

Министерство здравоохранения Российской Федерации
НОВОКУЗНЕЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ
УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВРАЧЕЙ – ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОССИЙСКАЯ
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ НЕПРЕРЫВНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ»
(НГИУВ – ФИЛИАЛ ФГБОУ ДПО РМАНПО МИНЗДРАВА РОССИИ)

УДК 616.24-003.661-092-057: 622.333



УТВЕРЖДАЮ
Директор НГИУВ – филиала
ФГБОУ ДПО РМАНПО
Минздрава России
д-р мед. наук, доцент
С.Л. Кан
31.12.2022

Регистрационный номер НИОКТР
122041100117-6

ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

Морфогенез системных фибропластических и онкологически направленных изменений во внутренних органах при воздействии угольно-породной пыли у шахтеров и металлургов Кузбасса
(II этап промежуточный)

Руководитель НИР,
зав. научно-исследовательской
лабораторией патанатомии,
канд. мед. наук

О.И. Бондарев

Новокузнецк 2022

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель НИР,
зав. научно-исследовательской
лабораторией патанатомии,
канд. мед. наук


31.12.2022


О.И. Бондарев

Исполнители:

Ст. науч. сотр.,
канд. биол. наук

31.12.2022


М.С. Бугаева

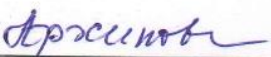
Зав. научно-исследовательской
лабораторией
молекулярной биологии,
д-р биол. наук

31.12.2022


Н.В. Мальцева


Ст. научн. сотр.,
канд. мед. наук

31.12.2022


С.В. Архипова

Мл. научн. сотр.

31.12.2022


О.М. Казанцева

Нормоконтролер:
зам. директора
по науке и развитию
д-р мед. наук, проф.

31.12.2022


Е.И. Лютина



РЕФЕРАТ

Отчет 30 с., 1 приложение

ШАХТЕРЫ, ПНЕВМОКОНИОЗ, ФИБРОЗ, ОНКОПАТОЛОГИЯ, ИММУНОГИСТОХИМИЯ, ПАТОМОРФОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ, ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

Объект исследования. Гистологические и тканевые элементы легких у шахтеров, предопухолевые и опухолевые образования, геномная ДНК.

Цель работы. Выявление ранних специфических изменений в легких и изучение генетических маркеров пневмокониоза.

Материал и методы. Проведено расширенное гистологическое исследование 2000 кусочков ткани аутопсийного материала шахтеров, морфометрическое – 3500 образцов и иммуногистохимическое (антитела BSL-2, CD-31 и CD-34, цитокератинового ряда) – 500 образцов, а также материала от экспериментальных животных (500 образцов), подвергающихся хроническому воздействию производственных факторов. Генотипированы образцы геномной ДНК шахтеров и лиц контрольной группы (без патологии легких) - 582 пробы, с помощью аллель-специфичной ПЦР (Real-time и электрофоретическая детекция).

Результаты. В 2022 году расширено исследование аутопсий легких в количестве 2000 кусочков. Возраст шахтеров составлял $45,3 \pm 2,1$ лет, продолжительность стажа – $20,4 \pm 2,0$ лет. Выявлены ранние признаки эпителиально-мезенхимальная трансформации в пылевых гранулемах в легких как гистогенез пневмокониоза, механизмы проапоптотической активности некоронарогенного характера в сердечной мышце, а также эндотелиальная дисфункция во внутренних органах как патогенез пневмосклероза у работников угольной промышленности Кузбасса. Установлены полиморфизмы генов, ассоциированные с риском развития пневмокониоза. Частоты рискованных аллелей по генам IL6 C-174G и IL10 G-1082A были сравнимы ($p > 0,05$), а по гену TNF α G-308A – достоверно различались, так что мутантный аллель TNF α 308A в 3,3 раза реже встречался в обследованной выборке шахтеров с пневмокониозом, чем в контрольной группе ($p = 0,00118$, OR = 0,188).

Область применения. Результаты исследования позволят выявлять и предупреждать пылевую патологию легких на ранних этапах ее формирования. Лекционный материал, включающий полученные патологоанатомические данные, может использоваться в системе непрерывного медицинского образования (НМО) для совершенствования профессиональных компетенций.

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ	2
РЕФЕРАТ	3
СОДЕРЖАНИЕ	4
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	5
1. ВВЕДЕНИЕ	6-8
2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ. ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СИСТЕМНОГО ХАРАКТЕРА ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ШАХТЕРОВ, НЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С ПЫЛЕВЫМ ФАКТОРОМ	9-17
2.1 Объект и методы исследования	9-11
2.2 Алгоритм исследования	12-13
2.3 Иммуногистохимическое исследование	13-16
2.4 Цитологическое исследование	16-17
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ	18-25
4. ВЫВОДЫ	26-27
5. ПРИЛОЖЕНИЕ. Перечень публикаций	28-30

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДПО – дополнительное профессиональное образование

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

МКК – малый круг кровообращения

НИЛ – научно-исследовательская лаборатория

ПК – пневмокониоз

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

ЭМТ – эпителиально-мезенхимальная трансформация

Ki-67 – маркер пролиферативной активности

Bcl-2 – онкоген проапоптотической активности

CD-34; CD-31 – факторы роста и неоангиогенеза, факторы эндотелиальной функции

EMA, SMA – маркеры межклеточных взаимодействий

МАП – межальвеолярные перегородки

1 ВВЕДЕНИЕ

Кузнецкий угольный бассейн является крупнейшим угольным месторождением в мире. На его долю приходится 56% от общего объема российской добычи угля (Мазикин В.П., 2005). Площадь угленосных отложений составляет 26,7 тыс. км². Угли Кузнецкого бассейна представлены всеми технологическими группами и марками от бурых углей до антрацитов. Все шахты Кузбасса являются опасными по метану и угольной пыли (Резников Е.Л., 2011). В организациях по добыче каменного и бурого углей и торфа 78,7% работников заняты на рабочих местах с вредными и (или) опасными условиями труда (Бухтияров И.В., Чеботарёв А.Г., 2018).

По данным НИИ медицины труда, на рудных и угольных шахтах основным неблагоприятным производственным фактором на подземных работах остается пыль, образование которой сопровождается при выполнении практически всех технологических процессов добычи угля (Михайлова Н.Н. и др., 2012; Бухтияров И.В. и др., 2015; Чеботарев А.Г., 2016).

Добыча и реализация энергоносителей как стратегически важнейшего продукта для существования любого государства сегодня, как и всегда остро стоит на повестке дня. К ним, как известно, относятся топливно-энергетические ресурсы, и не последнюю очередь уголь.

Устойчивое состояние мировой энергетики и дальнейшее развитие угольной промышленности свидетельствует о том, что в ближайшие время мировая доля угля, как энергоносителя, будет прогрессивно возрастать. Известно, что только за период 2008-2010 гг. мировое потребление энергетического угля увеличилось на 1,3 млрд. т, или более чем на 30%.

Министерство энергетики Российской Федерации разработало Программу развития угольной промышленности Кемеровской области на период до 2025 года, в которой определены цели и задачи современного этапа совершенствования добычи угля и его переработки. Кроме того, разведанные запасы угля в Кузбассе, трудовые ресурсы Кемеровской области позволяют утверждать, что текущие уровни добычи угля для бассейна - далеко не предел. Некоторые аналитики подчеркивают, что при наличии соответствующих инвестиций, добычу угля на Кузбассе можно увеличить за десятилетие минимум вдвое, причем дополнительные объемы найдут своего потребителя, хотя бы из-за высокого качества угля. Несомненным лидером на сегодняшний день по добыче высококачественных сортов каменного угля в России является Кемеровская область.

