

2. Balakhonov A.V., Belov V.G., Pyatibrat E.D., Pyatibrat A.O. // Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. — 2009. — 3. — P. 57–65 (in Russian).

3. Gevandova M.G., Amlaev K.R. // Nauchnaya mysl' Kavkaza. — 2015. — 3. — P. 178–183 (in Russian).

4. Mukharyamova L.M., Mingazova D.R. // Kazan. med. Zhurn. — 2009. — 6. — P. 882–887 (in Russian).

5. Nettleton S., Burrous R., Watt I. // Soc. of Health and Illness. — 2008. — Vol. 30. — P. 333–348.

Поступила 22.02.2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Амлаев Карэн Робертович (Amlaev K.R.),

зав. каф. мед. профилактики, формирования ЗОЖ и эпидемиологии НИЗ СГМУ, проректор ГБОУ ВПО СтГМУ, д-р мед. наук, проф. E-mail: kum672002@mail.ru.

Гевандова Маргарита Грантовна (Gevandova M.G.),

доц. каф. биологии СГМУ, канд. мед. наук. E-mail: uchpro@stgmu.ru.

Дахкильгова Хава Тагировна (Dakhkilgova K.T.),

ас. каф. мед. профилактики, формирования ЗОЖ и эпидемиологии НИЗ СГМУ. E-mail: hava.dahkilgova@gmail.com.

УДК 616–057: 612.017.1

Захаренков В.В.¹, Казицкая А.С.¹, Михайлова Н.Н.^{1,2}, Романенко Д.В.^{1,2}, Жданова Н.Н.¹, Жукова А.Г.^{1,2}

ВЛИЯНИЕ ВРЕДНЫХ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ НА ИММУННЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА

¹ФГБНУ НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний, ул. Кутузова, 23, г. Новокузнецк, РФ, 654041;

²ФГБОУ ВО Новокузнецкий институт (филиал) Кемеровского государственного университета, ул. Циолковского, 23, г. Новокузнецк, РФ, 654041

В эксперименте изучены особенности иммунной реактивности организма на длительное действие производственных факторов — угольно-породной пыли (УПП) и соединений фтора. Показано, что вдыхание УПП приводит на ранних сроках к активации элементов срочной адаптации, а к 6 неделе эксперимента — к хронизации воспалительного процесса. Избыток фтора, в силу его высокой реакционной способности, оказывает, прежде всего, токсическое действие, вызывает раннюю экспрессию провоспалительных цитокинов и отсроченный противовоспалительный иммунный ответ. Выявлены основные иммунологические маркеры риска развития антракосиликоза и флюороза.

Ключевые слова: иммунитет; цитокины; иммуноглобулины; антракосиликоз; флюороз

Zakharenkov V.V.¹, Kazitskaya A.S.¹, Mikhailova N.N.^{1,2}, Romanenko D.V.^{1,2}, Zhdanova N.N.¹, Zhukova A.G.^{1,2}

Influence of occupational hazards on human immune state. ¹Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, 23, Kutuzova str., Novokuznetsk, Russian Federation, 654041; ²Novokuznetsk branch of Kemerovo State University, 23, Tsiolkovskogo str., Novokuznetsk, Russian Federation, 654041

Experiments helped to study features of human immune reactivity to long action of occupational hazards — coal stock dust and fluorine compounds. Findings are that coal stock dust inhalation causes activation of urgent adaptation elements at early stage, but by 6th week of the experiment — chronization of inflammatory process. Fluorine excess, due to its high reactivity, causes mostly toxic effects, early expression of anti-inflammatory cytokines and delayed anti-inflammatory immune response. Main immunologic markers of anthracosilicosis and fluorosis development risk are revealed.

Key words: immunity; cytokines; immune globulines; anthracosilicosis; fluorosis

Иммунная система играет ключевую роль в сохранении здоровья и адаптации человека к неблагоприятным факторам окружающей и производственной среды. В литературе достаточно широко представлены данные о функциональном состоянии различных звеньев иммунной системы при длительном действии на организм вредных производственных факторов и, как следствие, развитии профессиональных заболеваний, таких как: антракосиликоз, хронический пылевой

бронхит, флюороз [4,5]. Вместе с тем остаются нерешенными многие вопросы, связанные с оценкой значимости иммунологических сдвигов при воздействии негативных производственных факторов. Немногочисленны и противоречивы исследования, посвященные оценке состояния иммунной системы на ранних стадиях развития профпатологии; недостаточно ясно, какие реакции со стороны иммунной системы являются компенсаторными, направленными на поддержание

гомеостаза, а какие свидетельствуют о повреждении механизмов иммунной защиты.

