 50 \text{ ppb}$ . Тест-система Quark NObreath соответствует требованиям, предъявляемым рекомендациями ATS / ERS к измерителям выдыхаемой фракции оксида азота используемым в клинической практике.

Не выявлено связи определяемой выдыхаемой фракции оксида азота с полом пациентов и возрастом. Так медиана FeNO у мужчин составила 16 [11; 21] ppb, а у женщин 16 [12; 21] ppb. Анализ корреляционной связи FeNO и возраста показал достоверное отсутствие связи ( $r = -0,088778$ ,  $p = 0,403$ )

При сравнении уровня FeNO по группам установлено, что медиана FeNO больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью имела наивысшее значение, составляя 19 [14; 22] ppb, больных бронхиальной астмой – 16 [12; 23] ppb и больных гипертонической болезнью – 16 [9; 20] ppb [рисунок 15]. Несмотря на то, что выявленные различия не были статистически значимы ( $p = 0,149$ ), обращает на себя внимание тенденция к более высоким значениям FeNO наблюдаемых у больных бронхиальной астмой и бронхиальной астмой в сочетании с гипертонической болезнью по сравнению с больными только гипертонической болезнью. Однако величина наблюдаемых различий между

группами находится в пределах погрешности измерений тест-системы NObreath ( $\pm 5$ ppb), что дополнительно не позволяет говорить о значимой связи определяемого у пациента уровня FeNO с наличием сочетанной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни.

Проведя сравнение уровней FeNO у больных БА и БА в сочетании с ГБ в зависимости от степени тяжести заболевания установлено отсутствие связи между FeNO и степенью тяжести БА в обеих группах ( $p = 0,504$ ,  $p = 0,187$ ) [таблица 13]. Аналогично в группе БА и группа БА и ГБ не установлено связи между объёмом базисной терапии бронхиальной астмы и уровнем FeNO ( $p = 0,641$ ,  $p = 0,154$ ) [таблица 14]. Также не выявлено различий между группой больных сочетанной патологией БА и ГБ и больных БА ни в одной из подгрупп в зависимости от степени тяжести БА и объёма терапии, используемой для поддержания контроля заболевания [таблица 13, 14].

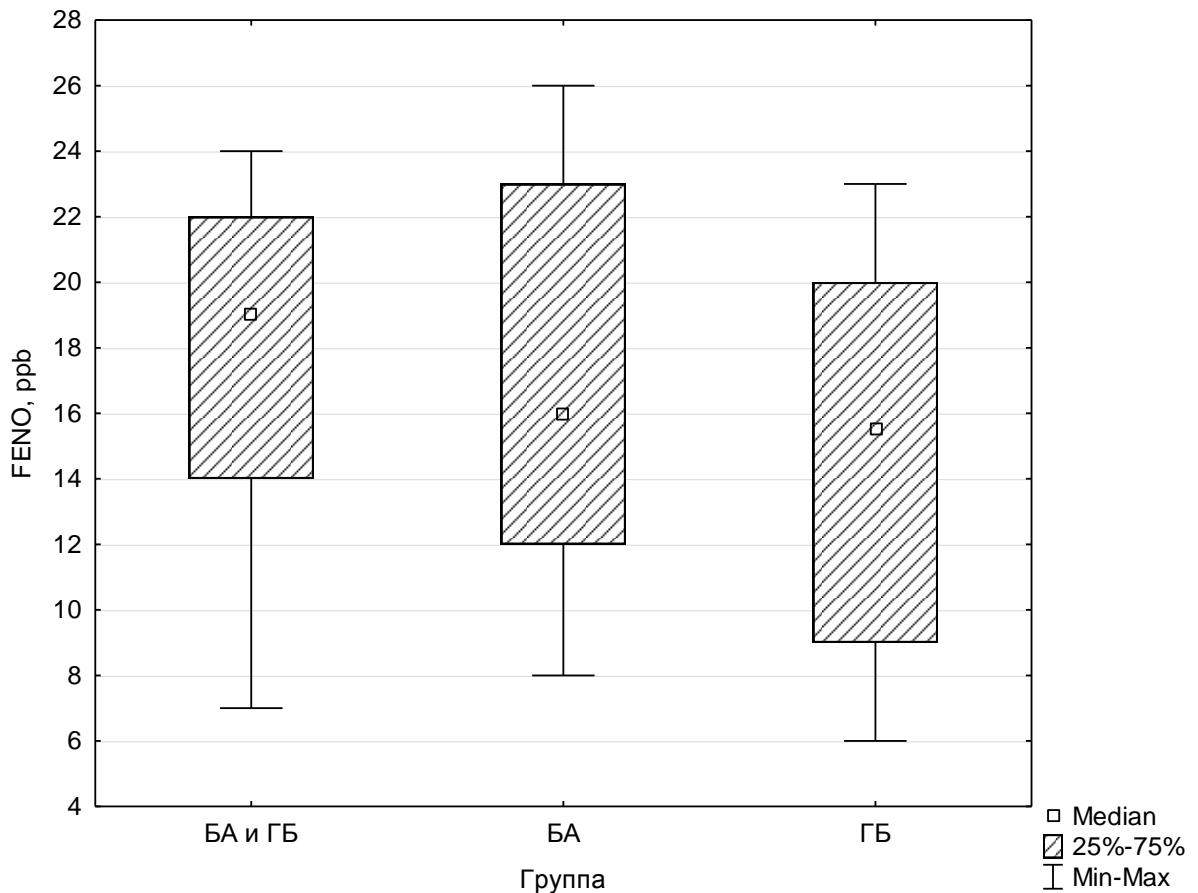


Рисунок 15 – Уровень FeNO по группам

Таблица 13 – Уровень FeNO в зависимости от степени тяжести БА, ppb

Степень тяжести БА	БА и ГБ	БА
Среднетяжёлая БА	15 [12; 21]	15 [13; 16]
Тяжёлая БА	20 [15; 22]	17 [11; 23]
<b>p</b>	<b>p = 0,187</b>	<b>p = 0,504</b>

Таблица 14 – Уровень FeNO в зависимости от объёма терапии БА, ppb

Степень терапии БА	БА и ГБ	БА
3	15 [12; 21]	15 [13; 16]
4	21 [16; 22]	21 [12; 23]
5	16 [14; 20]	16 [10; 21]
<b>p</b>	<b>p = 0,154</b>	<b>p = 0,641</b>

Результаты корреляционного анализа связей уровня FeNO, ФВД и числа эозинофилов в исследуемых группах представлены в таблицах 15, 16 и 17.

Таблица 15 – Взаимосвязь уровней FeNO, ФВД и числа эозинофилов в ОАК у больных бронхиальной астмой

Пара показателей	Коэффициент корреляции r, по Спирмену	Уровень значимости p
FeNO & ФЖЕЛ	-0,049037	0,796924
FeNO & ОФВ1	-0,316203	0,088696
FeNO & ОФВ1/ФЖЕЛ	-0,467400	0,009207
FeNO & МОС25	-0,420379	0,020722
FeNO & МОС50	0,089086	0,639683
FeNO & МОС75	-0,337515	0,068146
FeNO & Эозинофилы в ОАК	0,043266	0,820412

Таблица 16 – Взаимосвязь уровней FeNO, ФВД и числа эозинофилов в ОАК у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью

Пара показателей	Коэффициент корреляции r, по Спирмену	Уровень значимости p
FeNO & ФЖЕЛ	0,115073	0,537615
FeNO & ОФВ1	-0,072246	0,699329
FeNO & ОФВ1/ФЖЕЛ	0,111584	0,550097
FeNO & МОС25	0,176030	0,343515
FeNO & МОС50	-0,386665	0,031653
FeNO & МОС75	-0,052126	0,780639
FeNO & Эозинофилы в ОАК	0,142095	0,445748

Таблица 17 – Взаимосвязь уровней FeNO, ФВД и числа эозинофилов в ОАК у больных гипертонической болезнью

Пара показателей	Коэффициент корреляции r, по Спирмену	Уровень значимости p
FeNO & ФЖЕЛ	0,012002	0,949808
FeNO & ОФВ1	-0,103441	0,586471
FeNO & ОФВ1/ФЖЕЛ	-0,108166	0,569392
FeNO & МОС25	0,107778	0,570783
FeNO & МОС50	-0,319097	0,085658
FeNO & МОС75	-0,249441	0,183743
FeNO & Эозинофилы в ОАК	0,167206	0,377154

Анализируя связь уровня FeNO, функции внешнего дыхания и числа эозинофилов в общем анализе крови у больных бронхиальной астмой установлено наличие умеренной отрицательной статистически-значимой

корреляции между уровнем FeNO и соотношением ОФВ1/ФЖЕЛ, а также уровнем FeNO и МОС25 [таблица 15]. Аналогично в группе больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью выявлена умеренная отрицательная статистически-значимая корреляция между уровнем FeNO и МОС25 [таблица 16]. В группе больных гипертонической болезнью также определяется похожая корреляция между уровнем FeNO и МОС25, однако уровень её статистической значимости не достигает приемлемого ( $p = 0,085658$ ) [таблица 17].

Полученные в исследовании результаты можно проиллюстрировать клиническим примером. Пациент К. 1958 г.р. наблюдался в пульмонологическом отделении ГБУ РО «ОКБ» с диагнозом: Бронхиальная астма, смешанная форма, тяжёлое течение, обострение, ДН II. ИБС: Стенокардия напряжения, ФК 3. Гипертоническая болезнь III ст. III ст. риск 4. ХСН IIА ФК 2. Поступил с жалобами на кашель с небольшим количеством трудно отходящей вязкой стекловидной слизистой мокроты, приступообразную экспираторную одышку при минимальной физической нагрузке, ежедневные приступы удушья в дневное и ночное время, чувство заложенности в грудной клетке, слабость, повышение АД. Из анамнеза страдает бронхиальной астмой около 10 лет, постоянно пользуется беклазоном 250 мкг 2 раза в день, серетид 25/250 мкг 1 раз в день, беродуал до 5 раз в день. Настоящее ухудшение около 3 месяцев, когда участились приступы удушья, стал беспокоить постоянный кашель, увеличилась потребность в беродуале. Объективно – общее состояние удовлетворительное. В лёгких дыхание везикулярное, множество рассеянных сухих свистящих хрипов на выдохе по всем лёгочным полям, ЧДД 24 в мин. Тоны сердца приглушенные, ритм правильный ЧСС 76 в мин. АД – 180/90 мм рт.ст. При обследовании – ОФВ1 80%, ФЖЕЛ 71%, ОФВ1/ФЖЕЛ 75%., МОС25 68%, МОС50 99%, МОС75 88%. На фоне проведённого лечения (преднизолон 60 мг + эуфиллин 2,4% 5,0 в/в кап., ипратерол 15 кап. 2 р/сут ч/з неб., преднизолон 5 мг 6 т/сут со снижением до отмены, серетид 250 мкг 2 вд. 2 р/сут.) обострение купировано, кашель не беспокоит, одышка беспокоит меньше, сохраняется заложенность в грудной

клетке, в лёгких дыхание везикулярное, единичные сухие хрипы на выдохе. После купирования обострение больному выполнено измерение выдыхаемой фракции оксида азота, измерение суммарного уровня метаболитов оксида азота, оценка полиморфизма генов NOS1 и NOS3. Получены следующие результаты: уровень метаболитов оксида азота – 70,82 мкмоль/л, FeNO – 22 ppb, генотип NOS1 84G/A – AA, генотип NOS3 786C/T – CT. Анализируя полученные показатели, обращает на себя внимание, что уровень FeNO у данного пациента выше среднего показателя, определяемого у больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни, что иллюстрирует реакцию уровня выдыхаемой фракции оксида азота на тяжёлое течение бронхиальной астмы. В то же время уровень метаболитов оксида азота у пациента ниже, чем определяется у больных с изолированными БА, и выше, чем у больных с изолированной ГБ. Это иллюстрирует разнонаправленное влияние изучаемых заболеваний на уровень метаболитов оксида азота, который повышается при БА и снижается при ГБ.