Кузнецкий угольный бассейн (Кузбасс), который является одним из самых крупных угольных месторождений в мире. Это главный, а по некоторым позициям единственный в

стране, поставщик технологического сырья для всей Российской промышленности. Кузнецкий угольный бассейн является крупнейшим угольным месторождением в мире. На его долю приходится 56 % от общего объема российской добычи угля, в том числе 81 % особо ценных коксующихся марок, а балансовые запасы угля, подсчитанные до глубины 600 м, составляют 60 млрд т, из них 42,8 млрд т - коксующиеся. Площадь угленосных отложений составляет 26,7 тыс. км². Кондиционные запасы каменного угля Кузбасса превышают все мировые запасы нефти и природного газа в пересчете на условное топливо в 7 раз и составляют около 695 млрд т, причем угли Кузнецкого бассейна представлены всеми технологическими группами и марками - от бурых углей до антрацитов. Основной же ценностью угольных запасов Кузбасса являются запасы малосернистого угольного коксового сырья абсолютно всех технологических групп и марок, используемых в коксохимической, металлургической и электродной промышленности. В настоящее время добычу и переработку угля в Кузбассе осуществляют 67 шахт, 63 разреза, 35 обогатительных фабрик.

Многочисленные угольные предприятия Кузбасса являются опасными по метану и угольной пыли. Из 67 шахт 10 относятся к первой категории по метану, 8 – ко второй, 12 – к третьей, 22 являются сверх категорийными и 15 – опасными по внезапным выбросам. В то же время угольная промышленность практически во всех развитых угледобывающих странах стоит в ряду самых неблагоприятных по уровню производственного травматизма, смертности и профессиональных заболеваний. Согласно проведенному А.А. Цитко и Е.Б. Брусиной анализу удельного веса чрезвычайных ситуаций, приводящих к травматизации и гибели людей, на территории Кемеровской области (78) в 1992-1996 гг 53,07 % приходилось на аварии на угольных шахтах и разрезах; 35,58 % – на дорожно-транспортные происшествия и только 6,09 % - на третьи по распространенности вспышки острых кишечных заболеваний, гепатита, псевдотуберкулеза и дифтерии. По их данным, удельный вес шахтовых травм в многолетней динамике достаточно стабилен и составляет от 51,4 до 60,1 %, причем в среднем каждая 80-я травма сопровождается летальным исходом.

Угольные месторождения нередко содержат комплекс сопутствующих микроэлементозных полезных ископаемых, которые заключаются как в самих углях, так и в прилегающих к угольному пласту породах (79, 197). С угленосными месторождениями часто патогенетически связаны повышенные концентрации ряда редких, радиоактивных элементов, цветных и благородных металлов (Клер В.Р., Перциков И.З., 1991; Арбузов С.И. и др., 1999, 2010; Юдович Я.Э., Кетрис М.П., 2005; Сидорова Г.П., Крылов Д.А., 2016, 2017). Уголь всегда содержит природные радиоактивные вещества уранового и

актиноуранового рядов (^{238}U и продукты его распада ^{234}U , ^{226}Ra , ^{222}Rn , ^{210}Pb , ^{210}Po и т.д.; ^{235}U и продукты его распада ^{219}Rn и т.д.), ториевого ряда (^{232}Th и продукты его распада ^{220}Rn , ^{216}Po), а также долгоживущий радиоактивный изотоп ^{40}K . Данное обстоятельство несомненно вносит коррекцию в представлениях о механизмах развития онкопатологии у работников угольной промышленности.

Современный период характеризуется повышенным числом смертельных случаев в шахтах Кузбасса существенно уменьшилось (если в 1994 г. оно составляло 1,5 на 1 млн. тонн угля, то в 2003 - 0,97, из-за ряда крупных аварий на шахтах Кузнецкого бассейна, сопровождавшихся большим количеством погибших, вопросы безопасности шахтерского труда остаются одними из самых актуальных в Кузбассе. В структуре заболеваний органов дыхания пылевой этиологии, занимающих 1-2 места среди профессиональной патологии, хронический пылевой бронхит и хроническая обструктивная болезнь лёгких профессионального генеза занимают первое место, что в сочетании с высокой урбанизированностью Кузбасса приводит к значительной первичной и накопленной заболеваемости хроническим пылевым бронхитом.

Прогрессирование пневмокониоза может привести к смерти, даже если этиологические факторы воздействия устранены. Однако не у всех людей, подвергшихся воздействию пыли, развиваются ПК, что позволяет предположить детерминированность заболевания генетическими факторами, помимо факторов окружающей среды. Выявление генетических маркеров ПК будет способствовать изучению патогенеза этого заболевания и обеспечит теоретическую основу для определения рисков, прогноза, ранней диагностики и профилактики этого заболевания.

Объект исследования. Гистологические и тканевые элементы легких у шахтеров, предопухолевые и опухолевые образования, геномная ДНК.

Цель работы. Выявление ранних специфических изменений в легких и изучение генетических маркеров пневмокониоза.

Задачи:

1. Изучить соматические и опухолевые патологические изменения легких у шахтеров при пневмокониозе.
2. Определить полиморфизмы в генах-кандидатах заболеваний легких у шахтеров при пневмокониозе, ассоциированные с риском его формирования.

2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ. ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СИСТЕМНОГО ХАРАКТЕРА ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ШАХТЕРОВ, НЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С ПЫЛЕВЫМ ФАКТОРОМ.

2.1 Объект и методы исследования. Объектом исследования при ПК явились патоморфологические и морфометрические константы артерий и вен малого круга кровообращения (МКК), а также клеточные структурные элементы ткани легких, полученной при судебно-медицинских экспертизах 120 шахтеров, считавшихся по результатам медицинских осмотров практически здоровыми и погибших при техногенных катастрофах на угольных предприятиях Кузбасса. Возраст шахтеров составлял $45,3 \pm 2,1$ лет, продолжительность вредного стажа – $20,4 \pm 2,0$ лет. Профессии погибших относились к основным профессиям угледобывающей отрасли: проходчик, горнорабочий очистного забоя, горнорабочий подземный, подземный электрослесарь, оператор горно-выемочных машин, мастер участка.

Для исследования аутопсийного, операционно-биопсийного и цитологического материала пневмокониотических изменений во внутренних органах у шахтеров были взяты образцы легких, сердца, печени, почек и головного мозга с целью проведения гистологического, цитологического, гистохимического, морфометрического и иммуногистохимического анализа.

Все исследования включали в себя первичную микроскопию легких, бронхов, плевры, сосудов легких различного типа (венозные, артериальные, лимфатические); печени, сосудов печени различного типа (артериальные и венозные); различных отделов сердца (эндокард, миокард, перикард), гемодинамический отдел малого и большого кругов кровообращения; почек и головного мозга. Исследование мазков, промывных вод при цитологическом методе. Исследование внутренних органов проводили с обязательным контролем нормальной ткани без пылевого воздействия по общепринятым стандартам и методикам.

Для комплексной оценки патоморфологических изменений воздухо-проводящего, гемодинамического и респираторных отделов дыхательной системы, изменений внутренних органов (печени, сердца, почек и головного мозга), применяли морфометрический анализ гистологических структур с измерением линейных размеров (толщины, ширины, радиуса, диаметра). Для измерения патологически измененной ткани были измерены линейные размеры зон склероза, внутри-стеночного склероза, склероза

подслизистых желез, склеротических изменений базальной мембраны. Для оценки изменений в гемодинамической системе измеряли линейные размеры (толщины, ширины, радиуса, диаметра) сосудов внутренних органов различного размера включая артериальные и венозные отделы сосудистого русла.