Между тем, знания по очерченному кругу вопросов дают возможность управлять процессами иммунной защиты, особенно в условиях дополнительной антигенной нагрузки, использовать раскрытые закономерности иммунного ответа для профилактики и коррекции различных патологических состояний.

Цель работы — экспериментальное изучение особенностей иммунной реактивности организма на длительное действие производственных факторов (УПП и фторид натрия), а также выявление иммунологических маркеров риска развития антракосиликоза и флюороза.

Материалы и методики. Эксперименты проведены на 200 взрослых белых лабораторных крысах-самцах массой 200–250 г, выращенных в стандартных условиях сертифицированного вивария. Содержание животных и эксперименты проводились в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals».

Иммунные изменения организма изучались на двух группах животных. В первую группу входили крысы, которым моделировали экспериментальный антракосиликоз (ЭАС) способом ингаляционной затравки в специальных камерах с УПП, средней концентрации — 50 мг/м³, по 4 часа ежедневно в течение 12 недель [3]. Второй группе моделировался экспериментальный флюороз (ЭФ) свободным доступом в течение 12 недель с помощью раствора фтористого натрия концентрацией 10 мг/л [7]. Для каждой модели были свои группы сравнения (контроль). Забор биологического материала (кровь из хвостовой вены) осуществлялся на 1, 3, 6, 9 и 12 неделях эксперимента. Данные сроки ассоциируются с определенной стажированностью рабочих во вредных производственных условиях [3].

Использовались общепринятые стандартные методики биохимических исследований. Спектр показателей включал определение в плазме крови уровня белков острой фазы воспаления (БОФВ): церулоплазмина (Ср) и гаптоглобина (Нр) иммунотурбидиметрическим методом с помощью наборов «Cерuloplasmin» и «Нартоglobin» («Spinreact», Испания); цитокинов: TNF- α , IFN- γ , IL-1, 2, 6, 4, 10 и сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) иммуноферментным анализом с помощью наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск); уровня кортикостерона иммуноферментным анализом (DVC, США); общего количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ Statistica 6.0. Для сравнения независимых выборок использовался непараметрический Mann-Whitney U Test. Различия между выборками считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Результаты эксперимента в таблице и на рисунке представлены в виде медианы.

Результаты исследования и их обсуждение. Важным направлением в изучении иммунологических изменений в динамике развития профессиональной патологии является выявление роли цитокинов как медиаторов межклеточных взаимодействий [6]. Цитокины осуществляют взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом, действуя в обоих направлениях. Примером цитокиновой регуляции специфического иммунитета служит дифференцировка и поддержание баланса между Т-лимфоцитами хелперами 1- и 2-го типа (Th1 и Th2) [9]. Ключевыми цитокинами, продуцируемыми Th1, являются провоспалительные IL-2 и IFN- γ , а также медиаторы, вызывающие разрушение тканей: IL-1, IL-6 и TNF- α . В свою очередь Th2-лимфоциты продуцируют противовоспалительные IL-4 и IL-10, способствующие восстановлению тканей и сдерживанию воспалительных процессов. Кроме того, система цитокинов находится в тесной связи с эндокринной, в частности оказывает влияние на синтез глюкокортикоидных гормонов, которые подавляют дифференцировку и секреторную активность Th1 и, наоборот, стимулируют дифференцировку и синтез цитокинов Th2 [8]. Поэтому были рассмотрены взаимоотношения цитокинов с кортикостероном и их роль в реализации иммунного ответа в динамике развития ЭАС и ЭФ.