## **ГЛАВА 6. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ NOS1 И NOS3 У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ**

Определение полиморфизма генов NOS1 и NOS3 выполнялось методом аллель-специфичной ПЦР с последующим электрофоретическим разделением продуктов амплификации. Материалом для молекулярно-генетического анализа служили образцы ДНК, выделенные из периферической венозной крови. Для исследования выбраны полиморфизмы генов NOS1 (84G/A, rs41279104) и NOS3 (786C/T, rs2070744). Определение полиморфизмов проводилось на базе Центральной Научно-Исследовательской Лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Исследование произведено у 71 человека, среди которых 33 мужчины (46%) и 38 женщин (54%). Пациенты были распределены на 3 группы в зависимости от наличия заболевания. Основная группа включала 24 пациента, страдающего сочетанной патологией бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Группы сравнения – группа больных с изолированной бронхиальной астмой и группа больных с изолированной гипертонической болезнью включали 23 и 24 пациента соответственно. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

### **Определение полиморфизма NOS1 84G/A**

Среди 71 пациента геномная информация полиморфизма NOS1 84G/A распределилась следующим образом: GG-генотип – 18 человек (25%), GA-генотип – 24 человека (34%), AA-генотип – 29 человек (41%), аллель G – 42% (n=60), аллель A – 58% (n=82). Распределение не соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2 = 6,71$ ,  $p = 0,01$ ). Распределение генетической информации по исследуемым группам представлено в таблице [таблица 18].

Таблица 18 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма NOS1 84G/A по группам и их соответствие равновесию Харди-Вайнберга

Генотип / Аллель	БА и ГБ	БА	ГБ	р
GG	0,250	0,174	0,330	$\chi^2 = 2,13,$ $p = 0,712$
GA	0,375	0,391	0,250	
AA	0,375	0,435	0,417	
G	0,437	0,370	0,458	$\chi^2 = 4,19,$ $p = 0,123$
A	0,563	0,630	0,542	
<b>Соответствие равновесию Харди-Вайнберга</b>	$\chi^2 = 1,36,$ $p = 0,24$	$\chi^2 = 0,59,$ $p = 0,44$	$\chi^2 = 5,92,$ $p = 0,02$	

При сравнении встречаемости аллелей G и A полиморфизма NOS1 84G/A между основной группой и больными с изолированной бронхиальной астмой может быть использована как общая модель наследования, так мультипликативная модель наследования, так как распределение генетической информации полиморфизма NOS1 84G/A в исследуемых группах подчиняется равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2 = 1,36, p = 0,24$ ). Общая модель наследования предполагает, что значение наблюдаемого признака зависит от определяемого генотипа и для оценки используется сравнение частот генотипов, а мультипликативная модель наследования предполагает, что пенетрантность зависит от количества копий предрасполагающего аллеля и для оценки используется сравнение частот аллелей. Не выявлено различия между больными основной группы и группой больных БА в частотах наблюдаемых генотипов ( $\chi^2 = 0,43, p = 0,81$ ) и частотах определяемых аллелей ( $\chi^2 = 0,45, p = 0,50$ ). Для сравнения больных с сочетанной патологией БА и ГБ и больных с изолированной гипертонической болезнью может быть использована только общая модель наследования, так как распределение генетической информации у больных



изолированной ГБ не соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2 = 5,92$ ,  $p = 0,02$ ). Также, как и при сравнении частот генотипов в паре БА и ГБ – БА, в паре БА и ГБ – ГБ не выявлено статистически значимых отличий в частотах генотипов ( $\chi^2 = 0,94$ ,  $p = 0,63$ ). Аналогично при сравнении всех трёх исследуемых групп между собой в рамках общей модели наследования не определяется достоверного отличия частот генотипов в зависимости от группы пациентов ( $\chi^2 = 2,13$ ,  $p = 0,712$ ). Однако при этом обращает на себя внимания тенденция к увеличению доли генотипа GG полиморфизма NOS1 84G/A в ряду БА – БА и ГБ – ГБ (0,174 – 0,250 – 0,330), что может указывать на его связь с исследуемой патологией.

Для оценки влияния полиморфизма NOS1 84G/A на течение бронхиальной астмы больные распределены на группы по степеням тяжести и ступеням базисной терапии. Результаты представлены в таблицах [таблица 19, 20]. Установлено, что у больных генетический полиморфизм гена NOS1 не оказывает статистически значимого влияния на тяжесть течения бронхиальной астмы и степень базисной терапии, однако отмечается тенденция к увеличению частоты выявления генотипа GG как с увеличением тяжести бронхиальной астмы, так и с увеличением объёма базисной терапии.

Таблица 19 – Влияние полиморфизма NOS1 84G/A на степень тяжести БА

Степень тяжести БА	Генотип			Аллель		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга
	GG	GA	AA	G	A	
Среднетяжёлая БА	0,154	0,538	0,308	0,423	0,577	$\chi^2 = 0,14$ , $p = 0,71$
Тяжёлая БА	0,235	0,324	0,441	0,397	0,603	$\chi^2 = 3,58$ , $p = 0,06$
<b>p</b>	$\chi^2 = 1,84$ , $p = 0,40$			$\chi^2 = 0,05$ , $p = 0,82$		

Таблица 20 – Влияние полиморфизма NOS1 84G/A на объём терапии БА

Степень терапии БА	Генотип			Аллель		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга
	GG	GA	AA	G	A	
3	0,154	0,538	0,308	0,423	0,577	$\chi^2 = 0,14, p = 0,71$
4	0,190	0,330	0,476	0,357	0,643	$\chi^2 = 1,58, p = 0,21$
5	0,308	0,308	0,385	0,462	0,538	$\chi^2 = 1,89, p = 0,17$
<b>p</b>	$\chi^2 = 2,54, p = 0,64$			$\chi^2 = 0,78,$ $p = 0,68$		

Оценивая связь полиморфизма NOS1 84G/A и течения гипертонической болезни, больные были разделены на группы в зависимости от стадии и степени ГБ. Результаты анализа представлены в таблицах [таблица 21, 22]. Не установлено статистически значимого влияния определяемого генотипа или аллели полиморфизма на стадию или степень гипертонической болезни у пациентов.

Таблица 21 – Влияние полиморфизма NOS1 84G/A на стадию ГБ

Стадия ГБ	Генотип			Аллель		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга
	GG	GA	AA	G	A	
I	0,100	0,500	0,400	0,350	0,650	$\chi^2 = 0,10, p = 0,75$
II	0,300	0,400	0,300	0,500	0,500	$\chi^2 = 0,40, p = 0,53$
III	0,357	0,214	0,429	0,464	0,536	$\chi^2 = 9,07, p < 0,01$
<b>p</b>	$\chi^2 = 4,21, p = 0,38$			$\chi^2 = 0,76,$ $p = 0,69$		

Таблица 22 – Влияние полиморфизма NOS1 84G/A на степень ГБ

Степень ГБ	Генотип			Аллель		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга
	GG	GA	AA	G	A	
I	0,333	0,500	0,167	0,583	0,417	$\chi^2 = 0,00, p = 0,94$
II	0,211	0,316	0,474	0,368	0,632	$\chi^2 = 1,96, p = 0,16$
III	0,348	0,261	0,391	0,478	0,522	$\chi^2 = 5,24, p = 0,02$
<b>p</b>	$\chi^2 = 2,67, p = 0,61$			$\chi^2 = 2,00, p = 0,36$		

Выполнен анализ влияния генотипа NOS1 84G/A на функцию внешнего дыхания больных бронхиальной астмой. Для этого больные разделены на группы в зависимости от выявленного генотипа. Результаты представлены в таблице [таблица 23]. Для всех генотипов и всех показателей ФВД показано отсутствие влияния полиморфизма NOS1 84 G/A.

Таблица 23 – Показатели функции внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой в зависимости от генотипа NOS1 84G/A

Генотип	GG	GA	AA	p
ФЖЕЛ	77 [70; 89]	79 [71; 92]	82 [69; 91]	0,962
ОФВ1	82 [80; 84]	76 [73; 82]	82 [72; 86]	0,571
ОФВ1/ФЖЕЛ	78 [75; 93]	82 [80; 84]	80 [77; 92]	0,581
МОС25	74 [68; 85]	81 [73; 96]	79 [73; 110]	0,505
МОС50	75 [63; 95]	66 [62; 82]	66 [59; 84]	0,705
МОС75	66 [60; 88]	67 [55; 99]	59 [54; 70]	0,271

При сравнении уровней метаболитов оксида азота в зависимости от генотипа NOS1 84G/A установлено, что медиана уровня метаболитов оксида азота в крови пациентов-носителей генотипа GG составляла 66,2 [54,6; 82,4] мкмоль/л, генотипа GA – 68,9 [59,6; 74,9] мкмоль/л, генотипа AA – 68,9 [60,4; 74,3] мкмоль/л

[рисунок 16]. Определяемые различия носили статистически незначимый характер ( $p = 0,990$ ), что позволяет считать, что полиморфизм NOS1 84G/A не оказывает ощутимого влияния на уровень метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью. Аналогичные результаты получены и при анализе влияния полиморфизма NOS1 84G/A на уровень суммарных метаболитов оксида азота в отдельных группах [таблица 24].

Оценивая влияние полиморфизма NOS1 84G/A на уровень выдыхаемой фракции оксида азота, определено, что медиана FeNO у больных носителей GG-генотипа составила 14 [9; 16] ppb, GA-генотипа – 16 [13; 20] ppb, AA-генотипа – 17 [13; 22] ppb. Указанные различия были статистически не значимы ( $p = 0,172$ ) и кроме того находятся в пределах погрешности измерений тест-системы NObreath. Аналогичные результаты получены и при анализе влияния полиморфизма NOS1 84G/A на уровень FeNO в отдельных группах [таблица 25].

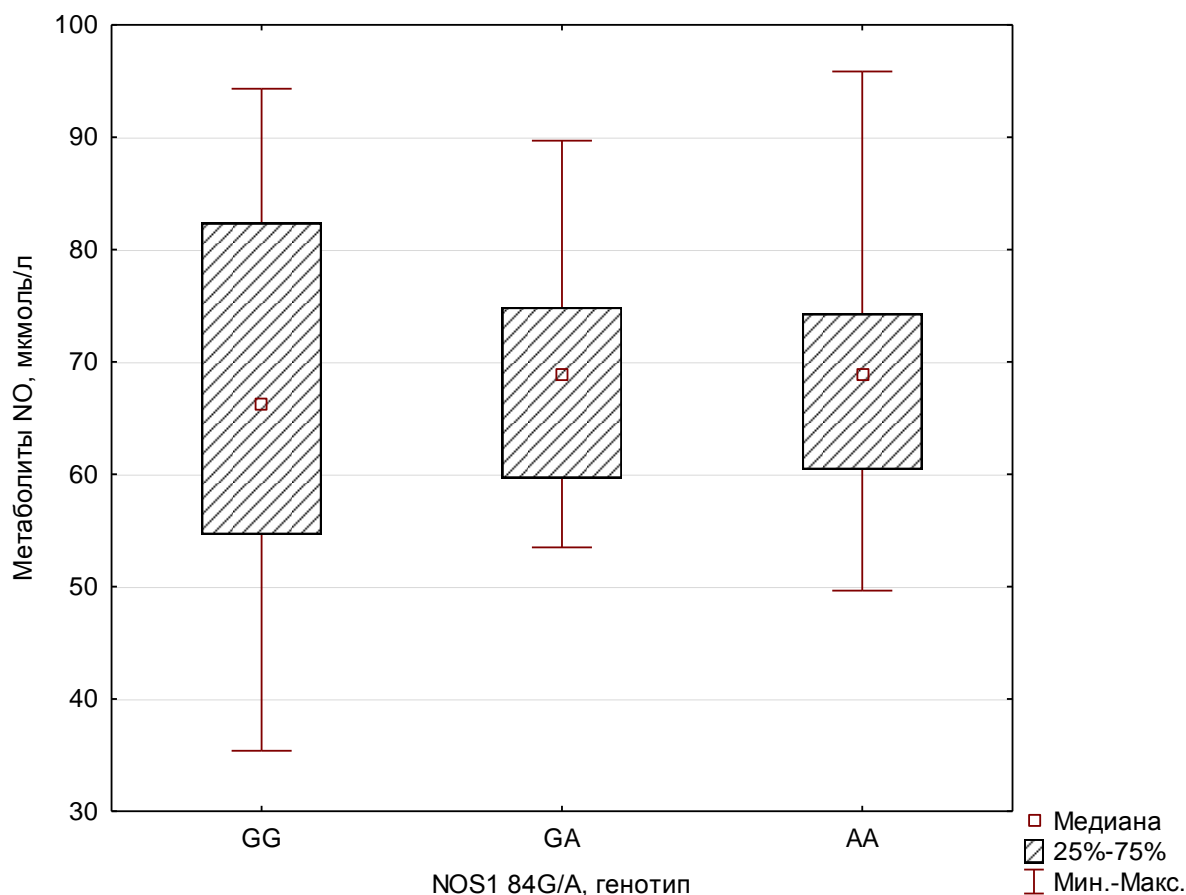


Рисунок 16 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от генотипа NOS1 84G/A

Таблица 24 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от генотипа NOS1 84G/A по группам, мкмоль/л

Генотип	БА и ГБ	БА	ГБ
GG	82,8 [60,0; 84,3]	80,4 [76,2; 86,4]	55,8 [50,2; 62,2]
GA	68,1 [66,2; 78,9]	70,4 [69,7; 77,4]	57,1 [55,4; 60,4]
AA	70,8 [60,8; 72,7]	75,6 [69,7; 80,8]	60,4 [56,6; 63,9]
<b>p</b>	0,432	0,136	0,473

Таблица 25 – Уровень выдыхаемой фракции оксида азота в зависимости от генотипа NOS1 84G/A по группам, ppb

Генотип	БА и ГБ	БА	ГБ
GG	16 [14; 21]	12 [9; 20]	16 [9; 16]
GA	17 [16; 20]	16 [13; 17]	14 [8; 19]
AA	15 [13; 20]	17 [13; 23]	20 [12; 22]
<b>p</b>	0,818	0,546	0,136

### Определение полиморфизма NOS3 786C/T

Среди 71 пациента геномная информация полиморфизма NOS3 786C/T распределилась следующим образом: CC-генотип – 9 человек (12%), CT-генотип – 31 человек (44%), TT-генотип – 31 человек (44%), аллель C – 35% (n=49), аллель T – 65% (n=93), что соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2 = 0,08$ ,  $p = 0,77$ ). Распределение генетической информации по исследуемым группам представлено в таблице [таблица 26].

