

## ГЕНЕТИЧНА ДЕТЕРМІНОВАНІСТЬ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ЄДНОСТІ ОРГАНІВ БРОНХО-ЛЕГЕНЕВОЇ СИСТЕМИ У ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ КОМПОНЕНТНОГО І ФАКТОРНОГО АНАЛІЗУ

Івано-Франківський національний медичний університет

*З метою визначення базових характеристик стану захисних компенсаторних реакцій організму за допомогою методів компонентного Factor loadings (Unrotated) і факторного Varimax raw аналізу встановлено три основні фактори, які об'єднали між собою 38 біохімічних, імуногенетичних, морфофункціональних показників бронхо-легеневої системи 78 здорових людей. Перший компонент довів взаємозв'язок функції дихальної системи з окиснювально-відновними процесами, цитокіновим профілем організму та залежність ступеня ендогенної інтоксикації від хромосомних аномалій. Другий компонент пов'язав показники епігенетичної модифікації експресії генів клітин бронхіального дерева та їхньої функції. Третій компонент визначив негативний вплив структурних порушень хромосомного апарату на функцію дрібних бронхів, цитокіновий профіль, стан окиснювально-відновних процесів та ендогенну інтоксикацію організму. Для дослідження генетичної обтяженості щодо різних захворювань вивчено розподіл носіїв антигенів груп крові систем АВ0 та резус серед 1041 здорового жителя Прикарпаття. Встановлено, що досліджувані здорові особи склали наступний ряд – A(II)>O(I)>B(III)>AB(IV). Враховано індивідуальну чутливість людей до шкідливих чинників за наявності мутацій генів біотрансформації ксенобіотиків II фази, зокрема глутатіон-S-трансфераз (GST). Висновок. Результати компонентного і факторного аналізу довели генетично детерміновану єдність структурного і функціонального компонентів бронхо-легеневої системи, які забезпечують адаптацію до мінливих умов довкілля.*

Ключові слова: біохімічні, імуногенетичні і морфофункціональні показники, бронхо-легенева система, компонентний і факторний аналіз.

Публікація є фрагментом науково-дослідної роботи ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет" "Цитогенетичні механізми формування здоров'я населення та розробка заходів його покращення" (номер державної реєстрації 01/3U000768), яка фінансується МОЗ України з коштів державного бюджету

### Вступ

Наукові прогнози свідчать, що домінуючими хворобами цього століття будуть екологічно зумовлені, серед яких захворювання органів дихання займуть лідерні позиції [3, 6]. Вони належать до мультифакторних захворювань, в реалізації яких, поряд з генетичним компонентом, суттєва роль належить екзогенним чинникам [4, 7]. Не викликає сумніву те, що забруднення довкілля відіграє значну роль у збільшенні захворюваності, частоти загострень та важкості їх клінічних проявів. Зростання у навколишньому середовищі великої кількості ксенобіотиків і токсичних речовин сприяє зниженню бар'єрної функції слизових оболонок дихальної системи, порушує досконалі механізми імунного захисту [1].

Комплекс неадекватних до адаптивних можливостей людей навантажень вимагає вивчення природи і характеру первинних структурних і функціональних порушень у молекулярних механізмах захисних компенсаторних реакцій організму. Однак узагальнюючих досліджень, присвячених виявленню базових структурних і функціональних показників, які забезпечують адаптивні можливості у здорових людей, до цього часу немає. Саме тому великої актуальності набувають роботи, які досліджуватимуть надійність і інформативність показників неспецифічної резистентності

організму при оцінці рівня донозологічних змін і адаптивних можливостей людей з наступним розрахунком ризику виникнення хвороб бронхо-легеневої системи.

### Мета дослідження

Встановлення основних факторів, які об'єднують між собою біохімічні, імуногенетичні, морфофункціональні показники бронхо-легеневої системи здорових людей.

### Матеріали та методи дослідження

Обстежено 40 практично здорових осіб II-го зрілого віку без наявних ознак захворювань респіраторного тракту та іншої патології внутрішніх органів. Проаналізовано дані клініко-лабораторного, інструментальних, біохімічних, імуноцитогенетичних, молекулярно-генетичного, морфологічних методів дослідження. З метою встановлення розподілу носіїв різних фенотипів груп крові систем АВ0 і резус вивчено результати лабораторних даних 1041 практично здорового жителя Прикарпаття. Для визначення онтогенетичних особливостей хромосомного апарату проведено цитогенетичне дослідження 78 осіб молодого, зрілого і похилого віку. Морфологію легень та мікроциркуляторного русла вивчено у 20 померлих від цереброваскулярних хвороб, захворювань шлунково-кишкового тракту, психічних розладів, пов'язаних із вживанням алкоголю.