ЭАС. На 1-й неделе затравки крыс УПП наблюдалось двукратное увеличение IL-4; уровень остальных исследуемых цитокинов сохранялся в пределах контрольных значений. На этом фоне отмечалось снижение соотношения IL-2/IL-4 в 3 раза по сравнению с контролем, что свидетельствовало об активации Th2-лимфоцитов, опосредующих в дальнейшем реакции гуморального иммунитета. К 3-й неделе эксперимента происходила активация гуморального звена в виде повышения уровня всех классов иммуноглобулинов. Наибольшее увеличение было отмечено со стороны IgA, выступающего в качестве первой линии защиты от повреждающего воздействия. Активация гуморального звена происходила на фоне повышения в сыворотке крови концентрации БОФВ (Ср и Нр), что свидетельствовало о развитии воспалительного процесса в ответ на продолжающееся действие УПП. С другой стороны, Ср и Нр составляют важную часть неспецифической защиты организма, играют большую роль в репарации тканей, проявляя антиоксидантные свойства [1].

Регулирующее влияние на иммунный ответ оказал кортикостерон (рис.). На начальных сроках эксперимента его концентрация в плазме крови повышалась и запускала срочные компенсаторные механизмы. На 3-й неделе ЭАС происходило подавление секреции провоспалительных цитокинов — IL-1 β и IL-6. На этом фоне повышался уровень IFN- γ и его антагониста по функциональным свойствам IL-4, свидетельствуя об активации как Th2-, так и Th1-лимфоцитов, что очень важно для развития полноценного иммунного ответа.

Диагностические иммунологические маркеры риска развития антракосиликоза и флюороза (на основе экспериментальных исследований)

Длительность воздействия	Антракосиликоз	Флюороз
1–3 недели	↑Ig ↑БОФВ ↑ГКГ ↑IL-4, INF-γ ↓IL-1β, IL-6	<u>1 неделя:</u> ↑лейкоциты, TNF-α, Ср ↓IL-10, ГКГ <u>3 недели:</u> ↑лейкоциты, IL-10 ↓IL-4, IL-1β, ГКГ
6 недель	↑лейкоциты, Нр ↑IgM, IgG, IL-2, INF-γ, IL-6 ↓IgA, IL-10	↑лейкоциты, нейтрофилы ↑TNF-α, IL-6, IL-10 ↓IL-4, IL-1β, Ср
12 недель	↓Ig ↑лейкоциты, IL-2, INF-γ, IL-6	↓IgA, IgG ↑лимфоциты, Нр

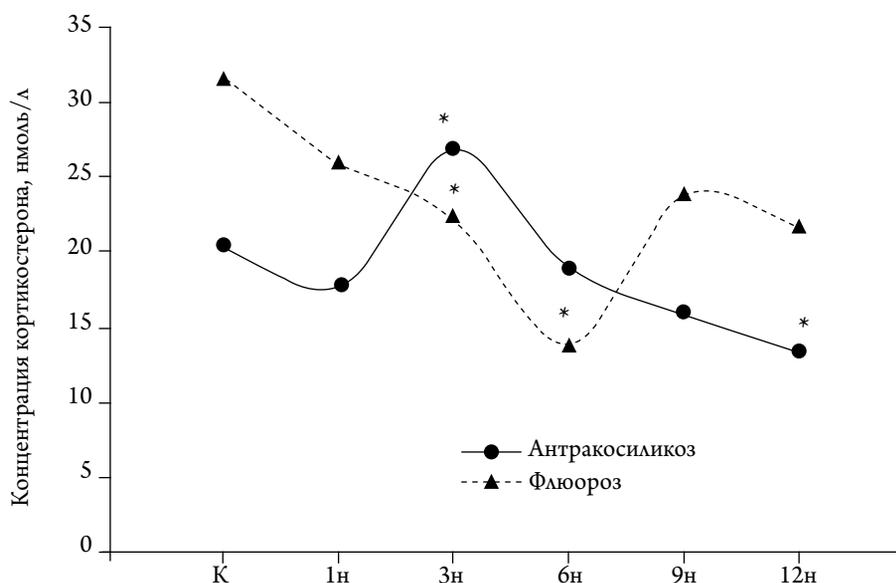


Рис. Изменение уровня кортикостерона в плазме крови крыс в динамике экспериментальных антракосиликоза и флюороза

Примечания: по оси ординат — нмоль/л, по оси абсцисс — К — контроль; 1 н — 1 неделя эксперимента; 3 н — 3 недели; 6 н — 6 недель, 9 н — 9 недель; 12 н — 12 недель; * — достоверность отличий ($p < 0,05$) по сравнению с контролем