Таблица 26 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизма NOS3 786С/Т по группам и их соответствие равновесию Харди-Вайнберга

Генотип / Аллель	БА и ГБ	БА	ГБ	р
СС	0,083	0,261	0,042	$\chi^2 = 10,49,$ $p = 0,03$
СТ	0,458	0,522	0,333	
ТТ	0,458	0,217	0,625	
С	0,313	0,522	0,208	$\chi^2 = 10,55,$ $p = 0,005$
Т	0,688	0,478	0,792	
<b>Соответствие равновесию Харди-Вайнберга</b>	$\chi^2 = 0,11,$ $p = 0,74$	$\chi^2 = 0,05,$ $p = 0,83$	$\chi^2 = 0,00,$ $p = 0,96$	

Оценивая связь полиморфизма NOS3 786С/Т с наличием бронхиальной астмы и гипертонической болезни может быть использована и мультипликативная, и общая модели наследования, так как во всех подгруппах распределение генетической информации соответствует равновесию Харди-Вайнберга. Установлено, что исследуемые группы достоверно отличаются друг от друга как по распределению аллелей ( $\chi^2 = 10,55, p = 0,005$ ), так и по распределению отдельных генотипов ( $\chi^2 = 10,49, p = 0,03$ ). Обращает на себя внимание, что распределение генетической информации в основной группе находятся в промежуточном состоянии между больными с изолированной бронхиальной астмой и изолированной гипертонической болезнью. Сравнивая группу больных с коморбидной патологией БА и ГБ и группу больных с изолированной БА установлено достоверное увеличение частоты встречаемости Т-аллели и снижение встречаемости С-аллели ( $\chi^2 = 4,24, p = 0,04$ ). Рассчитывая относительный риск, установлено, что Т-аллель полиморфизма NOS3 786С/Т в 2,4 раза увеличивает шанс развития коморбидной патологии бронхиальной астмы и

гипертонической болезни по сравнению с изолированной бронхиальной астмой (OR = 2,40, 95% CI: 1,04 – 5,56).

Для оценки влияния полиморфизма NOS3 786C/T на течение бронхиальной астмы больные распределены на группы по степеням тяжести и ступеням базисной терапии. Результаты представлены в таблицах [таблица 27, 28]. Не установлено статистически значимого влияния определяемой генетической информации полиморфизма NOS3 786C/T на тяжесть бронхиальной астмы и объём базисной терапии требуемой для поддержания контроля БА.

Таблица 27 – Влияние полиморфизма NOS3 786C/T на степень тяжести БА

Степень тяжести БА	Генотип			Аллель		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга
	СС	СТ	ТТ	С	Т	
Среднетяжёлая БА	0,154	0,385	0,462	0,346	0,441	$\chi^2 = 0,29, p = 0,59$
Тяжёлая БА	0,174	0,529	0,294	0,654	0,559	$\chi^2 = 0,18, p = 0,67$
<b>p</b>	$\chi^2 = 1,21, p = 0,55$			$\chi^2 = 0,70, p = 0,40$		

Таблица 28 – Влияние полиморфизма NOS3 786C/T на объём терапии БА

Степень терапии БА	Генотип			Аллель		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга
	СС	СТ	ТТ	С	Т	
3	0,154	0,385	0,462	0,346	0,441	$\chi^2 = 0,29, p = 0,59$
4	0,143	0,476	0,381	0,381	0,538	$\chi^2 = 0,00, p = 0,96$
5	0,231	0,615	0,154	0,619	0,462	$\chi^2 = 0,74, p = 0,39$
<b>p</b>	$\chi^2 = 3,10, p = 0,54$			$\chi^2 = 2,34, p = 0,31$		

Изучая связь полиморфизма NOS3 786C/T и течения гипертонической болезни у пациентов, больные были разделены на группы в зависимости от стадии и степени ГБ. Результаты представлены в таблицах [таблица 29, 30]. Не

выявлено статистически значимого влияния определяемого генотипа или аллели полиморфизма на стадию или степень гипертонической болезни у пациентов.

Таблица 29 – Влияние полиморфизма NOS3 786С/Т на стадию ГБ

Стадия ГБ	Генотип			Аллель		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга
	СС	СТ	ТТ	С	Т	
I	0,000	0,500	0,500	0,250	0,750	$\chi^2 = 1,11, p = 0,29$
II	0,100	0,400	0,500	0,300	0,700	$\chi^2 = 0,02, p = 0,88$
III	0,071	0,357	0,571	0,250	0,750	$\chi^2 = 0,06, p = 0,80$
<b>p</b>	$\chi^2 = 1,38, p = 0,85$			$\chi^2 = 0,21, p = 0,90$		

Таблица 30 – Влияние полиморфизма NOS3 786С/Т на степень ГБ

Степень ГБ	Генотип			Аллель		Соответствие равновесию Харди-Вайнберга
	СС	СТ	ТТ	С	Т	
I	0,000	0,667	0,333	0,333	0,667	$\chi^2 = 1,50, p = 0,22$
II	0,000	0,421	0,579	0,211	0,789	$\chi^2 = 1,35, p = 0,25$
III	0,130	0,304	0,565	0,283	0,717	$\chi^2 = 1,43, p = 0,23$
<b>p</b>	$\chi^2 = 5,44, p = 0,24$			$\chi^2 = 0,94, p = 0,63$		

Для оценки возможного влияния полиморфизма NOS3 786С/Т на функцию внешнего дыхания больных бронхиальной астмой больные были разделены на три группы в зависимости от определённого генотипа. Результаты сравнения представлены в таблице [таблица 31]. Влияние генотипа на ФВД оказалось статистически значимым только для МОС25 ( $p = 0,029$ ): наличие генотипа ТТ сопровождалось более высоким уровнем по сравнению с генотипами СТ и СС. Кроме этого обращает на себя внимание тенденция к снижению ФЖЕЛ, ОФВ1, МОС50 в ряду генотипов ТТ – СТ – СС [таблица 31].



Таблица 31 – Показатели функции внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой в зависимости от генотипа NOS3 786С/Т

<b>Генотип</b>	<b>СС</b>	<b>СТ</b>	<b>ТТ</b>	<b>р</b>
ФЖЕЛ	70 [68; 73]	86 [71; 92]	81 [71; 91]	0,096
ОФВ1	70 [69; 78,5]	82 [74; 84]	82 [77; 89]	0,083
ОФВ1/ФЖЕЛ	82 [78; 88]	80 [76; 83]	87 [79; 100]	0,083
МОС25	79 [65; 100]	77 [68; 85]	99 [79; 110]	0,029
МОС50	75 [64; 87]	63 [59; 84]	66 [64; 90]	0,510
МОС75	62 [56; 93]	57 [53; 75]	67 [61; 96]	0,158

Анализируя взаимосвязь между генотипом NOS3 786С/Т и уровнем метаболитов оксида азота в крови установлено, что медиана уровня метаболитов оксида азота в крови пациентов-носителей генотипа СС составляла 69,7 [60,0; 70,4] мкмоль/л, генотипа СТ – 68,9 [57,7; 77,4] мкмоль/л, генотипа ТТ – 67,7 [59,7; 79,3] мкмоль/л [рисунок 17]. Полученные результаты указывают на достоверное отсутствие влияния определяемого полиморфизма NOS3 786С/Т на уровень суммарных метаболитов оксида азота в крови ( $p = 0,843$ ). Результаты оценки влияния полиморфизма NOS3 786С/Т на уровень суммарных метаболитов оксида азота в отдельных группах представлены в таблице [таблица 32].

Таблица 32 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от генотипа NOS3 786С/Т по группам, мкмоль/л

<b>Генотип</b>	<b>БА и ГБ</b>	<b>БА</b>	<b>ГБ</b>
СС	59,5 [58,9; 60,0]	70,1 [69,7; 73,5]	43,9 [43,9; 43,9]
СТ	68,1 [60,8; 72,0]	75,8 [70,1; 79,7]	55,6 [51,6; 57,7]
ТТ	79,3 [72,4; 84,3]	78,9 [77,0; 90,5]	60,4 [57,0; 65,4]
<b>р</b>	0,033	0,090	0,024

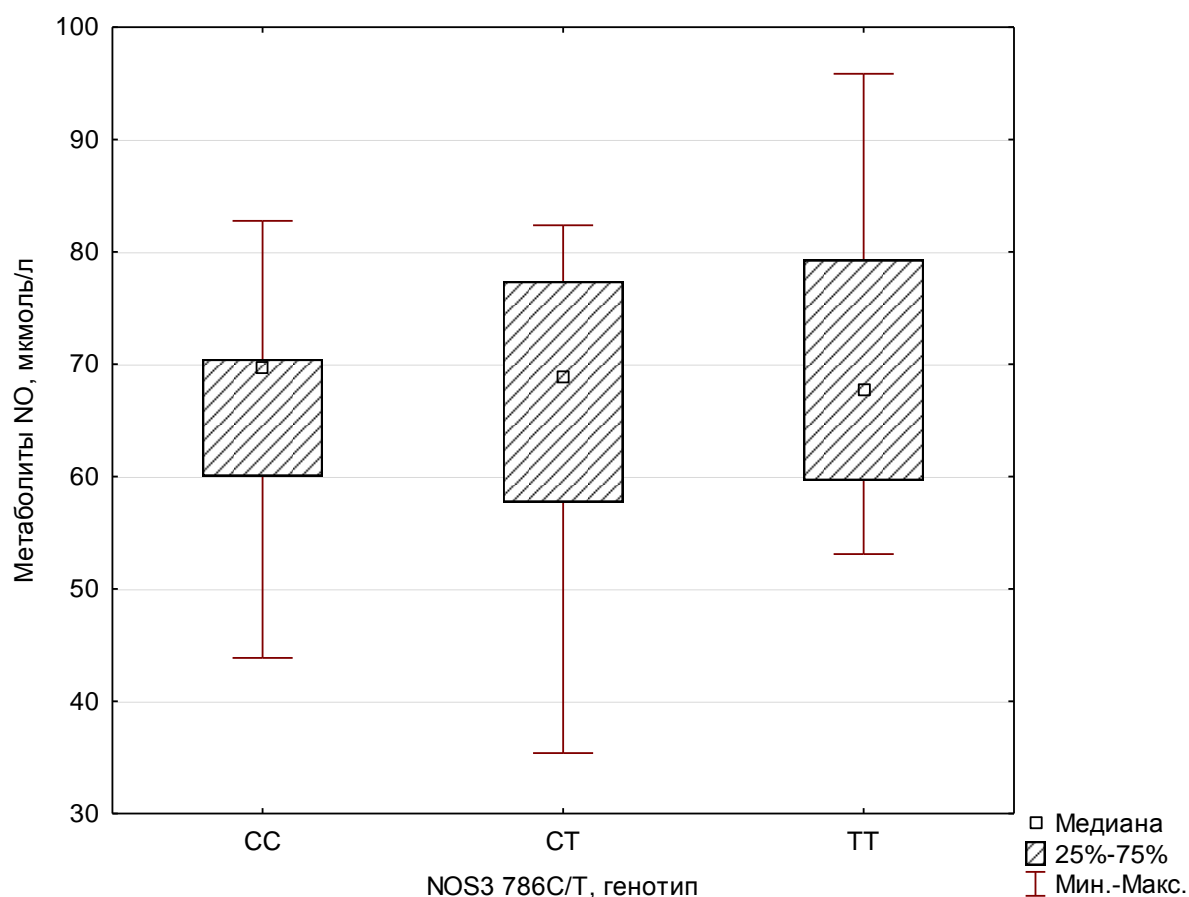


Рисунок 17 – Уровень метаболитов оксида азота в крови в зависимости от генотипа NOS3 786C/T

Результаты оценки влияния полиморфизма NOS3 786C/T на уровень FeNO представлены в таблице 33.