Анализ санитарно-гигиенических характеристик, выданных Роспотребнадзором, рабочих мест шахтеров, обследованных в профпатологическом центре города Новокузнецка, позволяет говорить о том, что в перечисленных и других основных профессиях угледобывающей отрасли на всех шахтах Кузбасса уровень запыленности рабочих мест шахтеров угольно-породной пылью превышает предельно допустимые концентрации от нескольких раз до нескольких десятков, а порой и сотен раз, то есть относится к третьему классу вредности 1-4 степени (класс 3.1-3.4 согласно руководства по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда. Руководства Р.2.2.2006-06. – Москва, 2006. – 205 с.). Дополнительным условием, утяжеляющим действие фактора повышенной запыленности, является тяжесть физического труда в большинстве перечисленных профессий, также относящаяся к третьему классу вредности различной степени, приводящая во время работы к увеличению минутной вентиляции легких, и, следовательно, к большему поступлению пыли в систему органов дыхания.

Гистологические изменения в бронхах выявлялись положительной гистохимической реакцией на гематоксилин-эозином, а также по методу Ван Гизон (пикрофуксин), кроме того, применялись специфические дополнительные окраски по Гейдейгану, Касону и Вейгерту на выявление склеротических изменений. Определение степени развития склероза проводилось спектрофотометрически с предварительным определением минимального порога цветности в контрольной группе. Степень склероза определялась в интерстициальной ткани легких, в слое гладкомышечных клеток бронхов в стенке бронхов. Воспалительная инфильтрация оценивалась морфометрическим методом при помощи счетной программы, в целом, в бронхиальных железах, а также полуколичественным методом на светооптическом уровне. Характер и количество пылевых отложений идентифицировался микросподографией. В бронхах различных генераций, не только в крупных, но и во многих мелких бронхах и бронхиолах, оценивались атрофические и субатрофические изменения выстилающего бронхиального эпителия со сглаженной, а во многих местах отсутствующей складчатостью слизистого и подслизистого слоев, воспалительные изменения в слизистой и подслизистой основе бронхов, а также в перибронхиальных пространствах. В перибронхиальных пространствах оценивалось наличие мелкоочагового и диффузного резко выраженного склероза ткани с

наличием мелких пылевых включений. Пылевые включения кварца оценивали по наличию в просвете бронхов и в перибронхиальных пространствах частиц кремния. В собственно мышечной пластинке бронхов выявлялись различной степени интенсивности фибропластические изменения в виде набухания коллагеновых и эластических волокон, с формированием грубопетливой сети. Наряду с фибропластическими изменениями определялись признаки перестройки соединительнотканного каркаса от упорядоченного и структурированного, до фрагментарно разрозненного с солидизацией и слиянием части волокон в конгломераты на отдельных участках.

Образцы крови были забраны у 23 шахтеров во время проведения профмедосмотра и у 46 практически здоровых лиц без патологии легких (группа контроля) в количестве 3-5 мл цельной венозной крови из локтевой вены в стандартные пробирки, содержащие ЭДТА-К3 (IMPROVE, China). Образцы геномной ДНК выделяли с помощью коммерческого реагента «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», Москва). Генотипирование проводили по полиморфным локусам *IL6*^{C-174G}, *IL1β*^{C3953T}, *OPG*^{G1181C}, *IL1β*^{G1473C}, *IL10*^{G-1082A}, *IL1β*^{T-511C}, *TNFα*^{G-308A} с помощью коммерческих комплектов реагентов «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», Москва) методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией результатов и в режиме реального времени

Статистический анализ. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программ Microsoft® Excel® версия 14.4.6, IBM SPSS Statistics 22. Стандартная обработка включала подсчет выборки (n – количество обследованных лиц), средних арифметических величин (M), ошибки средней (m), медианы (Me), а также диапазон разброса данных от минимального до максимального значения (Min-Max) в каждой исследуемой выборке. Значимость различий показателей между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (P). Относительный риск по конкретному признаку вычисляли как соотношение шансов (OR= odds ratio). Корреляционную связь (согласованное изменение двух признаков) между показателями оценивали с помощью непараметрического критерия Спирмена (r). Критический уровень значимости (P) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга определяли стандартно при помощи программы Chi-sqHardy-Weinberg equilibrium test calculator for biallelic markers по величине χ^2 -критерия.

2.2 Алгоритм исследования. Для более точной реализации расширенного патоморфологического исследования коллективом НИЛ патанатомии использовался морфометрический метод оценки патоморфологических данных при УПП. Для оценки полученных данных был разработан оригинальный (авторский) алгоритм исследования гистологических препаратов внутренних органов. Данный алгоритм был следующим:

1. Слизистая оболочка бронха:

- а. покровный эпителий (высота, толщина, соотношение ядра и цитоплазмы);
- б. базальный слой (высота, толщина, соотношение ядра и цитоплазмы);
- в. собственная пластинка (высота, толщина, клеточные элементы, сосуды).

2. Подслизистая оболочка бронха:

- а. мышечные волокна; б. выводящие протоки желез; в. железы подслизистого слоя (высота паренхиматозных элементов, волокнистые структуры, клеточные элементы, сосуды).

3. Бронхиальное содержимое

4. Гемодинамическая система (печени, почек, сердца, головного мозга):

- а. артерии (толщина и площадь эндотелия, толщина и площадь мышечного слоя, измерение адвентиции, периваскулярный фиброз, радиусы и диаметры сосудов);
- б. вены (толщина и площадь эндотелия, толщина и площадь мышечного слоя, измерение адвентиции, периваскулярный фиброз, радиусы и диаметры сосудов); в. лимфатические сосуды (определение простых линейных размеров).

5. Легкие:

- а. определение толщины межальвеолярных перегородок;
- б. определение и подсчет (площадь) пылевых частиц кварца в просветах альвеол; в. измерение площади воздушных и безвоздушных зон в легочной ткани.

6. Сердечная мышца:

- а. толщина и площадь кардиомиоцитов, толщина и площадь склеротических изменений, измерение ядер миоцитов, периваскулярный фиброз, толщина и площадь эндотелия
- б. площадь липофусцина.

7. Печень:

- а. площадь цитоплазмы гепатоцитов, толщина и площадь склеротических изменений в портальных трактах; измерение ядер гепатоцитов; толщина и площадь эндотелия; количественная оценка воспалительной инфильтрации.

8. Почки:

- а. площадь цитоплазмы эпителия дистальных и проксимальных канальцев (нефроцита); толщина и площадь склеротических изменений в стромальном компоненте почек (тубуло-интерстициальный компонент ТИК);

б. измерение площади клубочков; толщина и площадь эндотелия различных сосудов в почках; количественная оценка дистрофических и воспалительных изменений;

в. измерение площади эндотелиальных клеток в сосудах почек.

9. Головной мозг:

а. толщина и площадь эндотелия сосудов головного мозга;

б. толщина и площадь мышечного слоя (ГМК) сосудов головного мозга, измерение адвентиции, периваскулярный фиброз головного мозга, радиусы и диаметры сосудов, качественная оценка высокоспециализированных элементов головного мозга (нервные клетки и проводящие пути).