При проведенні статистичної обробки використовували параметричні і непараметричні методи аналізу: обчислювали середню арифметичну величину ( $M$ ), середнє квадратичне відхилення ( $\sigma$ ), середню похибку ( $t$ ), вірогідність різниць результатів дослідження ( $p$ ). Поряд з одномірною статистикою проводили двовибірковий ( $t$  критерій Стьюдента), кореляційний аналізи (критерій Спірмена). Компонентний і факторний аналіз здійснено за консультативної допомоги доцента кафедри статистичних досліджень Івано-Франківського технічного університету нафти і газу Ткаченка Ю. Ф.

### Результати та їх обговорення

Комплексним дослідженням анамнестичних, клініко-лабораторних, інструментальних, біохімічних, імуноцитогенетичних, молекулярно-генетичних, морфологічних характеристик виділено 38 кількісних показників для факторного аналізу: 1 – об'єм форсованого видиху за першу секунду (ОФВ<sub>1</sub>); 2 – форсована життєва ємкість легень (ФЖЄЛ); 3 – ОФВ/ФЖЄЛ; 4-6 – максимальна об'ємна швидкість видиху (МОШ<sub>25</sub>, МОШ<sub>50</sub>, МОШ<sub>75</sub>); 7 – індекс хроматизації (IX); 8 – ядерцевий індекс (ЯІ); 9 – статевий хроматин (СХ); 10 – індекс патологічних ядер (ПЯ); 11 – мікроядерний індекс (МЯ); 12 – хромосомні аберації (ХА); 13 – асоціації акроцентричних хромосом (ААХ); 14 – концентрація трансформуючого фактора росту  $\beta 1$  (ТФР- $\beta 1$ ) у сироватці крові; 15 – концентрація ТФР- $\beta 1$  у бронхо-альвеолярному вмісті (БАВ); 16-18 – концентрація інтерлейкінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-17, ІЛ-22) в сироватці крові; 19-20 – концентрація середньо-молекулярних пептидів (СМП<sub>254</sub> і СМП<sub>280</sub>) в сироватці крові; 21-24 – рівень окисних модифікацій білків (ОМБ<sub>356</sub>, ОМБ<sub>370</sub>, ОМБ<sub>430</sub>, ОМБ<sub>530</sub>); 25 – тіобарбітурової кислоти активні похідні (ТБК-АП); 26 – дієнові кон'югати (ДК); 27-28 – концентрації трансферину (Т), церулоплазміну (Ц); 29-31 – концентрації сульфгідрильних груп (SH<sub>1</sub>, SH<sub>2</sub>, SH<sub>3</sub>) в сироватці крові; 32-37 – кількість нейтрофілів, макрофагів, лімфоцитів, еозинофілів, нормальних та патологічних епітеліоцитів у БАВ; 38 – проба на зворотність бронхіальної обструкції (БО).

З метою оцінювання внеску різних чинників у формування здоров'я за досліджуваними 38 показниками, проаналізовано кількість кореляцій між ними. В цілому зареєстровано 186 взаємозв'язків середньої сили ( $r \geq 0,3 < 0,7$ ) між індексами спірограми, генетичними показниками, характеристиками цитокінового профілю, ендогенної інтоксикації організму, перекисним окисненням білків (ПОБ) і ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи (АОС), клітинним складом БАВ, імуноглобулінами.

За матеріалами ВООЗ здоров'я сучасної людини залежить від різних факторів, серед яких 50 % складають умови і спосіб життя, 20-22

% – стан довкілля, 20 % – генетичний фактор (спадковий апарат) і 8-10% – рівень розвитку охорони здоров'я [1, 4]. Дослідження останніх років децю змінили відсотковий внесок вищеназаних чинників у формування здоров'я в користь більшого значення структури і функції спадкового апарату. Це підтверджують наші підрахунки, за якими участь генетичного фону в формуванні здоров'я обстеженої вибірки складала 21,5 %.