Таблица 33 – Уровень выдыхаемой фракции оксида азота в зависимости от генотипа NOS3 786C/T по группам, ppb

Генотип	БА	БА и ГБ	ГБ
CC	22 [15; 26]	11 [8; 13]	9 [9; 9]
CT	16 [13; 20]	16 [13; 20]	17 [13; 21]
TT	14 [9; 15]	20 [15; 23]	13 [8; 20]
<b>p</b>	0,184	0,062	0,356

Оценивая влияние полиморфизма NOS3 786C/T на уровень выдыхаемой фракции оксида азота, определено, что медиана FeNO у больных носителей CC-генотипа составила 15 [9; 23] ppb, CT-генотипа – 16 [13; 20] ppb, TT-генотипа – 16 [9; 20] ppb. Полученные различия не были статистически значимы ( $p = 0,834$ ), и кроме того находятся в пределах погрешности измерений тест-системы NObreath. Аналогичные результаты получены и при анализе влияния полиморфизма NOS3 786C/T на уровень FeNO в отдельных группах.

## ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Патология сердечно-сосудистой и дыхательной систем в настоящее время занимает лидирующую позицию в структуре заболеваемости и смертности в развитых странах. Среди заболеваний этих групп одно из главных мест занимают бронхиальная астма и гипертоническая болезнь. Гипертоническая болезнь одно из самых распространённых заболеваний на земле, в общей популяции распространённость гипертонии составляет 30-45%, согласно европейским рекомендациям. Это обуславливает её важную социальную значимость. В то же время бронхиальная астма также является глобальной медико-социальной проблемой. Сегодня в мире насчитывается около 300 миллионов больных БА. Согласно прогнозам, к 2025 году этот показатель может составить 400 миллионов.

В патогенезе и бронхиальной астмы, и гипертонической болезни большую роль играет оксид азота. Он и его метаболиты принимают участие в механизмах формирования окислительного стресса, атопии и гиперреактивности бронхов, что отражается в изменении их концентрации в сыворотке больных БА и выдыхаемом воздухе. В ряде исследований показано, что повышение содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе связано с выраженностью клинических симптомов БА. Помимо этого, оксид азота является мощным вазодилататором, что обуславливает его непосредственное влияние на артериальное давление.

В организме оксид азота синтезируется из L-аргинина группой цитохром P-450-подобных гемопротеинов – NO-синтаз, включающих три изоформы: нейрональную (nNOS), макрофагальную (iNOS) и эндотелиальную (eNOS). Эти изоформы соответственно являются продуктами экспрессии генов NOS1, NOS2 и NOS3. В физиологических условиях нейрональная и эндотелиальная синтазы оксида азота конститутивны, но при различных патологических состояниях их экспрессия индуцируется, что сопровождается повышенным образованием NO. Продуцируемый геном NOS1 оксид азота известен как нейротрансмиттер нервных синапсов, а также как регулятор физиологических процессов дыхания. Генетические данные показывают значимость гена NOS1 в патогенезе

бронхиальной гиперчувствительности при астме. Оксид азота, вырабатываемый eNOS, кодируемой геном NOS3, является самым мощным из известных эндогенных вазодилататоров, и его связь с сердечно-сосудистой патологией не вызывает сомнений. Активность экспрессии NOS напрямую зависит нуклеотидного состава, кодирующих генов. Большое количество исследований посвящены изучению различных вариантов полиморфизма генов NOS и их связи с теми или иными заболеваниями и показателями оксида азота.

Таким образом, способность NO выступать в качестве физиологического регулятора или же возможного токсического агента может быть обусловлена активностью изоформ синтазы оксида азота, которая различается при наличии тех или иных мутаций генов NOS. Среди таких мутаций интересны мононуклеотидный полиморфизм гена NOS1 – 84G/A и гена NOS3 – 786C/T. В литературе имеются данные о связи их полиморфизма с повышением артериального давления и развитием бронхиальной астмы.

Целью нашего исследования была оценка клинического значения полиморфизма генов NOS1 и NOS3 и оксида азота у больных бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.

Исходя из поставленной цели, были определены следующие задачи: изучить клинико-функциональные особенности сочетанного течения бронхиальной астмы смешанной формы и гипертонической болезни; оценить клиническое значение уровней метаболитов оксида азота в крови у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни; изучить особенности показателей выдыхаемой фракции оксида азота у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни; оценить клиническое значение полиморфизмов генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни; изучить взаимосвязь полиморфизма генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и гипертонической болезни с уровнем метаболитов оксида азота в крови и выдыхаемой фракцией оксида азота.

Для решения поставленных задач было проведено исследование, в которое были включены 93 пациента, разделённых на 3 группы – больных БА, больных БА в сочетании с ГБ и больных ГБ. Исследование включало оценку функции внешнего дыхания, определение выдыхаемой фракции оксида азота, метаболитов оксида азота в крови и полиморфизма генов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T.

При анализе клинико-демографических особенностей исследуемых групп установлено, что степень тяжести бронхиальной астмы и объём базисной терапии, необходимый для поддержания контроля течения заболевания, не отличались в основной группе и группе больных с изолированной БА.

В нашем исследовании среди больных изолированной гипертонической болезнью отмечается большая доля пациентов с III стадией ГБ по сравнению с больными основной группы, страдающими коморбидной патологией БА и ГБ. Это может быть объяснено особенностями исследуемого контингента: так как в исследование включались только пациенты, проходившие стационарное лечение в отделениях ОКБ, в группе больных коморбидной патологией ведущим заболеванием, послужившим причиной для госпитализации, была бронхиальная астма, в то время как в группе больных изолированной гипертонической болезнью она зачастую была ведущим диагнозом, что объясняет её более тяжёлое течение. Аналогично можно объяснить и различия между исследуемыми группами по степени артериальной гипертензии и риску сердечно-сосудистых осложнений.

Напротив, анализируя достигнутую степень артериальной гипертензии, обращает на себя внимание меньшая доля пациентов с I степенью АГ в группе БА и ГБ, против ГБ, и большая доля II и III степени. Аналогичные результаты, показывающие более высокие значения артериального давления у больных коморбидной патологией были показаны и в более ранних исследованиях [64]. Так исследование Боровкова Н. Н. показало, что пациенты, страдающие сочетанной патологией БА и ГБ, имели более высокие показатели клинического систолического АД (150,0 [140,0; 150,0] мм рт. ст. против 140,0 [135,0; 140,0],

$p < 0,05$ ), диастолического АД (95,0 [90,0; 100,0] против 87,5 [80,0; 90,0] мм рт. ст.,  $p < 0,05$ ), и чаще имели нарушения суточного ритма артериального давления по сравнению с больными ГБ [12]. Аналогичные результаты, но лишь среди больных с неконтролируемым течением БА, получены и в работе Матвейчик А. И., исследовавшей связь суточного профиля артериального давления больных АГ в сочетании с БА [36]. Кроме этого в работе Панфилова Ю.А. показано влияние БА на недостаточное ночное снижение систолического и диастолического АД, а также повышенная вариабельность АД ночью у пациентов с БА [45]. Факт повышения артериального давления у больных с сочетанной патологией может быть объяснен существованием общих звеньев патогенеза между этими заболеваниями. Так показано, что уже на ранних стадиях бронхиальной астмы определяется повышение уровня серотонина в крови, который обладает вазоконстрикторным действием [9, 11, 18]. Некоторые работы показывают возможную связь артериальной гипертензии при бронхиальной астме с усилением выработки эндотелина-1, который обладает мощным вазоконстрикторным действием, однако результаты этих работ весьма противоречивы [58, 111, 123]. К другим веществам повышение концентрации которых при бронхиальной астме может способствовать повышению артериального давления некоторые исследователи относят ИЛ-5, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  [27]. Кроме этого более высокие значения артериального давления у пациентов с сочетанным течением гипертонической болезни и бронхиальной астмы могут быть объяснены и применением при бронхиальной астме препаратов, способных повышать АД (СГКС,  $\beta_2$ -адреномиметики). Таким образом, резюмируя вышеизложенное, наличие бронхиальной астмы и гипертонической болезни у одного больного оказывает взаимное влияние друг на друга, препятствует достижению целевых значений артериального давления и сопровождается более высокой достигнутой степенью артериальной гипертензии по сравнению с изолированной гипертонической болезнью.

Анализируя влияние сочетанной патологии на функцию внешнего дыхания у больных страдающих бронхиальной астмой установлено, что у больных

сочетанной патологией БА и ГБ отмечаются более низкие показатели ОФВ1 и МОС75. Однако влияния на другие показатели ФВД в нашем исследовании не установлено. В литературе имеются противоречивые данные о влиянии ГБ на функцию внешнего дыхания больных БА. Часть работ указывает на ухудшение показателей ФВД у больных с сочетанной патологией, в том числе зависящее от степени артериальной гипертензии [60, 61]. В то же время другие исследователи указывают на отсутствие связи ФВД и наличия ГБ у больных БА [64]. По всей видимости большое влияние на определяемые показатели оказывает фаза течения заболевания в которой проводится исследование. Показано, что наличие коморбидных состояний при бронхиальной астме сопровождается ухудшением контроля над заболеванием [65, 125, 163] и увеличением смертности [99]. В работе Гамазиной М.В. в группе больных с коморбидной патологией бронхиальной астмы и гипертонической болезни уровень контроля был в полтора раза хуже, чем в группе с «чистой» бронхиальной астмой, аналогично в 1,5 и 1,8 раза было повышено число госпитализаций и обострений [15]. Учитывая влияние БА на течение заболевания ожидаемым результатом является и ухудшение показателей ФВД. В то же время исследуя больных, не находящихся в обострении БА, влияние ГБ на ФВД не определяется либо оказывается малозначительным.

При анализе уровня метаболитов оксида азота в крови в нашем исследовании установлена интересная закономерность – в крови больных БА уровень метаболитов оксида азота был выше, чем при сочетанной патологии БА и ГБ, который в свою очередь был выше, чем у больных ГБ. Наблюдаемые различия позволяют сделать предположение, что уровень оксида азота при бронхиальной астме и гипертонической болезни изменяется разнонаправленно.

Попытка увязать изменение уровней метаболитов оксида азота в крови с течением заболевания в нашем исследовании оказалась неудачной. Несмотря на выявление тенденции к росту уровня метаболитов оксида азота в крови в зависимости от увеличения степени тяжести БА, подобная тенденция оказалась статистически незначимой ( $p = 0,114$ ). Аналогично не нашла статистического подтверждения и тенденция к снижению уровня метаболитов оксида азота в



зависимости от увеличения объёма базисной терапии БА ( $p = 0,1850$ ). Хотя факт существования данных тенденций даёт возможность предположить, что оксид азота участвует в патогенезе бронхиальной астмы, при этом его концентрация в крови, вероятно увеличивается при увеличении активности воспалительного процесса. В литературе имеется ограниченное количество данных, касающихся определения оксида азота в крови больных БА, однако множество работ посвящено определению оксида азота в выдыхаемом воздухе. Анализируя литературные данные установлено, что при бронхиальной астме воспалительные изменения в бронхах, вызывают рост уровня NO, связанный с изменением активности синтаз оксида азота. При этом гиперпродукция NO вначале носит приспособительно-адаптивный характер, реализуемый через накопление в дыхательных путях эндогенного бронходилататора – нитрозоглутатиона [1, 31; 117]. Однако воспаление сопровождается избыточным накоплением NO, приводящим к росту продуктов его метаболизма – пероксинитритного аниона (ONOO<sup>-</sup>), пероксинитритной кислоты (ONOOH), которые являются сильнейшими оксидантами и способствуют прогрессирующему расширению зоны воспаления в дыхательных путях [31]. Таким образом, в основе выявленной нами тенденции к увеличению уровня метаболитов оксида азота в крови с увеличением степени тяжести бронхиальной астмы и увеличением объёма базисной терапии, вероятно лежит прогрессирующее воспаление, связанное с окислительным стрессом и гиперпродукцией оксида азота в дыхательных путях.