2.3 Иммуногистохимическое исследование. Особым этапом исследования для выявления тонких ультраструктурных механизмов в работе явился современный и инновационный метод ИГХ, выполненный по методике мультимерной безбиотиновой системы детекции – REVEAL Biotin-Free Polyvalent DAB (Производитель – Spring Bioscience, США). Метод выявлял реверсивные антитела у групп клеток, располагавшихся в зоне фиброза. Результаты иммуногистохимической реакции оценивали в 10 полях зрения микроскопа, по 100 клеток в каждом, при различном увеличении от *100 до *400. В готовых срезах высчитывали количество положительных реверсивных клеток к общему объему всех клеток слизистой при иммуногистохимической реакции.

В исследовании использовалась компьютерная программа фирмы West Medica HandelsgmbH – Bio Vision 4.0, определяющая все линейные размеры легких, бронхов и сосудов любого гистона с точностью до 0,01μ и позволяющая по фрагментам и кривизне отрезков гистологического препарата реконструировать диаметры любой тканевой структуры, а также определять площади объектов, выделяемых вручную или спектрально.

В легких на фоне отложений УПП формировались различные участки ателектазов и дистелектазов с тенденцией к формированию пневмосклеротических зон. В зону фиброзной трансформации были вовлечены бронхи, средние и мелкие сосуды легких, а также плевра. На этом фоне при исследовании 25 аутопсий отмечались признаки метаплазии бронхиального эпителия, а также появление признаков атипии и анаплазии с формированием опухолевых конгломератов различного размера. Все опухолевые случаи относились к поздней IV стадии развития патологического процесса. В эпителиальной ткани бронхов отмечалось усиление экспрессии виментина в цитоплазме бронхиального эпителия не только с положительной хромогенной окраской, но и с морфологическими признаками изменением формы клеток, потерей межклеточных контактов, изменением полярности клеток. Интенсивность экспрессии виментина была неоднородной не только в различные сроки профессиональной деятельности, но и в топографическом

распределении. Умеренная экспрессия виментина наблюдалась в центральных отделах легких, более высокая отмечалась в дистальных зонах. В крупных долевых бронхах легкого экспрессия виментина была умеренной независимо от стажа работы, с незначительным увеличением в поздних стажевых группах. При этом имелось определенное снижение окрашивания цитоплазматических рецепторных зон (EMA и SMA в проекции фенотипически измененных клеточных сообществ с положительной реакцией). В стенках крупных бронхов имелись признаки замещения части мышечных волокон соединительнотканными элементами (положительная детекция антител EMA для определения коллагенизации мышечной ткани).

С целью определения различных гистогенетических механизмов заместительного фиброза в тканях, наряду с общепринятыми маркерами, мы исследовали функцию апоптоза, а также маркеры пролиферативной активности в ткани легких. Для определения проапоптотической и пролиферативной функций нами были использованы моноклональные антитела к Vcl-2, Ki-67. В круг исследования были взяты эпителиальные элементы бронхов, клетки мышечного массива и перимизия, элементы сосудистого гистиона, стромальных элементов легких.

В результате проведенных исследований была отмечена экспрессия Ki-67 в структурных элементах легкого и только в очагах метаплазии бронхиального эпителия с хромогенной прокраской клеток. В зоне опухолевой трансформации экспрессия Ki-67 была умеренно выраженной. Трансформированные при опухолевом росте клетки бронхиального эпителия составляли значительные изменения. Таким образом, в среднем площадь анаплазированных опухолевых клеток эпителия у шахтеров в зоне фиброзной трансформации при пылевой нагрузке была увеличена более чем в 2 раза при сравнении этих показателей с метаболически и дистрофически измененном эпителием в зоне фиброза у шахтеров без опухолевой ткани. Данный показатель свидетельствовал о повышении функциональной активности метаплазированных клеток и переходе их в качественно новые опухолевые клеточные типы. Усиление экспрессии хромоген-позитивного материала, в зонах опухолевой ткани, а также количественные изменения объема клеток были характерной особенностью при опухолевой прогрессии у работников угольной промышленности.

В просвете альвеол имелись признаки макрофагального воспаления и скопления гемосидерофагов, что может служить диагностическими признаками формирующихся гранулем при ПК как предвестника пред фибротического изменения ткани. МАП перегородки были резко утолщены за счет фиброзной ткани и отложений пылевых частиц. В легких имелась перикалибровка сосудов с резким изменением количественных

показателей всех составляющих ее элементов. Утолщение стенок как артерий, так и вен было обусловлено выраженной гипертрофией гладкомышечной ткани, значительнее в сосудах артериального типа, а также склеротическими изменениями. Гладкомышечные волокна достоверно утолщены с наложением части мышечных волокон друг на друга и формированием элементов повышенной клеточности составляющего мышечного компонента. Ядра мышечных клеток были гиперхромные, достоверно увеличены в объеме. Вокруг сосудов в периваскулярной зоне имелись выраженные признаки периваскулярного фиброза с частичной деформацией просветов сосудов легочного и бронхиального типа, с отложением пылевых частиц в этих пространствах. Характерной особенностью у шахтеров было наличие типичного резко выраженного периваскулярного склероза. В зонах склероза, выходящих за пределы сосудистого гистиона, при иммуногистохимическом исследовании четко определялись отдельные клетки, а также группы клеток с положительной детекцией маркеров эндотелия CD-31 и CD-34, с признаками повышенной функциональной активности фибробластов. CD + позитивные клеточные элементы отличались по видовой характеристике от клеточных элементов воспалительного и иммунологического типа. Клетки имели характерную вытянутую форму, различное направление без определенной гистиотопографии, острые апикальные клеточные края. Клетки CD + положительной детекции в соединительнотканых участках по ходу бронхов и сосудов легкого были в умеренном количестве без формирования фолликулярных структур, характерных для иммунологических реакций. Сам фиброзный каркас был склонен к изменению своей основы с признаками новообразования и деградации части каркасной структуры соединительной ткани. CD + позитивные клетки формировали крупноочаговые зоны, их форма соответствовала зрелым типичным коллаген-продуцирующим элементам, т.е. активным фибробластам. Сосуды всех калибров с резко утолщенными стенками. Кроме зон склероза в периваскулярных пространствах имелись частицы пыли с циркулярным характером «луковичных» структур. Пылевые частицы в виде крупных солидных зон располагались между соединительноткаными элементами, тесно прилегали к адвентициальным элементам сосудов. Часть пылевых частиц встречались непосредственно в просветах сосудов. В 12 случаях с опухолевыми изменениями в легких участки фиброза входили в тесные взаимоотношения друг с другом. Эндотелиальные клетки значительно изменены в сторону увеличения ядерного компонента с пролабированием некоторых ядер в просвет сосудов, с изменением их объема в сосудах диаметром до 50 микрон. Бронхи дилатированные с резким утолщением стенок за счет гипертрофии мышечного слоя. Мышечные волокна извитой формы, увеличены в объеме, утолщены. Между отдельными

мышечными волокнами отмечалось разрастание фиброзных прослоек, формирующих петлистую структуру соединительного межмышечного каркаса. Наряду с формированием соединительнотканых процессов, в бронхах отмечались признаки дезорганизации фиброзного каркаса с дегенеративными процессами коллагеновых волокон. Специфические окраски на степень зрелости соединительной ткани по Касону выявляли признаки прогрессирования соединительнотканной сети. В части бронхов имелись признаки плоскоклеточной метаплазии. Базальная мембрана характеризовалась нечеткими контурами с изменением окраски основного элемента коллагеновой основы. На отдельных участках базальная мембрана была гомогенизирована, частично расслоена с появлением фенестрированных зон и единичными фибробластоподобными элементами. Неясность контуров и метахромазия базальной мембраны, вероятнее всего, являлись единым патогенетическим звеном в формировании как склеротических изменений в легких, так и опухолевой прогрессией, связанной с появлением феномена ЭМТ. Изменения в тканевом гистионе у шахтеров характеризовались выраженными обменно-дистрофическими процессами со стороны соединительнотканного каркаса в условиях воздействия УПП и прогрессирующими признаками дезорганизации коллагеновой основы базальных мембран. При иммуногистохимическом исследовании как в самой фиброзной ткани, так и опухолевой зоне, мы наблюдали положительную экспрессию цитокератинов, а также маркеров эндотелиальной ткани, что могло свидетельствовать о гистогенетической принадлежности фибробластов и миофибробластов из трансформированной ткани бронхов либо сосудов на основе ЭМТ.