За кількістю кореляцій перше місце посіли структурні зміни спадкового апарату – утворення МЯ і ХА. Зростання частоти останніх було зумовлено, окрім інших чинників, рівнем ОМБ, посиленням ПОЛ. Водночас встановлено обернені кореляції між зростанням кількості патологічних змін хромосом та активацією показників антиоксидантного захисту (SH-групи), концентрацією ІЛ-17, частотою ААХ, СМП<sub>280</sub>. Кореляційний аналіз між відповідними показниками кожного обстежуваного довів однорідність вибірки здорових людей, оскільки коефіцієнт кореляції в кожному випадку дорівнював або переважав 0,99.

За допомогою компонентного аналізу *Factor loadings (Unrotated)* зменшено кількість ознак шляхом переходу до незалежних компонентів (факторів), які пояснюють мінливість багатовимірних даних. Встановлено шість основних компонентів, які об'єднали різні показники здорових людей. Три перші компоненти мали найбільше факторне навантаження, їхній внесок у дисперсію вибірки склав 25,6 %. Згідно критерію Каттелла для аналізу взаємозв'язків між показниками було залишено компоненти, які формують різкий злам кривої на графіку зміни їх дисперсій. Тому нами проаналізовано три перших компоненти за точкою кривої спаду дисперсій.

Перший компонент пояснює найвагомішу частку мінливості багатовимірних даних. Він об'єднав функціональні показники зовнішнього дихання, систем ПОБ, ПОЛ і антиоксидантного захисту, нормальний стан клітинного складу БАВ, активність ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-17, концентрації СМП, які залежать від регулювальної функції локусів Х-хромосоми та частоти ХА. Аналогічні результати отримано при проведенні факторного аналізу. Тому перший компонент (фактор) названо „фактором взаємозв'язку функції дихальної системи з окиснювально-відновними процесами, кініновим статусом організму та залежності ступеня ендогенної інтоксикації від хромосомних аномалій”.

Другий компонент пов'язав ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЄЛ та МОШ<sub>25</sub> з епігенетичними механізмами контролю експресії генів (індекси функціонального стану геному), імуноцитогенетичним статусом (ААХ), структурними елементами БАВ, зокрема кількістю нормальних епітеліоцитів і лімфоцитів, концентраціями ТФР- $\beta 1$  в БАВ та ІЛ-22. З урахуванням факторного навантаження цих показників даний компонент (фактор) названо

„фактором епігенетичної модифікації експресії генів клітин бронхіального дерева та їхньої функції”.

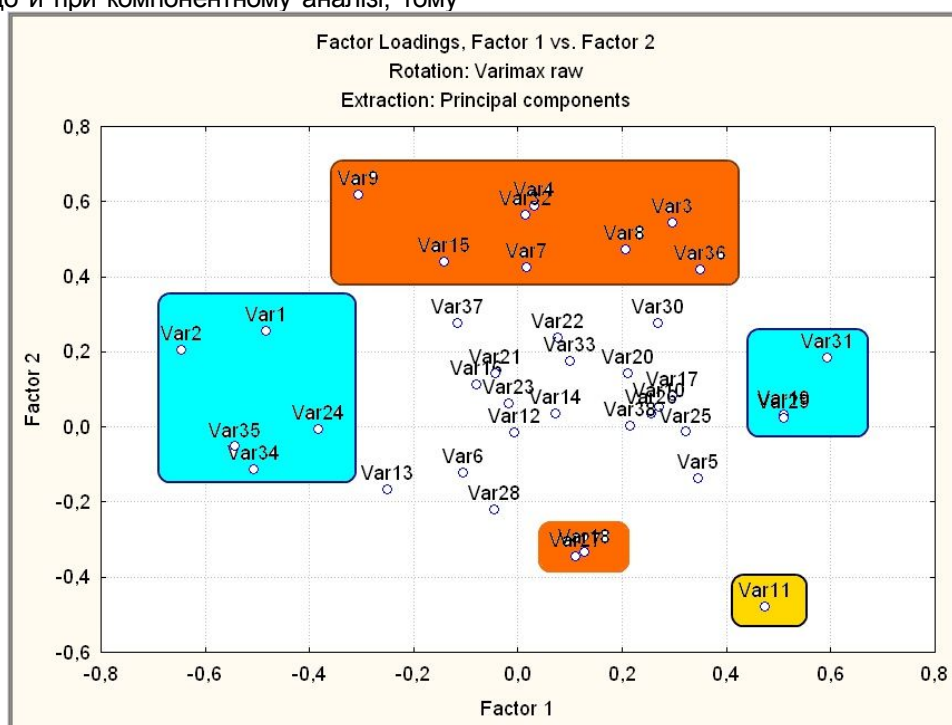
Третій компонент охоплював показники лише спільні з такими у першого або другого компонентів, окрім СМГ<sub>280</sub>. При проведенні факторного аналізу (*Varimax raw*) також показано найвагомійший внесок трьох факторів, що в сумі склали 25%. Порівнянням з результатами компонентного аналізу не виявлено значущих відмінностей, проте змінилися факторні навантаження окремих показників і поля спільної дії деяких даних.