Увеличение сроков ингаляционного воздействия до 6 недель привело к нарушению в системе иммунорегуляции, сдвигу равновесия между Th1- и Th2-лимфоцитами и хронизации воспалительного процесса. Об этом свидетельствовало подавление продукции IL-4 и IL-10 на фоне повышенного синтеза медиаторов воспаления IL-2 и IL-6, а также усиление экспрессии INF-γ, способного подавлять активность Th2, направляя развитие иммунного ответа по клеточному типу. Подтверждением этому явилось повышение общего количества лейкоцитов, высокие уровни Нр и IgM на фоне почти двукратного снижения концентрации сывороточного IgA. Данные позволяют говорить о том, что 6-ая неделя эксперимента явилась переходной стадией между

физиологическим и иммунодефицитным состоянием организма.

12-я неделя ЭАС характеризовалась развернутой картиной иммунной недостаточности. Снижение уровня IgA и IgG в 1,5 раза, усиление секреции INF-γ и IL-2 на фоне низкого уровня кортикостерона (рис.) и высокого содержания лейкоцитов свидетельствовало о преобладании Th-1 и хронизации воспалительного процесса.

Флюороз. Принципиально иным иммунным ответом отличается развитие ЭФ. На 1-ой неделе наблюдалось увеличение количества лейкоцитов в 1,5 раза по сравнению с контролем. Анализ лейкоцитарной формулы показал достоверное увеличение моноцитов, участвующих в презентации антигена лимфоцитам, формиро-

вании и регуляции иммунного ответа. Наблюдалось достоверное повышение ключевого медиатора иммунного ответа — TNF- α , способность которого к индукции синтеза белков острой фазы привела к достоверному повышению концентрации антиоксидантного белка Ср, что следует рассматривать как защитную реакцию организма, направленную на предупреждение развития «окислительного стресса». Поскольку TNF- α вовлечен не только в эффекторное, но и в регуляторное звено иммунной реактивности организма, до конца эксперимента его концентрация в крови оставалась достаточно высокой. Повышение TNF- α коррелировало со снижением уровня IL-10, являющегося важнейшим цитокиновым регулятором, во многом определяющим направленность иммунного ответа.

Третья неделя фтористой агрессии характеризовалась снижением концентрации TNF- α и Ср до контрольных значений, достоверно высоким содержанием лейкоцитов, угнетением в 2,5 раза синтеза IL-1 β на фоне увеличения концентрации IL-10, являющегося самым мощным ингибитором IL-1 β .

Продолжение фтористой интоксикации и аккумуляция фтора в организме постепенно трансформировали физиологический ответ организма в патологический. Переходный период начинался с 6-ой недели и запускался воспалительным процессом, развитие которого подтверждается достоверным повышением уровня нейтрофилов, TNF- α и IL-6. Показано, что IL-6 как маркер активности воспаления имеет двойственную природу. При остром воспалении данный интерлейкин в синергизме с другими цитокинами (IL-1 β и TNF- α) необходим для индукции острофазового ответа. При переходе воспаления в хроническую форму IL-6 начинает проявлять иммунорегулирующие свойства, способствуя активации и пролиферации Т-лимфоцитов, а также синтезу антител плазматическими клетками [2,9]. Индукция острофазовых белков является ключевым эндокринным действием IL-6 — достоверное повышение его уровня на 6-й неделе эксперимента обеспечило синтез к 9-ой неделе основного БОФВ — Нр, что на поздних сроках является признаком неблагоприятного течения болезни. Шестинедельная интоксикация фтором привела к неоднозначной динамике противовоспалительных цитокинов; на фоне дальнейшего повышения концентрации IL-10 происходило снижение IL-4 и угнетение синтеза провоспалительного IL-1 β .

Изменение статуса иммунной системы организма животных на поздних сроках эксперимента (9–12 недель), свидетельствовало о развитии иммунодефицитного состояния и трансформации заболевания в хроническую форму, характеризующуюся системным проявлением. Подтверждением тому явилось достоверное снижение концентрации сывороточных иммуноглобулинов IgA и IgG и повышение количества лимфоцитов.