Определение связи уровня метаболитов оксида азота в крови больных ГБ с течением заболевания позволило установить, что увеличение стадии и степени гипертонической болезни сопровождается снижением уровня оксида азота в крови ( $p = 0,0244$ ) что, вероятно, объясняется участием оксида азота в регуляции функции эндотелия и тонуса гладкомышечных клеток сосудов через активацию растворимой гуанилатциклазы и синтеза вторичного посредника - циклического гуанозинмонофосфата. Кроме этого известно, что снижение синтеза NO связывают с дисфункцией эндотелия, участвующей в патогенезе атеросклероза и артериальной гипертензии. В некоторых исследованиях, показано, что введение

L-аргинина, который является предшественником оксида азота, способствует нормализации артериального давления у больных ГБ. Напротив, ингибиторы синтеза оксида азота вызывают увеличение периферического сосудистого сопротивления у здоровых добровольцев. Отсюда логично предположить, что снижение выработки оксида азота будет связано с повышением артериального давления и соответственно увеличением степени артериальной гипертензии. Однако на уровень метаболитов оксида азота у больных гипертонической болезнью может оказывать влияние объём применяемой антигипертензивной терапии, что требует проведения дополнительных исследований для оценки истинной взаимосвязи показателей оксида азота с течением гипертонической болезни.

Анализируя результаты, полученные при измерении выдыхаемой фракции оксида азота, установлено, что у больных БА отмечаются более высокие показатели, чем у больных ГБ, при этом наивысшие показатели отмечаются в группе больных БА и ГБ. Однако статистическая обработка результатов позволяет сделать заключение о низкой значимости полученных результатов ( $p = 0,149$ ). Дополнительно обращает внимание, что величина наблюдаемых различий между группами находится в пределах погрешности измерений тест-системы NObreath ( $\pm 5ppb$ ). Вместе это позволяет говорить, что сочетанная патология БА и ГБ не оказывает существенного влияния на уровень FeNO, однако её наличие следует учитывать при измерении FeNO у больных БА.

Проведя сравнение уровней FeNO у больных БА и БА в сочетании с ГБ в зависимости от степени тяжести заболевания установлено отсутствие связи между FeNO и степенью тяжести БА в обеих группах ( $p = 0,504$ ,  $p = 0,187$ ). Аналогично в группе БА и группа БА и ГБ не установлено связи между объёмом базисной терапии бронхиальной астмы и уровнем FeNO ( $p = 0,641$ ,  $p = 0,154$ ). Также не выявлено различий между группой больных сочетанной патологией БА и ГБ и больных БА ни в одной из подгрупп в зависимости от степени тяжести БА и объёма терапии, используемой для поддержания контроля заболевания. Проведя корреляционный анализ связи FeNO и показателей ФВД установлено наличие

умеренной отрицательной корреляции FeNO с соотношением ОФВ1/ФЖЕЛ и FeNO с МОС25 у больных с изолированной БА и корреляции FeNO с МОС25 у больных основной группы. Однако нахождение связей лишь в некоторых из исследуемых групп и лишь с некоторыми показателями ФВД позволяет говорить об отсутствии значимой связи между функцией внешнего дыхания и определением оксида азота в выдыхаемом воздухе.

Анализируя распределение генетической информации полиморфизма NOS1 84G/A в исследуемых группах не определяется достоверного отличия частот генотипов в зависимости от группы пациентов ( $\chi^2 = 2,13$ ,  $p = 0,712$ ), однако обращает на себя внимания тенденция к увеличению доли генотипа GG полиморфизма NOS1 84G/A в ряду БА < БА и ГБ < ГБ (0,174 – 0,250 – 0,330), что может указывать на его связь с исследуемой патологией. Оценивая клиническое значение полиморфизма NOS1 84G/A определено, что статистически значимого влияния на тяжесть течения бронхиальной астмы и степень базисной терапии данный полиморфизм не оказывает, хотя с увеличением как тяжести течения, так и объёмов базисной терапии, у больных бронхиальной астмой отмечается тенденция к увеличению частоты выявления генотипа GG, что также указывает на определённую роль GG-генотипа NOS1 84G/A в патогенезе бронхиальной астмы. Однако по всей видимости роль полиморфизма NOS1 84G/A в патогенезе сочетанной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни очень небольшая, так как в нашем исследовании не установлено влияние данного полиморфизма на течение гипертонической болезни, уровни оксида азота в крови и выдыхаемом воздухе и функцию внешнего дыхания у пациентов.

Оценивая распределение генетической информации полиморфизма NOS3 786C/T в исследуемых группах установлено, что исследуемые группы достоверно отличаются друг от друга как по распределению аллелей ( $\chi^2 = 10,55$ ,  $p = 0,005$ ), так и по распределению отдельных генотипов ( $\chi^2 = 10,49$ ,  $p = 0,03$ ), что позволяет говорить о связи данного полиморфизма с развитием бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Интересно, что распределение генетической информации в основной группе находится в промежуточном состоянии между

больными с изолированной бронхиальной астмой и изолированной гипертонической болезнью, что позволяет предположить о том, что данный полиморфизм по-разному изменяет активность синтазы оксида азота при бронхиальной астме и гипертонической болезни. Сравнивая группу больных с коморбидной патологией БА и ГБ и группу больных с изолированной БА установлено достоверное увеличение частоты встречаемости Т-аллели и снижение встречаемости С-аллели ( $\chi^2 = 4,24$ ,  $p = 0,04$ ). Рассчитывая относительный риск, установлено, что Т-аллель полиморфизма NOS3 786С/Т в 2,4 раза увеличивает шанс развития коморбидной патологии бронхиальной астмы и гипертонической болезни по сравнению с изолированной бронхиальной астмой (OR = 2,40, 95% CI: 1,04 – 5,56). Полученные результаты в целом соотносятся с описанными ранее. Так в исследовании Калинина Р.Е. показано, что генотип ТТ чаще встречается у пациентов с трофическими язвами и тяжёлыми трофическими нарушениями у пациентов с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей, что также как и развития артериальной гипертензии связано с уменьшением продукции оксида азота в эндотелии у пациентов с данным полиморфизмом [49]. А исследование, проведённое в Чехии показывает, что Т-аллель полиморфизма NOS3 786С/Т может быть связана развитием артериальной гипертензии [81]. Это позволяет рекомендовать оценку полиморфизма для оценки риска развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой.

Оценивая связь полиморфизма NOS3 786С/Т и нарушения функции внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой установлено влияние генотипа на ФВД ( $p = 0,029$ ): наличие генотипа ТТ сопровождалось более высоким уровнем МОС25 по сравнению с генотипами СТ и СС. Кроме этого обращает на себя внимание, что в ряду ТТ – СТ – СС отмечается тенденция к снижению некоторых показателей функции внешнего дыхания, в частности ФЖЕЛ, ОФВ1, МОС50. Это позволяет сделать предположение о том, что наличие С-аллели полиморфизма NOS3 786С/Т у больных бронхиальной астмой неблагоприятно сказывается на показателях функции внешнего дыхания.

Анализируя взаимосвязь между генотипом NOS3 786C/T и уровнем метаболитов оксида азота в крови установлено, что медиана уровня метаболитов оксида азота в крови пациентов-носителей генотипа CC составляла 69,7 [60,0; 70,4] мкмоль/л, генотипа CT – 68,9 [57,7; 77,4] мкмоль/л, генотипа TT – 67,7 [59,7; 79,3] мкмоль/л. Несмотря на то, что медианы уровней метаболитов оксида азота практически не отличаются ( $p = 0,843$ ) при сравнении генотипов среди всех исследуемых больных, в отдельных исследуемых группах отмечается отчётливая связь полиморфизма NOS3 786C/T и уровня оксида азота в крови. Так у больных основной группы и больных гипертонической болезнью уровень метаболитов оксида азота в крови достоверно нарастает в ряду  $CC < CT < TT$  ( $p = 0,033$  и  $p = 0,024$  соответственно). Аналогичное нарастание отмечается и у больных бронхиальной астмой, однако уровень статистической значимости несколько меньше ( $p = 0,090$ ). В целом это позволяет сделать заключение, что полиморфизм NOS3 786C/T оказывает влияние на уровень метаболитов оксида азота в крови, при этом наличие C-аллели полиморфизма сопровождается более низкими показателями по сравнению с T-аллелью.

Оценивая влияние полиморфизмов NOS1 84G/A и NOS3 786C/T на уровень выдыхаемой фракции оксида азота установлено достоверное отсутствие связи между генотипом, определяемым у пациента и уровнем FeNO во всех исследуемых группах. Такое отсутствие связи может быть объяснено высокой вариабельностью результатов определения выдыхаемой фракции оксида азота, отмечаемой в литературе [120].

## ВЫВОДЫ

1. Сочетанное течение смешанной формы бронхиальной астмы и гипертонической болезни препятствует достижению целевых значений артериального давления и сопровождается более высокой степенью артериальной гипертензии по сравнению с изолированной гипертонической болезнью.

2. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных с изолированной бронхиальной астмой выше, чем в крови больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни выше, чем в крови больных с изолированной гипертонической болезнью.

3. У пациентов с изолированной гипертонической болезнью отмечается снижение уровня метаболитов оксида азота в крови с увеличением стадии гипертонической болезни и степени артериальной гипертензии ( $p = 0,0244$ ). Степень тяжести и объём базисной терапии бронхиальной астмы не оказывает достоверного влияния на уровень метаболитов оксида азота в крови.

4. Уровень выдыхаемой фракции оксида азота у больных бронхиальной астмой не зависит от наличия гипертонической болезни.

5. Частота встречаемости Т-аллели полиморфизма NOS3 786С/Т у больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни выше, чем у больных с изолированной бронхиальной астмой ( $p = 0,04$ ). Наличие Т-аллели полиморфизма NOS3 786С/Т ассоциировано с более высокой частотой развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой (OR = 2,40, 95% CI: 1,04 – 5,56).

6. С-аллель полиморфизма NOS3 786С/Т ассоциирована с более низким уровнем метаболитов оксида азота в крови у больных с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезнью, по сравнению с Т-аллелью. При этом уровень метаболитов оксида азота в крови возрастает в ряду генотипов СС < СТ < ТТ ( $p = 0,033$ ,  $p = 0,024$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенты с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни реже достигают целевых показателей артериального давления по сравнению с пациентами с изолированной гипертонической болезнью, поэтому имеют более высокий риск сердечно-сосудистых осложнений и требуют активного наблюдения в рамках диспансерных мероприятий для их предотвращения.

2. Измерение уровня метаболитов оксида азота в крови может быть рекомендовано как дополнительный диагностический метод при обследовании больных с гипертонической болезнью, при этом пониженный уровень метаболитов оксида азота соответствуют более высокой стадии гипертонической болезни.

3. Измерение выдыхаемой фракции оксида азота может быть использовано как у пациентов с изолированной бронхиальной астмой, так и в сочетании с гипертонической болезнью.

4. Оценка полиморфизма NOS3 786C/T может быть использована для выявления больных бронхиальной астмой с повышенным риском развития гипертонической болезни. При этом T-аллель полиморфизма NOS3 786C/T ассоциирована с увеличением частоты развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой в 2,4 раза.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абатуров, А.Е. Роль монооксида азота в системе неспецифической защиты респираторного тракта [Текст] / А.Е. Абатуров // Здоровье ребенка. — 2009. — № 1. — С. 130-137.
2. Артериальная гипертензия: распространенность, осведомленность, прием антигипертензивных препаратов и эффективность лечения среди населения Российской Федерации [Текст] / С.А. Шальнова [и др.] // Российский кардиологический журнал. — 2006. — № 4 (60). — С. 45-50.
3. Артериальная гипертензия в европейской части Российской Федерации с 1998 по 2007 год: чего мы добились на популяционном уровне? [Текст] / И.В. Фомин [и др.] // Сердце: журнал для практикующих врачей. — 2016. — Т. 15, № 5 (91). — С. 369-378.
4. Архипов, В.В. Контроль над бронхиальной астмой в России: результаты многоцентрового наблюдательного исследования НИКА [Текст] / В.В. Архипов, Е.В. Григорьева, Е.В. Гавришина // Пульмонология. — 2011. — № 6. — С. 87-93.
5. Белова, И.В. Эпидемиология сочетания сердечно-сосудистых заболеваний и бронхиальной астмы у взрослых пациентов (на примере города Новокуйбышевска) [Текст] / И.В. Белова, О.Л. Кулагин, А.В. Жестков // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — 2013. — Т. 15, № 3-6. — С. 1728-1730.
6. Бельских, Э.С. Распространенность коморбидных состояний у пациентов с бронхиальной астмой [Текст] / Э.С. Бельских, О.М. Урясьев, С.А. Куликов // Материалы ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. — Рязань: ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, 2016. — С. 232-235.
7. Бельтюков, Е.К. Эпидемиология аллергического ринита и бронхиальной астмы в Свердловской области [Текст] / Е.К. Бельтюков, К.П. Братухин // Доктор.Ру. — 2015. — № 7. — С. 11-14.