2.4 Цитологическое исследование. Ранние формы патологических преобразований в ткани легких характеризовались немymi клиническими данными которые не фиксировались как изменения вообще. Для определения ранних патологических поражений в частности легких нами применялась цитологическая диагностика пылевого поражения бронхов и легких. Для этого при цитологическом исследовании брались мазки-отпечатки, промывных вод и иммуногистохимического исследования мазков бронхиального секрета в аспекте ранней постановки диагноза пневмокониоза. Основной массив материала брался в Новокузнецком Онкологическом диспансере. Причиной забора цитологического материала было исключение онкопатологии у шахтеров. Основное внимание уделялось выявлению общих и специфических элементов в структуре клеточных сообществ, полученных при цитологическом исследовании. При этом полностью исключалось травматическое повреждение слизистой любой этиологии, онко направленная патология и острые воспалительные, бактериальные изменения. Изучались мазки-отпечатки с поверхности слизистой оболочки бронхов, окрашенные по Папенгейму

и Гематоксилин – эозином. В работе использовался стандартный цитологический и иммуно-гистохимический метод с применением мультимерной безбиотиновой системы детекции – REVEAL Biotin-Free Polyvalent DAB (производитель Spring Bioscience, США). Морфометрически определялись хромоген-позитивные элементы мышечного типа. Результаты иммуногистохимической реакции оценивались полуколичественным методом в 10 полях зрения микроскопа, по 100 клеток в каждом, при различном увеличении. При оценке материала учитывалась фенотипическая принадлежность клеток бронхиального эпителия. На основании имеющихся данных каждое свой-ство оценивалось по четырех бальной шкале. (+) означал минимальное проявление признака, (++++) максимальное. Морфометрическое измерение прямо- и криволинейных размеров структурных компонентов и их площадей проводилось на микроскопе Nikon Eclipse E 200 с цифровой видеокамерой Nikon digital sight - Fi 1 (Japan) с использованием компьютер-ной программы фирмы West Medica HandelsgmbH – Bio Vision 4.0, определяющей линейные размеры с точностью до 0,5 μ . Гистологически и морфометрически оценивалась наличие макрофагального хронического воспалительного процесса, наличие кониофагов нагруженных угольным пигментом, площадь кониофагов. Цитологические изменения эпителия проводились для оценки слизистой бронхов у шахтеров, погибших при техногенных катастрофах, для исключения значимых фоновых и основных нозологических групп не имеющих отношения к ПК, для выявления ранних прогностических признаков бронхо-легочной пылевой патологии как фактора профилактики пневмокониоза.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

На текущий момент одним из главных и основных методов диагностики патологических процессов в легких является рентгенологическое исследование. Информативность обзорных снимков не велика, в связи с чем возникает необходимость дополнительного выполнения боковых, прицельных, увеличенных снимков, а также томо- и бронхографий.

Рентгенологический рутинный способ диагностики, который применяется для верификации пневмокониозов довольно неспецифический, обладает пониженной чувствительностью, вследствие чего исправляя и подтверждая свои невыразительные результаты, приходится выполнять повторные диагностические исследования через несколько недель и месяцев. Данное обстоятельство достоверно удлинняет и затрудняет процесс ранней диагностики ПК, способствует неуклонному прогрессированию заболевания в этот начальный период и развитию нераспознанных тяжелых форм патологических процессов, что в конечном итоге приводит к несвоевременному лечению и тяжелым не диагностированным осложнениям.

Вероятнее всего все начальные стадии развития пылевых бронхитов протекают бессимптомно не только клинически, но и рентгенологически.

Самым надежным является способ диагностики профессиональных заболеваний легких, связанных с повышенной запыленностью в том числе и ПК, путем гистологического исследования материала биопсий ткани легких, включая исследование бронхов.

Биопсийный материал достоверно позволяет выявить профессиональные заболевания легких по наличию корреляции морфологических и клинических проявлений. В то же время этот способ отличается высокой инвазивностью, трудоемкостью и экономической затратностью. Наиболее достоверным способом диагностики хронического бронхита по совокупности облигатных признаков поражения на сегодняшний день является морфологический способ диагностики хронического пылевого бронхита в гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином и другими специальными окрасками. Способ основан на микроскопических различиях расположения и количества воспалительных клеток в легких и бронхах, а также количестве соединительной ткани в указанных структурах.

Исследование материала заключается в заборе операционно-биопсийного материала в виде мелких фрагментов ткани (кусочков), которые забираются из различных отделов легких (прикорневой, центральной, периферической и субплевральной зон), из зон уплотнения (пневмофиброза), ателектазов и дисателектатических участков, отложений

угольного пигмента, из мало пораженных и неизмененных визуально участков легких и бронхов различного калибра (главные, долевыe, сегментарные, субсегментарные, терминальные). Иммуногистохимический метод определения реверсивных эпителиальных антител (количество антиген-положительных клеток к общему объему всех клеток слизистой при иммуногистохимической реакции), не характерных для тканевых элементов легких, а также корреляционный анализ морфологических структур легочного гистиона позволяет выявить закономерности межтканевых и межструктурных взаимодействий.

Методологические установки пульмонологии и профпатологии сегодня имеют многочисленные противоречия, в частности, в вопросах трактовки сущности заболеваний системы органов дыхания, системности поражения с недооценкой принципа органности. Следует заметить, что профпатология практически недавно признала весомым статус бронхов как равноценной структуры с легкими, как участника заболевания системы органов дыхания. Как писал Ф. Зауербрух, один из основоположников грудной хирургии, "...два больших переворота последнего пятидесятилетия, которые совершила патологическая анатомия и бактериологическое толкование болезней, привели нас, несмотря на блестящие завоевания и успехи, в тупик".

На современном этапе развития научной мысли возникает вопрос о правильных воззрениях в профпатологии и в пульмонологии, которые еще сегодня опираются на устаревшие представления, используя морально и технически несовершенные «орудия» верификации правильного диагноза. Не стоит забывать о базовом морфологическом принципе познания многих патологических процессов и заменять его социальным и субъективным функциональным подходом.

Развитие многих фундаментальных наук показывает, что, развивая научные подходы на основе анализа лишь частей, составляющих их, сегодня не продвигается вперед, а тормозится, если не сказать, что стоит на месте. Детальные субклеточные исследования чаще всего приводят к накоплению большого количества научных данных без конкретной функциональной трактовки. Современный объем научной информации достиг некоторого критического уровня, после чего необходим пересмотр научных воззрений, опирающийся на гистогенетические аспекты организации живого организма.

Для отечественной медицины на современном этапе развития характерно отсутствие надежных критериев теоретических основ медицины с её синтетическим складом мышления, тогда как для западноевропейской медицины характерен аналитический принцип мышления. Сегодня считается, что зарубежная медицина имеет лидирующие позиции не вследствие значительных прорывов в научной деятельности и

глубоких оригинальных идей, методик в познании патологических процессов, а благодаря значительному отрыву от нас в научно-технической сфере и обладанием высоких технологий, которые у нас недоступны в первую очередь из-за введенных не обоснованных санкционных мероприятий.