Ранее на экспериментальных моделях антракосиликоза и флюороза было показано, что, независимо от вида повреждающего фактора, внутриклеточ-

ные механизмы активации иммунного ответа являются универсальными. Так, начальные стадии ЭАС и ЭФ характеризовались экспрессией HIF-1 α (hypoxia inducible factor) — фактора транскрипции, активирующего синтез внутриклеточных защитных белков повышением уровня антистрессового белка теплового шока — HSC73 и специфического «антигипоксического» белка — HOx-2. Экспрессия данных белков на ранних сроках ЭАС и ЭФ приводит к повышению устойчивости организма к широкому кругу цитотоксических факторов. Так, HSC73 стимулирует синтез провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1 β и IL-6, а HOx-2 снижает уровень этих цитокинов, но индуцирует рост противовоспалительного IL-10 [10,11]. Таким образом, экспрессия HIF-1 α и активный синтез защитных белков HSP73 и HOx-2 играют сигнальную роль в запуске иммунного ответа, дальнейшее развитие которого имеет уже специфический характер в зависимости от вида и длительности негативного воздействия (таб.).

Выводы:

1. Вдыхание УПП приводило на ранних сроках к запуску гуморального звена иммунитета; к 3-й неделе наблюдалось развитие воспалительного процесса на фоне сохраняющегося баланса между субпопуляциями Т-лимфоцитов, обеспечивающего полноценное развитие иммунного ответа. Шестинедельное воздействие УПП характеризовалось нарушением в системе иммунорегуляции, сдвигом в сторону Th-1. На 12-ой неделе эксперимента отмечалась иммунная недостаточность, преобладание Th-1, хронизация воспалительного процесса с выраженным проявлением антракосиликоза.

2. Начальные сроки развития ЭФ в отличие от ЭАС характеризовались активацией клеточного иммунитета с последующим запуском цитокинового каскада и преобладанием Th-1. Преобладание клеточного иммунного ответа развивалось на фоне снижения уровня кортикостерона. На 6-ой неделе отмечалось острофазовое воспаление, а к 12-ой неделе — иммунодефицитное состояние, которое развивалось, практически минуя фазу адаптации, что имеет диагностическое значение для оценки развития патологического процесса.

3. Изучение иммунологических показателей и иммунного статуса организма в динамике развития ЭАС и ЭФ позволило выявить маркеры оценки развития патологического процесса. Вдыхание УПП приводит на ранних сроках к активации элементов срочной адаптации, а к 6 неделе эксперимента — к хронизации воспалительного процесса. Избыток фтора, в силу его более высокой реакционной способности, оказывает, прежде всего, токсическое действие, вызывает раннюю экспрессию провоспалительных цитокинов и отсроченный противовоспалительный иммунный ответ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (см. REFERENCES стр. 10, 11)

1. Величковский Б.Т. // Вестн. РАМН. — 2001. — №6. — С. 45–52.

2. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А. // Патол. физиол. — 2013. — №3. — С. 3–14.

3. Захаренков В.В., Михайлова Н.Н., Горохова Л.Г. и др. // Способ моделирования антракосиликоза. — Патент № 2534872 от 07.10.2014 г.

4. Измеров Н.Ф., Бухтияров И.В., Прокопенко Л.В. и др. // Мед. труда и пром. экология. — 2012. — №11. — С. 1–7.

5. Косарев В.В., Жестков А.В., Бабанов С.А. и др. // Мед. труда и пром. экология. — 2012. — №9. — С. 22–27.

6. Михайлова Н.Н., Сазонтова Т.Г., Алехина Д.А. и др. // Цитокины и воспаление. — 2013. — №4. — С. 71–76.

7. Михайлова Н.Н., Уланова Н.Н., Фоменко Д.В. и др. // Способ профилактики хронической фтористой остеопатии при моделировании фтористой интоксикации в эксперименте. — Патент № 2300374 от 10.06.2007 г.

8. Оськина И.Н., Гербек Ю.Э., Шихевич С.Г. и др. // Вестн. ВОГиС. — 2008. — Т. 12, №1/2. — С. 39–49.

9. Симбирцев А.С. // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, №2. — С. 16–22.