8. Бердникова, Л.В. Влияние артериальной гипертензии на качество жизни больных бронхиальной астмой [Текст] / Л.В. Бердникова, И.С. Добротина, Н.Н. Боровков // Архивъ внутренней медицины. — 2012. — № 2. — С. 71-75.
9. Бобров, В.А. Системная артериальная гипертензия при хроническом обструктивном бронхите: современные взгляды и новые понимания [Текст] / В.А. Бобров, И.М. Фуштейн, В.И. Боброва // Клиническая медицина. — 1995. — № 3. — С. 24.
10. Бобров, В.А. Системная артериальная гипертензия у больных бронхиальной астмой [Текст] / В.А. Бобров, С.Н. Поливида // Терапевтический архив. — 1982. — № 5. — С. 73-76.
11. Бобров, В.А. Состояние миокарда, гемодинамика и прессорные гуморальные субстанции у больных с бронхиальной астмой и артериальной гипертензией [Текст] / В.А. Бобров, С.Н. Поливида, В.И. Боброва // Клиническая медицина. — 1989. — № 11. — С. 31-35.
12. Боровков, Н.Н. Особенности артериального давления по данным суточного мониторирования у больных артериальной гипертензией на фоне обострения бронхиальной астмы [Текст] / Н.Н. Боровков, И.С. Добротина, Л.В. Бердникова // Медицинский альманах. — 2012. — № 1. — С. 183-152.
13. Бронхиальная астма в России: результаты национального исследования качества медицинской помощи больным бронхиальной астмой [Текст] / А.Г. Чучалин [и др.] // Пульмонология. — 2006. — № 6. — С. 94-102.
14. Верткин, А.Л. Коморбидность [Текст] / А.Л. Верткин, А.С. Скотников // Лечащий врач. — 2013. — № 8. — С. 78.
15. Гамазина, М.В. Бронхиальная астма и гипертоническая болезнь: особенности клинико-психологического статуса и реабилитации пациентов с сочетанной патологией [Текст] / М.В. Гамазина, А.В. Будневский // Научно-медицинский вестник центрального черноземья. — 2008. — № 32. — С. 63-69.
16. Генетика атопии: современное состояние [Текст] / М.Б. Фрейдин [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2006. — Т. 10, № 3. — С. 492-503.

17. Генетика бронхиальной астмы и атопии [Текст] / В.М. Делягин [и др.] // Медицинский совет. — 2012. — № 5. — С. 33-39.
18. Гончарова, В.А. Содержание биологически активных веществ в конденсате влаги выдыхаемого воздуха у больных преагмой и бронхиальной астмой [Текст] / В.А. Гончарова, Д.Т. Мамедов, Е.К. Доценко // Советская медицина. — 1989. — № 5. — С. 22-24.
19. Диагностически значимые маркеры эндотелиальной дисфункции у больных молодого возраста с артериальной гипертензией [Текст] / С.В. Лямина [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2007. — Т. 6, № 3. — С. 59-65.
20. Доля, Е.М. Вопросы патогенеза и лечения артериальной гипертензии у больных бронхиальной астмой [Текст] / Е.М. Доля // Крымский терапевтический журнал. — 2014. — № 1. — С. 45-50.
21. Емельянов, А.В. Особенности бронхиальной астмы в пожилом и старческом возрасте [Текст] / А.В. Емельянов // Русский медицинский журнал. — 2016. — Т. 24, № 16. — С. 1102-1107.
22. Жданов, В.Ф. Клинико—статистическая характеристика больных неспецифическими заболеваниями легких с системной артериальной гипертензией [Текст] / В.Ф. Жданов // Актуальные проблемы пульмонологии: сборник научных трудов. — Ленинград, 1991. — С. 89-93.
23. Задионченко, В.С. Системная и легочная артериальная гипертензия при хронических неспецифических заболеваниях легких [Текст] / В.С. Задионченко, Н.В. Волкова, С.М. Копалова // Русский медицинский журнал. — 1996. — Т. 4, № 12. — С. 12-17.
24. Захарова, О.Ю. Клинико-функциональные особенности сочетанного течения бронхиальной астмы и артериальной гипертензии [Текст] / О.Ю. Захарова, Ю.Н. Чернов, Г.А. Батищева // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. — 2009. — Т. 8, № 3. — С. 595-599.
25. Зелинская, Д.И. Задачи здравоохранения по снижению заболеваемости и смертности при бронхолегочной патологии в детском возрасте

[Текст] / Д.И. Зелинская // Педиатрия. — 2000. — № 1. — С. 22.

26. Иванова, О.Н. Эпидемиология и факторы риска развития бронхиальной астмы у детей на севере [Текст] / О.Н. Иванова, П.Г. Петрова, Н.Н. Барашкова // Наука и образование. — 2006. — № 2. — С. 116-200.

27. Исследование связи маркеров воспаления с уровнем артериального давления у больных бронхиальной астмой с пульмогенной артериальной гипертензией [Текст] / В.Ф. Ушаков [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. — 2010. — Т. 11, № 4. — С. 87-89.

28. Каретникова, В.М. К вопросу о финансовых затратах в связи с инвалидностью при бронхообструктивных заболеваниях [Текст] / В.М. Каретникова, И.Л. Петрунко // Сибирский медицинский журнал. — 2010. — Т. 97, № 6. — С. 171-173.

29. Кароли, Н.А. Артериальная гипертензия у пациентов с бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких [Текст] / Н.А. Кароли, А.П. Ребров // Клиницист. — 2011. — № 2. — С. 20-30.

30. Клиническое значение мониторинга оксида азота в выдыхаемом воздухе у детей с бронхиальной астмой [Текст] / И.И. Балаболкин [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2006. — № 2. — С. 56-61.

31. Козина, О.В. Метаболизм нитрозотиолов при аллергическом воспалении [Текст] / О.В. Козина // Бюллетень СО РАМН. — 2010. — Т. 30, № 1. — С. 109-116.

32. Козина, О.В. Образование и биологическая роль NO при аллергическом воспалении [Текст] / О.В. Козина, Л.М. Огородова // Бюллетень сибирской медицины. — 2009. — Т. 8, № 3. — С. 95-105.

33. Курбачева, О.М. Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы: от патогенеза и клинической картины к выбору терапии [Текст] / О.М. Курбачева, К.С. Павлова // Российский Аллергологический Журнал. — 2013. — № 1. — С. 15-24.

34. Кушелевский, Б.Г. Сочетание бронхиальной астмы и гипертонической болезни как пример конкурирующих заболеваний [Текст] / Б.Г. Кушелевский, Т.Г.

Ренева // Терапевтический архив. — 1961. — Т. 36, № 6. — С. 62-67.

35. Лев, Н.С. Патогенетическая роль оксида азота при бронхиальной астме [Текст] / Н.С. Лев // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2000. — № 4. — С. 48-51.

36. Матвейчик, А.И. Особенности суточного профиля артериального давления у пациентов с артериальной гипертензией в сочетании с бронхиальной астмой [Текст] / А.И. Матвейчик // Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. — 2013. — № 1. — С. 51-55.

37. Метельская, В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови [Текст] / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. — 2005. — № 6. — С. 15.

38. Мухарлямов, Н.М. Системная артериальная гипертензия у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких [Текст] / Н.М. Мухарлямов, К.С. Сатбеков, В.В. Сучков // Кардиология. — 1974. — Т. 14, № 12. — С. 55-61.

39. Ненашева, Н.М. Современное представление о фенотипах бронхиальной астмы [Текст] / Н.М. Ненашева // Фарматека. — 2013. — № 4. — С. 41-46.

40. Ненашева, Н.М. Фенотипы бронхиальной астмы и выбор терапии [Текст] / Н.М. Ненашева // Практическая пульмонология. — 2014. — № 2. — С. 2-11.

41. Огородова, Л.М. Роль полиморфизма гена индуцибельной NO-синтазы [Текст] / Л.М. Огородова, И.В. Петрова, К.Ю. Рукин // Бюллетень СО РАМН. — 2011. — Т. 31, № 4. — С. 60-63.

42. Опыт клинического использования портативного электрохимического анализатора монооксида азота (NO) в выдыхаемом воздухе [Текст] / О Хан До [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. — 2010. — Т. 17, № 3. — С. 213-215.

43. Палеев, Н.Р. Существует ли пульмогенная артериальная гипертензия? [Текст] / Н.Р. Палеев, Н.А. Распопина, Е.Г. Шуганов // Терапевтический архив. —

2002. — № 9. — С. 78-81.

44. Панфилов, Ю.А. Клинико-функциональные, лабораторные особенности и возможности ранней диагностики метаболического синдрома у больных бронхиальной астмой: автореф. ... дис. канд. мед. наук [Текст] / Ю.А. Панфилов. — Рязань, 2008. — 24 с.

45. Панфилов, Ю.А. Клинико-функциональные и лабораторные особенности течения бронхиальной астмы у пациентов с метаболическим синдромом [Текст] / Ю.А. Панфилов, О.М. Урясьев // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. — 2008. — № 4. — С. 85-92.

46. Пахомя, Н.С. Полиморфизм некоторых генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний у больных бронхиальной астмой с сопутствующей гипертонической болезнью [Текст] / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев // Земский врач. — 2015. — № 4. — С. 24-29.

47. Перспективы лечения бронхиальной астмы с использованием малых интерферирующих РНК [Текст] / Ж.А. Миронова [и др.] // Пульмонология. — 2012. — № 4. — С. 100-105.

48. Петровский, В.Ф. Выбор фармакотерапии тяжёлой БА [Текст] / В.Ф. Петровский, Л.М. Огородова // Пульмонология. — 2008. — № 3. — С. 84-89.

49. Полиморфизм гена синтазы азота и эндотелина-1 при хронической венозной недостаточности нижних конечностей [Текст] / Р.Е. Калинин [и др.] // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. — 2015. — № 4. — С. 97-102.

50. Полиморфизм генов ангиотензин-превращающего фермента, ангиотензина-II, NO-синтазы, эстрогеновых рецепторов и гендерные различия в их влиянии на развитие сердечно-сосудистой патологии [Текст] / С.Н. Терещенко [и др.] // Кардиология. — 2009. — № 4. — С. 58-62.

51. Полиморфизм T-786C промотора гена эндотелиальной NO-синтазы: связь с эффективностью тромболитической терапии у пациентов с острым инфарктом миокарда [Текст] / А.Н. Пархоменко [и др.] // Украинский медицинский журнал. — 2008. — № 4 (66). — С. 20-23.

52. Прогнозирование ремоделирования миокарда при бронхиальной астме [Текст] / Л.П. Воронина [и др.] // Астраханский медицинский журнал. — 2014. — Т. 9, № 4. — С. 12-20.
53. Регистр сердечно-сосудистых заболеваний (РЕКВАЗА): диагностика, сочетанная сердечно-сосудистая патология, сопутствующие заболевания и лечение в условиях реальной амбулаторно-поликлинической практики [Текст] / С.А. Бойцов [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2014. — Т. 13, № 6. — С. 44-50.
54. Роль VNTR полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота в развитии респираторно-кардиальной коморбидности [Текст] / А.Х. Ахминеева [и др.] // Курский научно-практический вестник “Человек и его здоровье.” — 2014. — № 3. — С. 10-14.
55. Смирнова, А.Ю. Генетические аспекты мультифакторных бронхообструктивных заболеваний [Текст] / А.Ю. Смирнова, В.В. Гноевых, Ю.А. Портнова // Ульяновский медико-биологический журнал. — 2014. — № 1. — С. 8-18.
56. Смирнова, Е.А. Артериальная гипертония в Рязанской области [Текст] / Е.А. Смирнова // Российский кардиологический журнал. — 2009. — № 5 (79). — С. 68-73.
57. Смирнова, Е.А. Динамика распространенности факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний в Рязанской области [Текст] / Е.А. Смирнова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2013. — Т. 12, № 3. — С. 35-39.
58. Содержание эндотелина-1 у больных бронхиальной астмой с сопутствующей гипертонической болезнью [Текст] / А.Г. Козырев [и др.] // Профилактическая и клиническая медицина. — 2010. — № 2. — С. 86-88.
59. Сомова, Л.М. Оксид азота как медиатор воспаления [Текст] / Л.М. Сомова, Н.Г. Плехова // Вестник ДВО РАМН. — 2006. — № 2. — С. 77-80.
60. Спичкина, В.Л. Клинико-функциональные особенности течения артериальной гипертензии у больных бронхиальной астмой: дис. ... канд. мед. наук [Текст] / В.Л. Спичкина. — Рязань, 2007.