Принципово важливим виявився той факт, що з'явилося спільне поле дії першого та другого факторів, яке поширюється на стан хромосомного апарату, грубі порушення якого у вигляді мікроядер спричиняють структурно-функціональні зміни клітин бронхів (рис. 1 а). Область дії першого та другого факторів охоплювала такі самі показники, що й при компонентному аналізі, тому

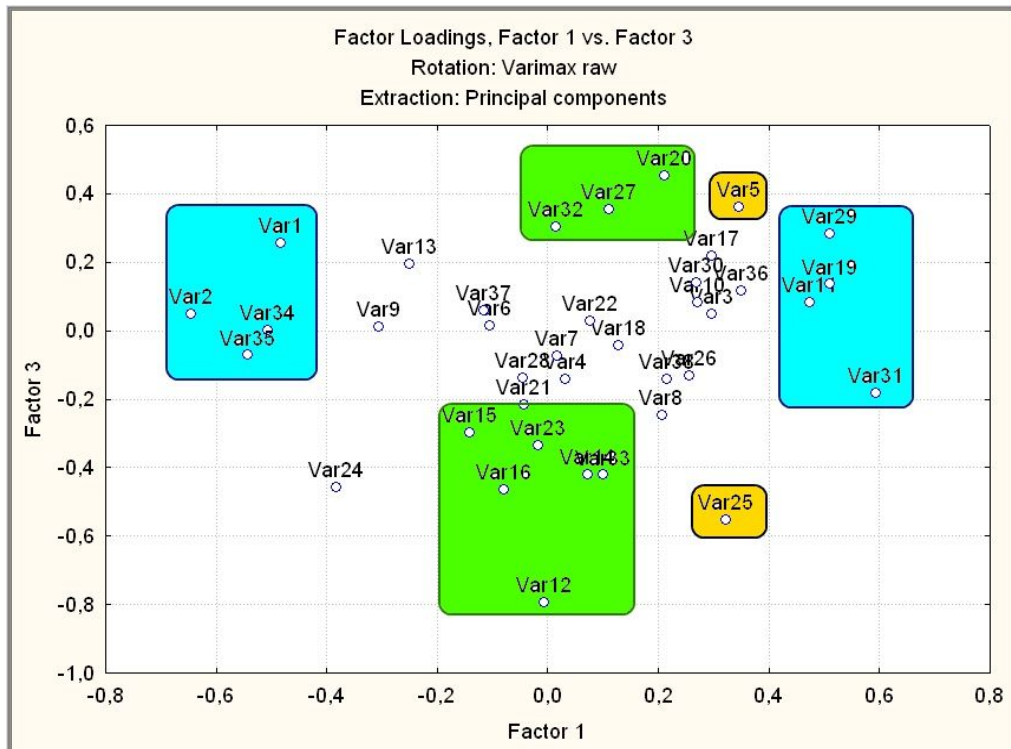
їх назви не змінилися. Доповненням до механізмів функціональних зв'язків було поєднання в одній ділянці ІЛ-22 та МЯ.

За об'єднаними багатовимірними характеристиками третій фактор названо „фактором негативного впливу структурних порушень хромосомного апарату на функцію дрібних бронхів, кініновий статус, ПОЛ, АОС та ендогенну інтоксикацію організму” (рис.1 б, в). Цей фактор мав також спільні області з першим (МОШ<sub>50</sub>, ТБК-АК) та другим (ТФ, кількість нейтрофілів).