REFERENCES

1. Velichkovskiy B.T. // Vestnik RAMN. — 2001. — 6. — P. 45–52 (in Russian).

2. Gusev E.Yu., Chereshev V.A. // Patol. Fiziol. — 2013. — 3. — P. 3–14 (in Russian).

3. Zakharenkov V.V., Mikhaylova N.N., Gorokhova L.G. et al. // Method of anthracosilicosis modelling. — Patent № 2534872 on 07.10.2014 (in Russian).

4. Izmerov N.F., Bukhtiyarov I.V., Prokopenko L.V. et al. // Industr. med. — 2012. — 11. — P. 1–7 (in Russian).

5. Kosarev V.V., Zhestkov A.V., Babanov S.A. et al. // Industr. med. — 2012. — 9. — P. 22–27 (in Russian).

6. Mikhaylova N.N., Sazontova T.G., Alekhina D.A. et al. // Tsitokiny i vospalenie. — 2013. — 4. — P. 71–76 (in Russian).

7. Mikhaylova N.N., Ulanova N.N., Fomenko D.V. et al. // Method of prevention of chronic fluorine osteopathy during

experimental fluorine intoxication modelling. — Patent № 2300374 on 10.06.2007 (in Russian).

8. Os'kina I.N., Gerbek Yu.E., Shikhevich S.G. et al. // Vestnik VOGiS. — 2008. — Vol. 12. — 1/2. — P. 39–49 (in Russian).

9. Simbirtsev A.S. Tsitokiny i vospalenie, 2004; vol 3; 2: 16–22 (in Russian)

10. Zhukova A.G., Alekhina D.A., Sazontova T.G. et al. // Bull. Exp. Biol. Med. — 2013. — 156 (2). P. 224–227.

11. Zakharenkov V.V., Mikhaylova N.N., Zhdanova N.N. et al. // Bull. Exp. Biol. Med. — 2015. — 159 (4). — P. 431–434.

Поступила 02.02.2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Захаренков Василий Васильевич (Zakharenkov V.V.),
дир. ФГБНУ «НИИ КПГПЗ», д-р мед. наук, проф.

Казицкая Анастасия Сергеевна (Kazitskaya A.S.),
науч. сотр. лаб. популяционной генетики ФГБНУ «НИИ
КПГПЗ».

Михайлова Надежда Николаевна (Mikhaylova N.N.),
зав. лаб. эксп. гигиенич. иссл. ФГБНУ «НИИ
КПГПЗ», зав. каф. естественнонаучных дисц. ФГБОУ
ВО НФИ КемГУ, д-р биол. наук, проф. E-mail: nar-
mih@mail.ru

Романенко Диана Валерьевна (Romanenko D.V.),
ст. науч. сотр. лаб. эксп. гигиенич. иссл. ФГБНУ «НИИ
КПГПЗ», доц. каф. естественнонаучных дисц. ФГБОУ ВО
НФИ КемГУ, канд. биол. наук.

Жданова Наталья Николаевна (Zhdanova N.N.),
асп. лаб. эксп. гигиенич. иссл. ФГБНУ «НИИ КПГПЗ».

Жукова Анна Геннадьевна (Zhukova A.G.),
вед. науч. сотр. лаб. эксп. гигиенич. иссл. ФГБНУ «НИИ
КПГПЗ», проф. каф. естественнонаучных дисц. ФГБОУ
ВО НФИ КемГУ, д-р биол. наук.

УДК 613.6

Головкова Н.П., Лескина Л.М., Хелковский-Сергеев Н.А., Николаев С.П.

ОЦЕНКА И УПРАВЛЕНИЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМ РИСКОМ НАРУШЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ РАБОТНИКОВ ОСКОЛЬСКОГО ЭЛЕКТРОМЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО КОМБИНАТА

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова», пр-т Буденного, 31, Москва, РФ, 105275

Представлены результаты априорной и апостериорной оценки профессионального риска на основании эпидемиологического исследования состояния здоровья работников электросталеплавильного цеха Оскольского электрометаллургического комбината по результатам периодических медицинских осмотров с использованием медицинской информационной системы для совершенствования системы управления профессиональными рисками.

Ключевые слова: электросталеплавильное производство; априорная и апостериорная оценка; профессиональный риск; условия труда; хронические общесоматические заболевания; состояние здоровья работающих