61. Сысоева, М.С. Динамика клинико-функциональных показателей дыхательной и сердечно-сосудистой систем у больных с сочетанным течением бронхиальной астмы и метаболического синдрома на фоне снижения массы тела: дис. ... канд. мед. наук [Текст] / М.С. Сысоева. — Рязань, 2013.

62. Тканевые, клеточные и молекулярные взаимодействия в слизистой оболочке бронхов при тяжелой бронхиальной астме [Текст] / Е.А. Геренг [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. — 2012. — Т. 11, № 6. — С. 36-41.

63. Урясьев, О.М. Бронхиальная астма и коморбидная кардиальная патология: частота и клинико-функциональные особенности [Текст] / О.М. Урясьев // Земский врач. — 2013. — № 3. — С. 22-27.

64. Урясьев, О.М. Бронхиальная астма и коморбидные состояния: частота, клинические взаимодействия и оптимизация лечения: дис. ... д-ра мед. наук [Текст] / О.М. Урясьев. — Рязань, 2013.

65. Ушаков, В.Ф. Клиническое течение бронхиальной астмы с сопутствующей артериальной гипертензией [Текст] / В.Ф. Ушаков, И.П. Кушникова, О.О. Рыбалка // Вестник СурГУ. Медицина. — 2013. — № 1. — С. 37-41.

66. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы [Текст] / А.Г. Чучалин [и др.]. — Москва: Российское респираторное общество, 2016. — 64 с.

67. Филиппов, Е.В. Распространенность артериальной гипертензии и особенности ведения больных с артериальной гипертензией и различным риском сердечно-сосудистых осложнений [Текст] / Е.В. Филиппов, С.С. Якушин // Медицинский совет. — 2013. — № 9. — С. 65-69.

68. Фрейдин, М.Б. Генетические основы подверженности к бронхиальной астме [Текст] / М.Б. Фрейдин // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. — 2002. — № 4. — С. 130-141.

69. Цитокины и оксид азота при бронхиальной астме [Текст] / Ф.И. Петровский [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. — 2002. — № 1. — С. 70-74.

70. Чучалин, А.Г. Болезни органов дыхания в структуре общей заболеваемости населения Амурской области [Текст] / А.Г. Чучалин, Е.В. Иванова, Т.Н. Биличенко // Проблемы особо опасных инфекций. — 2014. — № 1. — С. 87-89.

71. Эндотелийзависимая вазодилатация и состояние стенки сонной артерии [Текст] / В.К. Белозеров [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2014. — Т. 13, № S2. — С. 16.

72. Эпидемиология бронхиальной астмы в Свердловской области на рубеже веков [Текст] / Е.К. Бельтюков [и др.] // Доктор.Ру. — 2009. — № 2 (46). — С. 13-18.

73. Яковлева, О.А. Гетерогенность и фармакотерапия бронхиальной астмы: По материалам Европейского респираторного общества [Текст] / О.А. Яковлева, А.О. Жамба // Рациональная фармакотерапия. — 2010. — № 2 (15). — С. 34-36.

74. Abnormal platelet aggregation in idiopathic pulmonary arterial hypertension: role of nitric oxide [Text] / M. Aytekin [et al.] // AJP: Lung Cellular and Molecular Physiology. — 2012. — Vol. 302, № 6. — P. L512-L520.

75. Adler, K.B. Airway Epithelium and Mucus [Text] / K.B. Adler, Y. Li // American journal of respiratory cell and molecular biology. — 2001. — Vol. 25, № 4. — P. 397-400.

76. Alderton, W.K. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition [Text] / W.K. Alderton, C.E. Cooper, R.G. Knowles // The biochemical journal. — 2001. — Vol. 357, Pt 3. — P. 593-615.

77. An Official ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FeNO) for Clinical Applications [Text] / R.A. Dweik [et al.] // American journal of respiratory and critical care medicine. — 2011. — Vol. 184, № 5. — P. 602-615.

78. Anderson, G.G. Recent advances in the genetics of allergy and asthma [Text] / G.G. Anderson, W.O. Cookson // Molecular medicine today. — 1999. — Vol. 5, № 6. — P. 264-73.



79. Apical, but not basolateral, endotoxin preincubation protects alveolar epithelial cells against hydrogen peroxide-induced loss of barrier function: the role of nitric oxide synthesis [Text] / F. Rose [et al.] // *Journal of immunology*. — 2002. — Vol. 169, № 3. — P. 1474-81.
80. Assessment of asthma control: the SERENA study [Text] / A. Corrado [et al.] // *Respiratory medicine*. — 2013. — Vol. 107, № 11. — P. 1659-1666.
81. Association between endothelial NO synthase polymorphisms and arterial properties in the general population [Text] / J. Seidlerová [et al.] // *Nitric Oxide*. — 2015. — Vol. 44. — P. 47-51.
82. Association between T-786C polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and level of the vessel dilation factor in patients with coronary artery disease [Text] / F. Khaki-Khatibi [et al.] // *Molecular biology research communications*. — 2012. — Vol. 1, № 1. — P. 1-7.
83. Associations between Nitric Oxide Synthase Genes and Exhaled NO-Related Phenotypes according to Asthma Status [Text] / E. Bouzigon [et al.] // *PLoS ONE*. — 2012. — Vol. 7, № 5. — P. e36672.
84. Asthma control and differences in management practices across seven European countries [Text] / P.A. Vermeire [et al.] // *Respiratory medicine*. — 2002. — Vol. 96, № 3. — P. 142-9.
85. Asthma control in Europe: a real-world evaluation based on an international population-based study [Text] / L. Cazzoletti [et al.] // *Journal of allergy and clinical immunology*. — 2007. — Vol. 120, № 6. — P. 1360-1367.
86. Asthma endotypes: A new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome [Text] / J. Lötvall [et al.] // *Journal of allergy and clinical immunology*. — 2011. — Vol. 127, № 2. — P. 355-360.
87. Asthma in the elderly: a different disease? [Text] / S. Battaglia [et al.] // *Breathe*. — 2016. — Vol. 12, № 1. — P. 18-28.
88. Barnard, A. Asthma and older people in general practice [Text] / A. Barnard, C.D. Pond, T.P. Usherwood // *The medical journal of australia*. — 2005. — Vol. 183, № 1 (Suppl). — P. S41-3.

89. Barnes, P.J. NO or no NO in asthma? [Text] / P.J. Barnes // *Thorax*. — 1996. — Vol. 51, № 2. — P. 218-20.
90. Beta-2 Adrenergic Receptor (ADRB2) Gene Polymorphisms and the Risk of Asthma: A Meta-Analysis of Case-Control Studies [Text] / S.-Q. Liang [et al.] // *PLoS ONE*. — 2014. — Vol. 9, № 8. — P. e104488.
91. Braman, S.S. The global burden of asthma [Text] / S.S. Braman // *Chest*. — 2006. — Vol. 130, № 1 (Suppl.) — P. 4S-12S.
92. Bronchodilator S-nitrosothiol deficiency in asthmatic respiratory failure [Text] / B. Gaston [et al.] // *Lancet*. — 1998. — Vol. 351, № 9112. — P. 1317-1319.
93. Chronic comorbidities contribute to the burden and costs of persistent asthma [Text] / P. Kauppi [et al.] // *Mediators of inflammation*. — 2015. — Vol. 2015. — P. 819194.
94. Chronic cough in Korean adults: a literature review on common comorbidity [Text] / S.-Y. Kang [et al.] // *Asia Pacific allergy*. — 2016. — Vol. 6, № 4. — P. 198-206.
95. Chung, K.F. New treatments for severe treatment-resistant asthma: targeting the right patient [Text] / K.F. Chung // *The lancet respiratory medicine*. — 2013. — Vol. 1, № 8. — P. 639-652.
96. Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle [Text] / M. Nakane [et al.] // *FEBS letters*. — 1993. — Vol. 316, № 2. — P. 175-80.
97. Cloning, characterization, and expression of a cDNA encoding an inducible nitric oxide synthase from the human chondrocyte [Text] / I.G. Charles [et al.] // *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*. — 1993. — Vol. 90, № 23. — P. 11419-23.
98. Cloning and expression of a cDNA encoding human endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase [Text] / S.P. Janssens [et al.] // *The journal of biological chemistry*. — 1992. — Vol. 267, № 21. — P. 14519-22.
99. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes [Text] / P. Haldar [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine*. — 2008. — Vol. 178, № 3.

— P. 218-24.

100. Combination of polymorphisms in the beta2-adrenergic receptor and nitric oxide synthase 3 genes increases the risk for hypertension [Text] / M. Misono [et al.] // *Journal of hypertension*. — 2009. — Vol. 27, № 7. — P. 1377-83.

101. Comorbidities and Phenotypes of Rhinitis in Korean Children and Adolescents: A Cross-sectional, Multicenter Study [Text] / K.S. Lee [et al.] // *Allergy, asthma & immunology research*. — 2017. — Vol. 9, № 1. — P. 70-78.

102. Donohue, J.F. Exhaled nitric oxide to predict corticosteroid responsiveness and reduce asthma exacerbation rates [Text] / J.F. Donohue, N. Jain // *Respiratory medicine*. — 2013. — Vol. 107, № 7. — P. 943-52.

103. Dose-dependent onset and cessation of action of inhaled budesonide on exhaled nitric oxide and symptoms in mild asthma [Text] / S.A. Kharitonov [et al.] // *Thorax*. — 2002. — Vol. 57, № 10. — P. 889-96.

104. Economic and health effect of full adherence to controller therapy in adults with uncontrolled asthma: a simulation study [Text] / Z. Zafari [et al.] // *Journal of allergy and clinical immunology*. — 2014. — Vol. 134, № 4. — P. 908-915.e3.

105. Environmental exposures, nitric oxide synthase genes, and exhaled nitric oxide in asthmatic children [Text] / A.J. Spanier [et al.] // *Pediatric pulmonology*. — 2009. — Vol. 44, № 8. — P. 812-819.

106. Excess medical costs in patients with asthma and the role of comorbidity [Text] / W. Chen [et al.] // *European respiratory journal*. — 2016. — Vol. 48, № 5. — P. ERJ-01141-2016.

107. Exhaled Nitric Oxide in Patients with Asthma: association with NOS1 genotype [Text] / M.E. Wechsler [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine*. — 2000. — Vol. 162, № 6. — P. 2043-2047.

108. Exhaled nitric oxide in the management of childhood asthma: a prospective 6-months study [Text] / M. Fritsch [et al.] // *Pediatric pulmonology*. — 2006. — Vol. 41, № 9. — P. 855-62.

109. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation [Text] / D.R. Taylor [et al.] // *Thorax*. — 2006. — Vol. 61, № 9. — P. 817-27.

110. Exhaled NO and assessment of anti-inflammatory effects of inhaled steroid: dose-response relationship [Text] / S.L. Jones [et al.] // European respiratory journal. — 2002. — Vol. 20, № 3. — P. 601-8.

111. Fagan, K.A. Role of endothelin-1 in lung disease [Text] / K.A. Fagan, I.F. McMurtry, D.M. Rodman // Respiratory research. — 2001. — Vol. 2, № 2. — P. 90-101.

112. Features of severe asthma in school-age children: Atopy and increased exhaled nitric oxide [Text] / A.M. Fitzpatrick [et al.] // Journal of allergy and clinical immunology. — 2006. — Vol. 118, № 6. — P. 1218-25.

113. Feinstein, A.R. Pre-therapeutic classification of co-morbidity in chronic disease [Text] / A.R. Feinstein // Journal of chronic diseases. — 1970. — Vol. 23, № 7. — P. 455-68.

114. Fractional exhaled nitric oxide: comparison between portable devices and correlation with sputum eosinophils [Text] / S. Yune [et al.] // Allergy, asthma & immunology research. — 2015. — Vol. 7, № 4. — P. 404-408.