Расширенное изучение ведущих нозологий несомненно является перспективным при детальном изучении основ фенотипических, генотипических и онтогенетических констант. Однако трудность этого изучения заключается в "бесконечно-конечном противоречии", "...в том, что геном ограничен приблизительно 3 млрд. пар оснований у человека, фенотип — нет: и его предел зависит от того, как далеко мы хотим двигаться" (А.С. Серебровский, 1973). Именно детальный анализ фенотипирования, а не генотипирования представляет барьер к исследованию феномогеномных отношений (Cambien F., 2004; Venter J.C., 2010). В медицинском сообществе стала очевидна необходимость в детальных феномных проектах, которые должны соответствовать нозологическими критериями с требованиями ВОЗ.

Методом гистологического исследования были выявлены четкие признаки хронического пылевого бронхита с воспалительной инфильтрацией и склеротическими изменениями в стенках бронхов у шахтеров при воздействии угольно-породной пыли, а также развитие соединительной ткани в стенках бронхов и перибронхиальных пространствах. Легочная ткань шахтеров в обязательном порядке содержала скопления угольной пыли, видимые почти в любом гистологическом препарате при увеличении его в 10-20 раз.

В легочной ткани шахтеров ткань соответствовала не простому запылению легких, а пневмокониозу различной степени, проявлением которого был фагоцитоз пылевых частиц макрофагами с локализацией кониофагов в просвете альвеол или их стенках, различный легочный фиброз, проявлявшийся генерализованным утолщением межальвеолярных перегородок, их коллагенизацией, развитием полей интерстициального фиброза различного объема, значительным утолщением плевры, содержащей массивные скопления пыли и значительное разрастание соединительной ткани. Кроме того, у шахтеров все бронхи имели признаки пылевой бронхопатии с исчезновением гистологической складчатости слизистой, значительным уменьшением толщины эпителиального слоя, гипертрофии бронхиальных желез и резкой гипертрофии гладкомышечных клеток, а также выраженный перибронхиальный склероз. При специальных окрасках на выявление склеротических изменений по Гейдейгану, Касону и Вейгерту в мышечном слое средних и крупных бронхов четко определялись петлистая, нестабильная соединительно-тканная сеть, состоящая из новообразованных коллагеновых

и частично эластических волокон. В зоне сформированной соединительнотканной «заплатки» выявлялись немногочисленные фибропластические элементы, а также воспалительная инфильтрация. В перибронхиальных пространствах четко определялась зона выраженного склероза, порой превосходящая толщину стенок исследуемых бронхов. При окраске по Ван Гизону склероз окрашивался в ярко-красный цвет. При окраске по Вейгерту отмечались нечеткие контуры некоторых эластических и коллагеновых волокон, фрагментация отдельных участков просветления некоторых сегментов волокна. Кониотические изменения в бронхах шахтеров имели количественные и качественные проявления. Количественные показатели оценивались полуколичественным методом с указанием слабо выраженной, умеренно выраженной и высоко выраженной воспалительной инфильтрации.

Поражение структурных компонентов легочной ткани, а также стенок артерий внутренних органов и склеротические изменения в той или иной структуре чаще не сопровождались признаками воспаления. Этио-патогенетические маркеры фиброза также оставляли больше вопросов, чем ответов на поставленные задачи. Не было нарушений гемодинамики в малом и большом круге кровообращения, которые объясняли бы гипертрофию гладкомышечных клеток сосудов как компенсаторную реакцию со стороны сердца и сосудов других внутренних органов (почки, печень).

В литературе имеются сведения о глубоких функциональных изменениях сердечно-сосудистой системы у горнорабочих. В то же время, мало освещены вопросы морфологических нарушений сердечной мышцы и ее сосудов, недостаточно изучены механизмы их формирования. Развитие фиброзных изменений в миокарде у горнорабочих чаще всего связывают с ишемической болезнью сердца, гипертонической болезнью и сахарным диабетом.

Многих исследователей привлекает изучение роли сосудистого эндотелия в патогенезе многих заболеваний. Активация эндотелия сосудов в условиях воздействия различных патогенных факторов отмечается многими авторами. Эндотелий является центральным звеном в развитии, течении и исходе воспаления, типе ответной реакции организма на него. Активация цитокиновых рецепторов, расположенных на поверхности эндотелиальных клеток, запускает целый каскад реакций, окислительный стресс, продукцию медиаторов воспаления, свободных радикалов и других молекул, повреждающих клеточные мембраны. Патологически активизированное состояние эндотелия сосудов в конечном итоге приводит к его дисфункции.

На развитие эндотелиальной дисфункции у шахтеров указывают многие авторы, однако почти не встречается работ, которые характеризуют морфологическое состояние

внутренней выстилки сосудов сердца. Для выявления закономерностей межтканевых и межструктурных взаимодействий возникает необходимость использования ИГХ метода исследования с целью определения реверсивных антител, не характерных для тканевых элементов легких, а также корреляционного анализа морфологических структур легочного гистиона. Как известно, развитие кониотических изменений в различных клеточных генерациях ткани легких совершается параллельно с развитием пневмокониотических изменений в бронхах, в стенках легочных артерий и вен и протекает с формированием склеротических изменений.

Наш метод диагностики хронического бронхита заключался в обнаружении на основе иммуногистохимической реакции ранних признаков хронического пылевого бронхита и его дифференциальной диагностики по отношению к хроническому бронхиту общесоматического генеза. Проведено морфологическое ИГХ исследование легких и бронхов для определения наличия белков семейства мышечных антител: виментина, десмина, актина и др. в эпителиальном компоненте. При их наличии в определенном количестве определяли степень тяжести пылевого бронхита. Способ позволяет на основе различий системной детекции белков, не являющихся специфической принадлежностью эпителиальных клеток легких и бронхиального дерева, трансформироваться в различные в фенотипическом отношении клеточные генерации, способные вызывать фибропластические изменения в дыхательной системе, создать четкие представления о наличии фиброза в бронхах.

ЭМТ может быть отслежена обычной световой микроскопией не только по изменению внешнего вида эпителиальных клеток, теряющих свойственный им вид и мимикрирующих под клетки фибробластической природы, но и по иммуногистохимическому выявлению в них маркёров, свойственных мезенхимальным клеткам: виментина, немышечного актина, десмина, альфа-гладкомышечного актина и др., накоплению в экстрацеллюлярном матриксе гликозаминогликанов, указывающих на менее зрелый характер соединительной ткани, вкуче свидетельствующих о трансформации эпителиальных клеток в типичные фибробласты.

Пневмофиброз и склеротические изменения, связанные с угольно- породной пылью, могут развиваться из клеток трёх линий:

1. Резидентные прогениторные клетки фибропластического фенотипа.
2. Пришлые из костного мозга мезенхимальные стромальные клетки.
3. Образовавшиеся на месте при ЭМТ клетки фибропластической ориентации.

Морфологическая перестройка в структурных гистионах воздухопроводящих, респираторных и гемодинамических структурах МКК свидетельствует о системной

сущности кониотического процесса и позволяет трактовать участки пневмосклероза не как результат местной фибропластической реакции в зоне скопления пыли, а как клинимо-морфологический маркер (критерий) пневмокониоза даже при отсутствии рентгенологических признаков пневмокониоза с точки зрения эпителиально-мезенхимальной трансформации.