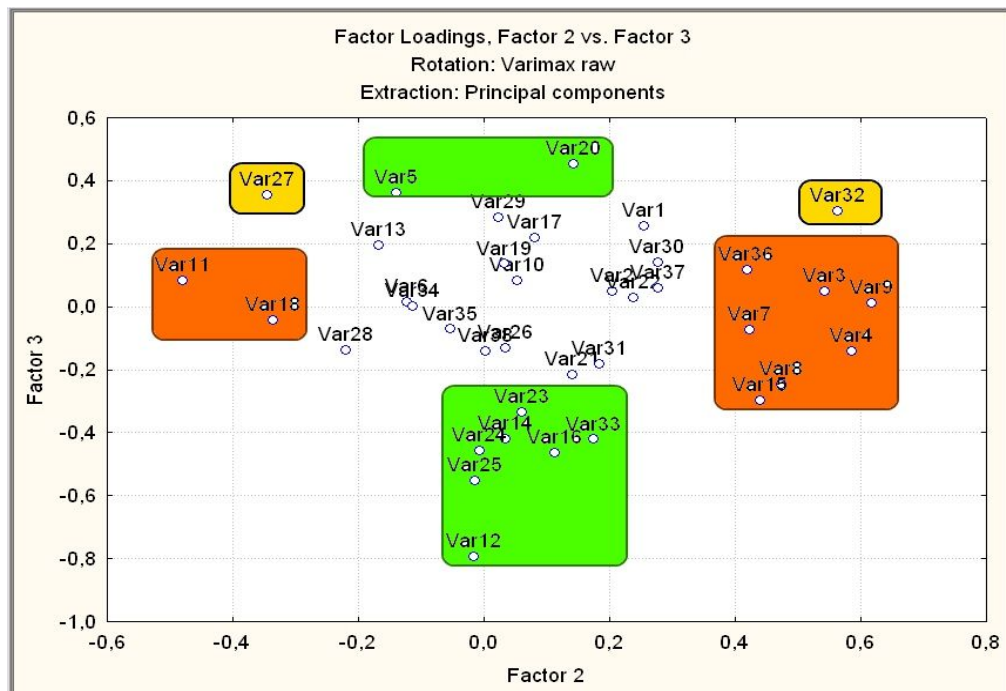
Таким чином, отримані результати компонентного і факторного аналізів довели генетично детерміновану єдність структурного і функціонального аспектів гомеостазу організму в нормі, які забезпечують адаптацію до мінливих умов довкілля. Порушення такої сталості внутрішнього середовища (дизадаптації) спричиняють розвиток захворювань.



a



6



6

Рис. 1. Взаємозв'язки між факторними навантаженнями та трьома факторами (Varimax raw) 38 показників здорових людей. а – поля дії факторів 1 і 2; б – поля дії факторів 1 і 3; в – поля дії факторів 2 і 3. Різними кольорами позначені поля дії факторів: синій – дія фактору 1, коричневий – дія фактору 2, зелений – дія фактору 3, жовтий – спільна дія двох факторів.

Встановлено диференційні ознаки компонентів і факторів залежно від куріння. Так, у курців більший внесок у дисперсію вибірки за першим компонентом склали ОМБ, показники ПОЛ (ТБК-АК, ДК), кількість нейтрофілів, лімфоцитів та еозинофілів у БАВ, істотнішими були порушення бронхіальної прохідності.

Порівняльним аналізом величин дисперсії кожного показника в межах другого компонента у курців з такими у некурців виявлено, що куріння зумовлює вірогідніші структурні зміни слизової бронхів і, відповідно, зниження показників спірограми. Останнє може бути зумовлено наростанням концентрації ТБК-АК, ДК та

зниженням показників АОС (ЦП, ТФ).

У людей, що не курили, з усіх багатовимірних даних, дисперсія була значною для показників ендогенної інтоксикації, концентрацій ТФР- $\beta_1$  сироватки крові і БАВ. Закономірним був той факт, що більший внесок у дисперсію вибірки осіб, що не курять, склали імуноцитогенетичні показники (ХА та велика кількість мікроядер). До цього долучалися збільшення загальної частоти ААХ, асоційованих хромосом в одній клітині. При цьому ступінь структурного пошкодження генетичного апарату (від поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків до різних типів мікроядер) був рівнозначним з епігенетичними модифікаціями геному.