115. Genetic polymorphism of endothelial nitric oxide synthase in coronary artery disease [Text] / M. Hasanzad [et al.] // International heart and vascular disease journal. — 2014. — Vol. 2, № 2. — P. 26-29.

116. Geographic variation in the prevalence of asthma symptoms in Spanish children and adolescents. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase 3, Spain [Text] / I. Carvajal-Urueña [et al.] // Archivos de Bronconeumología. — 2005. — Vol. 41, № 12. — P. 659-66.

117. Ghosh, S. Modulation of asthma pathogenesis by nitric oxide pathways and therapeutic opportunities [Text] / S. Ghosh, S.C. Erzurum // Drug discovery today. Disease mechanisms. — 2012. — Vol. 9, № 3-4. — P. e89-e94.

118. Global Health Estimates 2014 Summary Tables: DALY by Cause, Age and sex, by WHO Regio, 2000 - 2012 [Electronic resource]. — URL: [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/en/](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/en/).

119. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary [Text] / E.D. Bateman [et al.] // European respiratory journal. — 2008. —

Vol. 31, № 1. — P. 143-178.

120. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2016 update) [Electronic resource] — URL: <http://ginasthma.org/2016-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>.

121. Guidelines for severe uncontrolled asthma [Text] / C. Cisneros Serrano [et al.] // Archivos de Bronconeumología. — 2015. — Vol. 51, № 5. — P. 235-246.

122. Guo, F.H. Characterization of inducible nitric oxide synthase expression in human airway epithelium [Text] / F.H. Guo, S.C. Erzurum // Environmental health perspectives. — 1998. — P. 1119-24.

123. Hay, D.W. Putative mediator role of endothelin-1 in asthma and other lung diseases [Text] / D.W. Hay // Clinical and experimental pharmacology & physiology. — 1999. — Vol. 26, № 2. — P. 168-71.

124. Human bronchial epithelium controls TH2 responses by TH1-induced, nitric oxide-mediated STAT5 dephosphorylation: implications for the pathogenesis of asthma [Text] / U. Eriksson [et al.] // Journal of immunology. — 2005. — Vol. 175, № 4. — P. 2715-20.

125. Hypertension and asthma: a comorbid relationship [Text] / S.C. Christiansen [et al.] // The journal of allergy and clinical immunology. In practice. — Vol. 4, № 1. — P. 76-81.

126. Increased iNOS activity is essential for pulmonary epithelial tight junction dysfunction in endotoxemic mice [Text] / X. Han [et al.] // American journal of physiology - Lung cellular and molecular physiology. — 2004. — Vol. 286, № 2. — P. L259-67.

127. Influence of the eNOS gene on development of blood pressure and left ventricular mass: longitudinal findings in multiethnic youth [Text] / H. Zhu [et al.] // Pharmacogenetics and genomics. — 2005. — Vol. 15, № 9. — P. 669—675.

128. Interactions between the genes of vasodilatation pathways influence blood pressure and nitric oxide level in hypertension [Text] / R. Kumar [et al.] // American journal of hypertension. — 2015. — Vol. 28, № 2. — P. 239-247.

129. Interferon gamma and interleukin 4 stimulate prolonged expression of

inducible nitric oxide synthase in human airway epithelium through synthesis of soluble mediators [Text] / F.H. Guo [et al.] // Journal of clinical investigation. — 1997. — Vol. 100, № 4. — P. 829-38.

130. Ischiropoulos, H. Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration [Text] / H. Ischiropoulos // Biochemical and biophysical research communications. — 2003. — Vol. 305, № 3. — P. 776-83.

131. Luhadia, S.K. Steroid resistant asthma [Text] / S.K. Luhadia // The journal of the association of physicians of India. — 2014. — Vol. 62, № 3 (Suppl.) — P. 38-40.

132. Management of asthma in pregnancy guided by measurement of fraction of exhaled nitric oxide: a double-blind, randomised controlled trial [Text] / H. Powell [et al.] // Lancet. — 2011. — Vol. 378, № 9795. — P. 983-990.

133. Manning, P. Asthma control and management: a patient's perspective [Text] / P. Manning, P. Greally, E. Shanahan // Irish medical journal. — Vol. 98, № 10. — P. 231-235.

134. Meyers, D.A. Genetic of asthma and bronchial hyperresponsiveness [Text] / D.A. Meyers, D.G. Wiesch, E.R. Bleecker // The genetic basis of common diseases : Oxford Monographs on Medical Genetics. — New York: Oxford University Press, 2002. — P. 198—209.

135. Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide [Text] / B. Jain [et al.] // Biochemical and biophysical research communications. — 1993. — Vol. 191, № 1. — P. 83-8.

136. Molecular cloning and characterization of human endothelial nitric oxide synthase [Text] / P.A. Marsden [et al.] // FEBS letters. — 1992. — Vol. 307, № 3. — P. 287-93.

137. Molecular cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from human hepatocytes [Text] / D.A. Geller [et al.] // Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America. — 1993. — Vol. 90, № 8. — P. 3491-5.

138. Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO) in asthma: evidence for transcriptional and post-translational regulation of NO synthesis [Text] / F.H. Guo [et al.] // Journal of immunology. — 2000. — Vol. 164, № 11. — P. 5970-80.

139. Nitric oxide synthase polymorphisms, gene expression and lung function in chronic obstructive pulmonary disease [Text] / F. Aminuddin [et al.] // *BMC Pulmonary Medicine*. — 2013. — Vol. 13. — P. 64.

140. Nitrosothiols in the immune system: signaling and protection [Text] / P. Hernansanz-Agustín [et al.] // *Antioxidants & redox signaling*. — 2013. — Vol. 18, № 3. — P. 288-308.

141. Niu, W. An Updated Meta-Analysis of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene: Three Well-Characterized Polymorphisms with Hypertension [Text] / W. Niu, Y. Qi // *PLoS ONE*. — 2011. — Vol. 6, № 9. — P. e24266.

142. Ober, C. Perspectives on the past decade of asthma genetics [Text] / C. Ober // *Journal of allergy and clinical immunology*. — 2005. — Vol. 116, № 2. — P. 274-278.

143. Ober, C. The Genetics of Asthma and Allergic Disease: A 21st Century Perspective [Text] / C. Ober, T.-C. Yao // *Immunological reviews*. — 2011. — Vol. 242, № 1. — P. 10-30.

144. Pathophysiological characteristics of asthma in the elderly: a comprehensive study [Text] / H. Inoue [et al.] // *Annals of allergy, asthma & immunology*. — 2014. — Vol. 113, № 5. — P. 527-533.

145. Peroxynitrite augments fibroblast-mediated tissue remodeling via myofibroblast differentiation [Text] / T. Ichikawa [et al.] // *American journal of physiology - Lung cellular and molecular physiology*. — 2008. — Vol. 295, № 5. — P. L800-8.

146. Phenotypes and endotypes of uncontrolled severe asthma: new treatments [Text] / P. Campo [et al.] // *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. — 2013. — Vol. 23, № 2. — P. 76-88.

147. Prado, C.M. Nitric oxide in asthma physiopathology [Text] / C.M. Prado, M.A. Martins, I.F.L.C. Tibério // *ISRN Allergy*. — 2011. — Vol. 2011. — P. 1-13.

148. Prevalence and severity of symptoms of asthma, rhinitis, and eczema in 13- to 14-year-old children in Taipei, Taiwan [Text] / D.-C. Yan [et al.] // *Annals of allergy, asthma & immunology*. — 2005. — Vol. 95, № 6. — P. 579-585.

149. Price, M.J. Development of an economic model to assess the cost effectiveness of asthma management strategies [Text] / M.J. Price, A.H. Briggs // *PharmacoEconomics*. — 2002. — Vol. 20, № 3. — P. 183-94.

150. Protection from experimental asthma by an endogenous bronchodilator [Text] / L.G. Que [et al.] // *Science*. — 2005. — Vol. 308, № 5728. — P. 1618-21.

151. Purification and cDNA sequence of an inducible nitric oxide synthase from a human tumor cell line [Text] / P.A. Sherman [et al.] // *Biochemistry*. — 1993. — Vol. 32, № 43. — P. 11600-5.

152. Rates and predictors of uncontrolled bronchial asthma in elderly patients from western Romania [Text] / M. Iosif [et al.] // *Clinical interventions in aging*. — 2015. — Vol. 10. — P. 963.

153. Regulation of Amiloride-Sensitive Na<sup>+</sup> Transport by Basal Nitric Oxide [Text] / K.M. Hardiman [et al.] // *American journal of respiratory cell and molecular biology*. — 2004. — Vol. 30, № 5. — P. 720-728.

154. Role of SGK1 in nitric oxide inhibition of ENaC in Na<sup>+</sup>-transporting epithelia [Text] / M.N. Helms [et al.] // *American journal of physiology - Cell physiology*. — 2005. — Vol. 289, № 3. — P. C717-26.

155. S-nitrosoglutathione reductase: an important regulator in human asthma [Text] / L.G. Que [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine*. — 2009. — Vol. 180, № 3. — P. 226-31.

156. Stabilization of asthma prevalence among adolescents and increase among schoolchildren (ISAAC phases I and III) in Spain [Text] / L. Garcia-Marcos [et al.] // *Allergy*. — 2004. — Vol. 59, № 12. — P. 1301-1307.

157. Standardisation of spirometry [Text] / M.R. Miller [et al.] // *European respiratory journal*. — 2005. — Vol. 26. — P. 319-338.

158. Structural organization of the human neuronal nitric oxide synthase gene (NOS1) [Text] / A. V Hall [et al.] // *The journal of biological chemistry*. — 1994. — Vol. 269, № 52. — P. 33082-90.

159. Sudden death in young persons with uncontrolled asthma - a nationwide cohort study in Denmark [Text] / A.J. Gullach [et al.] // *BMC Pulmonary Medicine*. —



2015. — Vol. 15, № 1. — P. 35.

160. Surveying the prevalence of asthma, allergic rhinitis and eczema in school-children in Khon Kaen, Northeastern Thailand using the ISAAC questionnaire: phase III [Text] / J. Teeratakulpisarn [et al.] // Asian Pacific journal of allergy and immunology. — 2004. — Vol. 22, № 4. — P. 175-81.

161. Tailored interventions based on exhaled nitric oxide versus clinical symptoms for asthma in children and adults [Text] / H.L. Petsky [et al.] // Cochrane database of systematic reviews. — 2008. — № 2. — P. CD006340.

162. The Aerocrine exhaled nitric oxide monitoring system NIOX is cleared by the US Food and Drug Administration for monitoring therapy in asthma [Text] / P.E. Silkoff [et al.] // Journal of allergy and clinical immunology. — 2004. — Vol. 114, № 5. — P. 1241-56.

163. The epidemiology of asthma and its comorbidities in Poland — Health problems of patients with severe asthma as evidenced in the Province of Lodz [Text] / M. Panek [et al.] // Respiratory medicine. — 2016. — Vol. 112. — P. 31-38.

164. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee Report [Text] / M. Masoli [et al.] // Allergy. — 2004. — Vol. 59, № 5. — P. 469-478.

165. The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control [Text] / S.L. Jones [et al.] // American journal of respiratory and critical care medicine. — 2001. — Vol. 164, № 5. — P. 738-743.

166. The use of exhaled nitric oxide to guide asthma management: a randomized controlled trial [Text] / D.E. Shaw [et al.] // American journal of respiratory and critical care medicine. — 2007. — Vol. 176, № 3. — P. 231-7.

167. Uncontrolled asthma in a commercially insured population from 2002 to 2007: trends, predictors, and costs [Text] / G.S. Sawicki [et al.] // Journal of asthma. — 2010. — Vol. 47, № 5. — P. 574-580.

168. Untangling asthma phenotypes and endotypes [Text] / I. Agache [et al.] // Allergy. — 2012. — Vol. 67, № 7. — P. 835-846.

169. Using fractional exhaled nitric oxide (FeNO) to diagnose steroid-

responsive disease and guide asthma management in routine care [Text] / D. Price [et al.] // *Clinical and translational allergy*. — 2013. — Vol. 3, № 1. — P. 37.

170. Wheezing in Chinese schoolchildren: disease severity distribution and management practices, a community-based study in Hong Kong and Guangzhou [Text] / F.W.S. Ko [et al.] // *Clinical and experimental allergy*. — 2005. — Vol. 35, № 11. — P. 1449-1456.

171. Worldwide severity and control of asthma in children and adults: the global asthma insights and reality surveys [Text] / K.F. Rabe [et al.] // *Journal of allergy and clinical immunology*. — 2004. — Vol. 114, № 1. — P. 40-47.