Проведенные исследования исключили инфекционно-воспалительную природу атрофии эпителия слизистой оболочки бронхов при пылевом воздействии, доказать её первичный генез на основе выявления в эпителии бронхов феномена ЭМТ.

Патогномоничные признаки ЭМТ достоверно свидетельствует о не воспалительном характере изменения бронхиальной стенки, являющегося патогномоничным для хронического бронхита пылевой природы.

В результате нашего исследования является выявление пылевого бронхита на ранних стадиях методом цитологического исследования, дифференцированная диагностика которого позволяет исключить онкопатологию а также не фиброгенные патологические изменения непрофессионального генеза, а также дает возможность установления степени тяжести заболевания ПК.

Предлагаемый способ диагностики хронического пылевого бронхита апробирован на двух группах клинимо-морфологического материала: 20-и шахтеров, проходивших обследование в центре профпатологии на предмет связи хронического бронхита с профессией и контингенте из 60 шахтеров судебно-медицинских экспертиз и 25 человек группы контроля.

В 2022 году в круг патоморфологических исследований был включен еще один достаточно емкий патогенетический аспект патологии у шахтеров. В разработку была включена онкопатология различной локализации у работников угольной промышленности. Определялись патологические механизмы и гистогенетические аспекты данной патологии при воздействии угольно породной пыли. Выявлялись механизмы формирования опухолевого клеточного клона. Проводилась попытка привязки данной патологии к воздействию УПП. Определялись органы мишени. В онкологическом направлении брались различные гистогенетические элементы легких. В частности, исследовались бронхи, сосуды различной генерации, стромальные элементы самих легких (альвеолоциты всех порядков). Проводились цитологические исследования на предмет ранней онкологической патологии у шахтеров. Кроме того, уделялось внимание преопухолевым метапластическим процессам в легких и других органах. На основании данного исследования были написаны 6 работ в журналах ВАК. В общей сложности были

опубликованы 13 работ, доклад на конференции в г. Прокопьевске «Профессия и здоровье» 01.12.2022 гг. по теме: «Пылевая патология органов дыхания».

Таким образом прогрессивное воздействие УПП позволяет говорить и развитие антракосиликоза с патоморфологическими изменениями во внутренних органах характеризует ПК как заболевание с единым патогенезом и стадийным характером развития. Развитие данных изменений зависит от стажа работы в подземных условиях и носит прогрессирующий характер, что доказывается полученными морфометрическими расчетными данными сравнительного анализа.

Проведенное исследование внутренних органов в частности почек, ЦНС, миокарда и печени с измерением всех констант сосудистого русла (диаметр, толщина стенки, площадь и толщина эндотелиального слоя), стромальных дегенеративных патологических изменений, изменений высокоспециализированных паренхиматозных элементов можно сделать предварительный вывод, что пневмокониоз у шахтеров имеет системный характер поражения. Изменений внутренних органов касаются всех элементов стромально паренхиматозных структур, которые в дальнейшем могут обусловить субкомпенсаторные и декомпенсаторные функции, приводящие к ранней инвалидизации работников угольной промышленности.

Необходимо отметить, что проводимые научно практические и экспериментальные данные необходимо внедрять в клинику при проведении профессиональных осмотров у работников угольной промышленности для достоверной и четкой верификации диагноза пневмокониоза угольщика вне зависимости от стажа воздействия УПП на организм. Быстрое внедрение морфологического метода исследования позволит сохранить рабочий и здоровый трудовой потенциал на предприятиях угольной промышленности России.

Исходя из полученных при исследовании данных, можно с достоверностью утверждать, что изолированных форм пылевого поражения бронхов, плевры клеток эндотелия и других внутренних органов нет и не может существовать. Пылевые изменения во внутренних органах в сочетании с поражением сосудов малого и большого круга кровообращения являются облигатными системными маркерами для диагностики пылевой патологии на любой стадии пневмокониотического процесса. Проблема заболеваемости ПК должна рассматриваться не только как медицинская, но и как социально-экономическая, поскольку заболеванию подвержены трудоспособные квалифицированные рабочие, что ведет к профессиональной инвалидности и пожизненным выплатам % утраты трудоспособности, а, следовательно, к экономическому ущербу.

Определены полиморфизмы в генах-кандидатах заболеваний органов дыхания,

ассоциированные с рисками их развития либо с протекцией их формирования. Рисковые гены для пневмокониоза, установленные по базам HuGE Navigator, NCBI, HUGO Gene Nomenclature Committee, Genbank, OMIM, Alfred, PubMed, Variant Name Mapper, – гены IL1 β C3953T, OPG G1181C, IL1 β G1473C, IL10 G-1082A, IL1 β T-511C, TNF α G-308A. Ген защиты от пневмокониоза - IL6 C-174G. Проведено генотипирование образцов геномной ДНК шахтеров, больных пневмокониозом, и лиц контрольной группы (практически здоровые без патологии легких) с помощью метода аллель-специфичной ПЦР (Real-time и электрофоретический). Объем проведенных ПЦР-исследований: генотипирование по локусам генов IL6 C-174G, IL1 β C3953T, OPG G1181C, IL1 β G1473C, IL10 G-1082A, IL1 β T-511C, TNF α G-308A – 582 пробы. Частоты мутантных аллелей, выявленные у шахтеров: IL6 174G – 44%, IL1 β 3953T–15%, OPG 1181C–37%, IL1 β 1473C–24%, IL10 1082A – 54%, IL1 β 511C – 85%, TNF α 308A – 14%. В группе контроля частоты мутантных аллелей IL6 174G – 51%, IL10 1082A – 57%, TNF α 308A – 46%. Сравнительный статистический анализ показал, что частоты рискованных аллелей по генам IL6 C-174G и IL10 G-1082A сравнимы ($p>0,05$), а по гену TNF α G-308A – достоверно различаются, так что мутантный аллель TNF α 308A в 3,3 раза реже встречался в обследованной выборке шахтеров с пневмокониозом, чем в контрольной группе ($p= 0,00118$, OR= 0,188), что свидетельствует об ассоциации этого гена с данным заболеванием.

4. ВЫВОДЫ

Созданная база данных по аутопсийным исследованиям у шахтеров основных профессий угольной промышленности Кузбасса, позволяет сделать выводы о патологических изменениях внутренних органов в данном исследовании и может служить базой для дальнейших исследований в области пылевой патологии.

1. По данным патоморфологического анализа аутопсийного материала, к основным морфологическим проявлениям антракосиликоза в дыхательной системе у шахтеров относятся утолщение и склероз МАП, формирование зон ателектазов с наличием пылевых гранул на поздних стадиях, уменьшение толщины эпителиальной выстилки, утолщение базальной мембраны и собственно мышечной пластинки бронхов, макрофагальное воспаление с кониофагами, выраженный диффузный перибронхиальный фиброз.
2. Патоморфологические изменения сердечно-сосудистой системы прогрессировали по мере увеличения стажа работ шахтеров: усиливались дистрофические изменения, манифестировала гипертрофия кардиомиоцитов, регистрировались очаги заместительного кардиосклероза. В интрамуральных сосудах сердца происходит утолщение стенки за счет гипертрофии гладкомышечных клеток, усиление выраженности фибропластической трансформации адвентиции.
3. Ремоделирование печени у шахтеров поздних стажевых групп обусловлено выраженными дистрофическими изменениями гепатоцитов (зернистая и жировая дистрофия, внутриклеточный холестаза), прогрессирующим фиброзированием портальных трактов и сосудов.
4. Патоморфологические изменения почек характеризуются увеличением площади клубочков по мере увеличения стажа работы шахтеров, их склерозированием, утолщением отдельных капиллярных петель за счет пролиферации мезангиальных клеток, выраженными дистрофическими изменениями нефроэпителия (преимущественно зернистой дистрофией), диффузно-очаговым фиброзом межканальцевых пространств. Сосуды всех калибров почек были с резко утолщенными стенками за счет гипертрофии медиального слоя и фиброза сосудистой стенки.
5. Структурные изменения головного мозга характеризуются умеренно выраженными дистрофическими и некробиотическими изменениями нервных клеток, нейронофагией, очаговым глиозом, неравномерно выраженным перваскулярным

отеком, полнокровием сосудов с утолщенными стенками за счет плазморрагии и гипертрофии мышечного слоя.