Для дослідження генетичної обтяженості щодо різних захворювань вивчено також розподіл здорових людей за антигенами груп крові систем АВ0 та резус. Встановлено, що у досліджуваній популяції жителів Прикарпаття переважали особи з фенотипом А(II) – 455 (43,71 %). Носії антигенів В(III) і О(I) вірогідно склали меншу кількість від таких серед здорових людей, відповідно (22,09 і 28,72 %) ( $p < 0,01$ ). Найменше осіб зареєстровано з групою АВ (IV) – 57 (5,48 %). Проведеним аналізом на носійство алеля Rh визначено, що кількість резус-позитивних людей дорівнювала 927 (89,05 %), резус-негативних – 114 (10,95 %). Аналогічний розподіл виявлено і за статтю. За частотою антигенів систем АВ0 і резус всі здорові особи розподілені наступним чином – А(II)>О(I)>В(III)>АВ(IV).

Вирішальна роль у генетичній схильності до захворювань належить мутаціям генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків, зокрема II фази детоксикації – глутатіон-S-трансфераз (GST). Багатоцентрове дослідження основних поліморфних варіантів генів серед 15 тисяч представників різних рас і етнічних груп показало, що частота гомозигот по делеції гена GSTM1 складає в середньому 53,1% у європейців, 53,90 % – у монголідів, 26,7% – у африканців [8], 50,59 % – в українській популяції [5]. Частота гомозигот по нульовому алелю гена GSTT1 коливалася від 7,94 % (у населення північної Італії) [2] та 12-13 % (у поляків) до 20 % (у жителів Словенії) [9]. Серед українців поширеність осіб з генотипом GSTT1 0/0 – 14,23 %, а поєднання двох нульових алелей зареєстровано у 3,45 % осіб [5].

В людей з генотипом GSTT1“-/GSTM1“- існує втрата функції фермента, що може бути причиною підвищеної чутливості до генотоксичної дії будь-яких ксенобіотиків, зокрема тютюнового диму і зумовлювати високий ступінь ризику розвитку бронхо-легеневих захворювань.

## Висновки

1. Результати компонентного *Factor loadings* (*Unrotated*) і факторного *Varimax raw* аналізу 38

біохімічних, імуногенетичних, морфофункціональних показників 78 здорових людей довели генетично детерміновану єдність структурного і функціонального компонентів бронхо-легеневої системи у здорових людей, які забезпечують адаптацію до мінливих умов довкілля. 2. Встановлено три основні компоненти і фактори, які мали найбільше факторне навантаження (внесок у дисперсію вибірки склав відповідно 25,6 і 25,0 %). 3. Визначено наступний розподіл здорових жителів Прикарпаття за антигенами груп крові систем АВ0 та резус: А(II)>О(I)>В(III)>АВ(IV).

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку полягають у математичному обґрунтуванні основних патогенетичних ланок розвитку захворювань дихальної системи.

## Література

1. Баранов В.С. Экологические и генетические причины нарушения репродуктивного здоровья и их профилактика / В. С. Баранов, Е. К. Айламазян // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – № 1. – С. 3–10.
2. Бигатти М. П. Полиморфизм глутатион-S-трансферазы Т1 (GSTT1) и М1 (GSTM1) в выборках населения северной Италии / М. П. Бигатти, А. Сантовито // Генетика. – 2007. – Т.43, № 6. – С. 827–830.
3. Биличенко Т. Н. Загрязнение атмосферного воздуха и болезни органов дыхания у населения / Т. Н. Биличенко, Э. И. Чигирева, Н. В. Ефименко // Пульмонология. – 2003. – Т.13, № 1. – С. 9–21.
4. Викторова Т. В. Взаимодействие генетических и внешнесредовых факторов в процессе развития хронических obstructивных болезней легких Т. В. Викторова, Г. Ф. Корытина, Д. Г. Ямбаева // Мед. генетика. – 2003. – № 2. – С. 50–59.
5. Горовенко Н. Г. Визначення молекулярно-генетичних маркерів спадкової схильності до виникнення хронічного obstructивного захворювання легень / Н. Г. Горовенко, С. В. Подольська, Н. В. Чернюк // Український пульмонологічний журнал. – 2009. – № 4. – С. 13–16.
6. Дворецкий Л. И. Анемия у больных хронической obstructивной болезнью легких: коморбидность или системное проявление? / Л. И. Дворецкий // Пульмонология. – 2012. – № 2. – С. 5–11.
7. Наследственные болезни: национальное руководство / под ред. акад. РАМН Н. П. Бочкова, акад. РАМН Е. К. Гинтера, акад. РАМН В.П. Пузырева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 936 с.
8. Garte S. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations / S. Garte, L. Gaspari, A. K. Alexandrie // Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention. – 2001. – Vol. 12. – P. 1239–1248.
9. Kargas C. Combined genotype analysis of CSTM1 and CSTT1 polymorphisms in a population / C. Kargas, R. Krupa, Z. Walter // Human Biology. – 2003. – Vol. 75. – P. 301–307.