6. Изучение носительства и выявление защитных или рискованных гаплотипических/генотипических/ аллельных вариантов генов-кандидатов пневмокониоза необходимо при поиске новых маркеров индивидуальной предрасположенности к развитию этого профзаболевания для разработки диагностических средств раннего выявления или прогноза фибротических нарушений в легких шахтеров. Такой подход необходим для формирования групп риска по ПК и усиления профилактических мер в угледобывающих шахтах.

5. ПРИЛОЖЕНИЕ. Перечень публикаций

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Бондарев О.И., Кан С.Л., Филимонов С.Н. Морфофункциональное состояние системы эндотелия у работников угольной промышленности Кузбасса // Медицина в Кузбассе. 2022. №1. С. 25-32. DOI: 10.24412/2687-0053-2022-1-25-32.
2. Бондарев О.И., Бугаева М.С., Казицкая А.С. Основные патогенетические механизмы пневмосклеротических изменений в лёгких у работников угольной промышленности // Медицина труда и промышленная экология. 2022. Т. 62. № 3. С. 177-184. DOI: 10.31089/1026-9428-2022-62-3-177-184.
3. Бугаева М.С., Бондарев О.И., Горохова Л.Г., Кизиченко Н.В., Жданова Н.Н. Экспериментальное изучение специфичности развития морфологических изменений внутренних органов при длительном воздействии на организм угольно-породной пыли и фторида натрия // Медицина труда и промышленная экология. 2022. Т. 62. № 5. С. 285-294. DOI: 10.31089/1026-9428-2022-62-5-285-294.
4. Кан С.Л., Бондарев О.И., Косовских А.А., Лукашев К.В., Золоева О.С., Екимовских А.В., Борщикова Т.И., Макаров Д.Н. Компенсаторно-приспособительные механизмы изменения эндотелиальной системы у работников угольной промышленности Кузбасса (клинико-морфологические аспекты) // Медицина в Кузбассе. 2022. №3. С. 9-18. DOI: 10.24412/2687-0053-2022-3-9-18.
5. Бондарев О.И., Филимонов С.Н. Гистогенетические аспекты пневмофиброза при кониотических изменениях у шахтеров Кузбасса // Медицина в Кузбассе. 2022. №3. С. 54-60. DOI: 10.24412/2687-0053-2022-3-54-60.
6. Бондарев О.И., Мальцева Н.В., Сурков А.М., Бондарева И.А., Азаров П.А. Апоптотическая активность как пусковой механизм системного фиброза внутренних органов у шахтеров // Медицина в Кузбассе. 2022. №3. С. 111-114. DOI: 10.24412/2687-0053-2022-3-111-114.
7. Мальцева Н.В. Защитная роль антител при туберкулезе и ВИЧ-инфекции // Медицина в Кузбассе. 2022. №3. С. 106-110. DOI: 10.24412/2687-0053-2022-3-106-110.
8. Мальцева Н. В., Казанцева О. М. Генетически детерминированный тип ацетилирования изониазида и клиническое течение ко-инфекции ВИЧ/туберкулёз

// Фармакогенетика и Фармакогеномика. 2021. № 2. С. 12-13. DOI: 10.37489/2588-0527-2021-2-12-13.

9. Морозова О.А., Морозова А.В., Мальцева Н.В., Бичан Н.А. Новый подход к дифференциальной диагностике неалкогольной и алкогольной болезни печени // Медицина в Кузбассе. 2022. Т. 21. № 3. С.30-35. DOI: 10.24412/2687-0053-2022-3-30-35.

Публикации в других изданиях

1. Казанцева О.М., Мальцева Н.В. Связь полиморфизма G308A гена TNF α с количеством CD4-клеток при клиническом течении коинфекции ВИЧ и туберкулез. Кузнецкая крепость: сборник материалов Сибирского научно-практического форума, посвященного 95-летию юбилею НГИУВ – филиала / под ред. С.Л. Кана – Новокузнецк: НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 2022. – 144 с. 11-13 октября 2022г. Новокузнецк – 2022. С.48-50.
2. Казанцева О.М., Мальцева Н.В., Бондарев О.И. Изучение генетической предрасположенности к профессиональному диффузному пневмофиброзу у шахтеров Кузбасса при воздействии угольно-породной пыли. Кузнецкая крепость: сборник материалов Сибирского научно-практического форума, посвященного 95-летию юбилею НГИУВ – филиала / под ред. С.Л. Кана – Новокузнецк: НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 2022. – 144 с. 11-13 октября 2022г. Новокузнецк – 2022. С.50-51.
3. Мальцева Н.В., Казанцева О.М. Связь летальности с фенотипами ацетилирования у госпитализированных пациентов с коинфекцией ВИЧ/туберкулез. Кузнецкая крепость: сборник материалов Сибирского научно-практического форума, посвященного 95-летию юбилею НГИУВ – филиала / под ред. С.Л. Кана – Новокузнецк: НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 2022. – 144 с. 11-13 октября 2022г. Новокузнецк – 2022. С.80-81
4. Морозова А.В., Морозова О.А., Мальцева Н.В., Бичан Н.А. Дифференциально-диагностическое значение уровня сывороточного лептина при неалкогольной жировой и алкогольной болезни печени. Кузнецкая крепость: сборник материалов Сибирского научно-практического форума, посвященного 95-летию юбилею НГИУВ – филиала / под ред. С.Л. Кана – Новокузнецк: НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 2022. – 144 с. 11-13 октября 2022г. Новокузнецк – 2022. С.90-91

5. Бугаева М.С., Бондарев О.И. Особенности развития ранних морфологических изменений органов и тканей в условиях длительного воздействия на организм фторида натрия. В кн.: ЗОНТ: здоровье, образование, наука, технологии. Сборник тезисов Первого Всероссийского междисциплинарного конгресса по непрерывному профессиональному образованию работников здравоохранения (1-4 декабря 2022 г.). М.; 2022. С.14.
6. Бугаева М.С., Казицкая А.С. Экспериментальное изучение морфофункциональных показателей иммунной системы в динамике длительного воздействия на организм угольно-породной пыли. Сборник материалов III Всероссийского конгресса клинической медицины с международным участием им. С.С. Зимницкого (8-9 декабря 2022 г.). Казань; 2022. С. 17-20.
7. Бондарев О.И., Сурков А.М. Патоморфологические изменения легочной ткани как факторы риска развития клинических осложнений у работников угольной промышленности // Исследования. Инновации. Практика. 2022. С.5-11. DOI: 10.18411/iip-04-2022-01.
8. Мальцева Н.В., Казанцева О.М., Викторова И.Б., Архипова С.В. Способ прогноза срока дожития пациентов при клиническом течении инфекции ВИЧ и туберкулез, сопровождающемся множественной лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis*. Патент РФ 2764830 С1.