## Реферат

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНОВАННОСТЬ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО ЕДИНСТВА ОРГАНОВ БРОНХО-ЛЕГЕЧНОЙ СИСТЕМЫ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ КОМПОНЕНТНОГО И ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА

Чернюк Н. В.

Ключевые слова: биохимические, иммуногенетические и морфофункциональные показатели, бронхо-легочная система, компонентный и факторный анализ.

С целью определения базовых характеристик состояния защитных компенсаторных реакций организма с помощью компонентного Factor loadings (Unrotated) и факторного Varimax raw анализа установлены три основные факторы, которые объединили между собой 38 биохимических, иммуногенетических, морфофункциональных показателей бронхо-легочной системы 78 здоровых людей. Первый компонент доказал взаимосвязь функции дыхательной системы с окислительно-восстановительными процессами, цитокиновым профилем организма и зависимость степени эндогенной интоксикации от хромосомных аномалий. Второй компонент объединил показатели эпигенетической модификации экспрессии генов клеток бронхиального дерева и их функции. Третий компонент определил негативное влияние структурных нарушений хромосомного аппарата на функцию мелких бронхов, цитокиновый профиль, состояние окислительно-восстановительных процессов и эндогенную интоксикацию организма. Для установления генетической склонности к разным заболеваниям изучено распределение носителей антигенов групп крови систем АВ0 и резус среди 1041 здорового жителя Прикарпатья. Исследуемые здоровые люди составили следующий ряд – A(II)>O(I)>B(III)>AB(IV). Учтено индивидуальную чувствительность людей к вредным факторам с учетом мутаций генов биотрансформации ксенобиотиков II фазы, в частности глутатион-S-трансфераз (GST). Вывод. Результаты компонентного и факторного анализа доказали генетически детерминированное единство структурного и функционального компонентов бронхо-легочной системы, которые обеспечивают адаптацию к изменению условий среды.

## Summary

GENETIC DETERMINANCY OF MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL INTEGRITY OF BRONCHO-PULMONARY ORGANS IN HEALTHY PERSONS ACCORDING TO RESULTS OF COMPONENTIAL AND FACTOR ANALYSIS

Cherniuk N.V.

Key words: biochemical indices, immunogenetic indices, morphofunctional indices, broncho-pulmonary system, componential and factor analysis.

This research was aimed to determine the basic characteristics of the state of protective compensatory body reactions by the methods of factor loadings (unrotated) and Varimax raw analysis. This made it possible to reveal three main factors that combined biochemical, immunogenetic, morphological indicators of bronchopulmonary system in 78 healthy persons. Using the component *factor loadings (Unrotated)* and the factor *Varimax raw* analyses enabled to reveal six major components and factors that combined 49 parameters of the healthy persons. The first component proved the interrelation between the respiratory function and oxidation-reduction processes, cytokine profile and the dependence of endogenous intoxication on chromosomal abnormalities. The second component combined the indices of epigenetic modification of gene expression of cells of the bronchial tree and their functions. The third component determined negative impact of structural impairments in chromosome apparatus upon the function of small bronchi, cytokine profile, oxidation-reduction processes, and endogenous body intoxication. To investigate the genetic loading on various diseases we studied the distribution of blood antigen carriers by AB0 and Rh systems among 1041 healthy resident of Carpathian area. It was found out the healthy persons under the observation made up the following row A (II)>O(I)>B (III)>AB (IV). To identify the individual sensitivity of healthy subjects to harmful factors we determined the distribution of gene mutation carrier of phase II biotransformation of xenobiotics, including glutathione-S-transferase (GST gene deletion). The results of componential and factor analyses have demonstrated the genetically determined integrity of functional and structural components of broncho-pulmonary system which provide the adaptation to the changeable environment.