

Г.М. Бодиевская, Е.В. Боклаженко, Е.В. Катаманова

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ АУТОАНТИТЕЛ В РАЗВИТИИ НЕЙРОИНТОКСИКАЦИИ ПАРАМИ МЕТАЛЛИЧЕСКОЙ РТУТИ**Ангарский филиал ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека (Ангарск)**

Проведено изучение изменений в содержании аутоантител к антигенам из нервной ткани у работающих в контакте с металлической ртутью, пациентов с ртутной интоксикацией на разных стадиях патологического процесса. Незначительное повышение концентраций ауто-АТ к белку S-100 у «практически» здоровых работающих расценивается как защитный физиологический механизм. Воздействие ртути на организм работающих способствует изменению аутоиммунных реакций, характеризующихся повышением содержания в сыворотке крови АТ к мозгоспецифическим белкам. Снижение уровней АТ у пациентов с ХРИ в отдаленном периоде и нарастание тяжести патологического процесса свидетельствует о дисрегуляции в системе иммунитета. Установлено, что увеличение аутоАТ к МАГ характерно только для пациентов с ХРИ, при этом у пациентов преобладанием когнитивных нарушений были выявлены более высокие уровни аутоАТ относительно пациентов с преобладанием астенических расстройств. У здоровых работающих и лиц «группы риска» концентрация аутоАТ к МАГ находилась на уровне контрольных значений. Повышенные уровни ауто-АТ к МАГ свидетельствуют о формировании нейродегенеративных изменений и являются одним из диагностических критериев.

Ключевые слова: хроническая ртутная интоксикация, аутоантитела к антигенам из нервной ткани, работающие

CLINICAL VALUE OF REGULATORY AUTOANTIBODIES IN DEVELOPMENT OF NEUROINTOXICATION WITH METALLIC MERCURY VAPOURS

G.M. Bodienkova, E.V. Boklazhenko, E.V. Katamanova

Institute of Occupational Health & Human Ecology ESSC HE SB RAMS, Angarsk

We studied the changes in content of the autoantibodies to the antigens from nervous tissue was performed in the employees contacting with metallic mercury, in the patients with the mercury intoxication at the different stages of the pathological process. It was found that small increase of concentrations of the autoantibodies to the protein S-100 in the "practically" healthy employees may be considered as the protective physiological mechanism. Influence of the mercury on the employees' organisms promotes the change of autoimmune reactions that are characterized by the increase of content of antibodies to the brain-specific proteins in blood serum. The decrease of the antibody levels in patients with chronic mercury intoxication in remote period and the increase of severity of pathological process testifies to the dysregulation in the immune system. It was determined that the increase of autoantibodies to MAG was typical only for the patients with chronic mercury intoxication (CMI), thereby, higher levels of autoantibodies were observed in the patients with more dominated cognitive disorders in comparison with the patients with more dominated asthenic disorders. In healthy employees and the ones of "risk group" concentrations of autoantibodies to MAG were at the level of control. Increased levels of autoantibodies to MAG testify to the formation of neurodegenerative changes and are one of the diagnostic criteria.

Key words: chronic mercury intoxication, autoantibodies to antigens of nervous tissue, employees

В настоящее время проблема токсических поражений нервной системы парами металлической ртути актуальна для медицины труда, профессиональной патологии и экологии человека в целом. Это обусловлено широким контактом работающих в химической промышленности и людей в бытовой сфере с ртутью. В клинических исследованиях и в экспериментах на животных показано, что присутствие даже малых концентраций ртути в организме может сопровождаться патологическими изменениями в органах и тканях и вызывать изменения иммунологических и биохимических процессов [2].

Развитие патологических изменений в нервной системе сопровождается локальными изменениями интенсивности процессов апоптоза/регенерации, что сопровождается, на начальных этапах, адаптивной реакцией иммунной системы в виде изменений продукции ауто-АТ соответствующей специфичности [4]. Поэтому необходим поиск

иммунологических маркеров, которые могли бы стать адекватными свидетелями наличия и степени выраженности патологических процессов в нервной системе у работающих с нейротоксикантами.

Цель настоящего исследования состояла в изучении роли сывороточных нейротропных ауто-АТ в развитии нейроинтоксикации парами металлической ртути в зависимости от стадии развития патологического процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено лабораторно-иммунологическое обследование 108 мужчин, работающих в условиях воздействия ртути. В том числе, 63 человека — «группа риска», или группа стажированных работающих. Критерием включения в данную группу был стаж работы в контакте с ртутью более 5 лет и (или) наличие выявленных в ходе медицинского осмотра и углубленного обследования в клинике института

изменений в психоэмоциональной сфере и (или) неврологических расстройств, которые могли быть следствием воздействия ртути на организм. Клиническая картина психоневрологических нарушений была представлена 4 основными синдромами. Синдром вегетативной дистонии (СВД) диагностирован в $42,9 \pm 7,2$ % случаев. Проявлениями СВД были кардиоваскулярные и периферические вегетативные нарушения, расстройства терморегуляции, гипервентеляционные нарушения, явления тетании. Астенический синдром различной степени выраженности выявлен у 52,4 % лиц данной группы. Дрожательный гиперкинез диагностирован в 12,7 % случаев. Дисциркуляторная энцефалопатия (9,5 % случаев) была обусловлена наличием артериальной гипертензии и сахарным диабетом. Средний возраст обследованных составил $45,2 \pm 0,9$ лет, средний стаж — $17,8 \pm 0,9$ лет. Также обследованы 9 пациентов с начальными проявлениями хронической ртутной интоксикации (возраст — $45,8 \pm 2,9$ лет, стаж — $15,7 \pm 1,7$ лет), для которых были характерны признаки функционального расстройства нервной системы, индуцированные воздействием ртути, и 36 пациентов в отдаленном периоде профессиональной хронической ртутной интоксикации. В клинической картине пациентов указанной группы (возраст — $49,2 \pm 1,2$ лет, стаж — $14,7 \pm 1,1$ лет) доминирует органическое поражение нервной системы (токсическая энцефалопатия). Характер патологии мозга верифицировали в клинике института с помощью компьютерной или магнитно-резонансной топографии, ультразвуковой доплерографии, электроэнцефалографии (ЭЭГ) и других методов исследования. Регистрацию ЭЭГ, зрительных вызванных потенциалов проводили на базе электроэнцефалографа DX-NT 32. V 19 (производитель «DX-Complexes» LTD, г. Харьков) по стандартной методике. В качестве стимула использовали световую вспышку от газоразрядной импульсной лампы с длиной волны 640 нм, с подачей стимула монокулярно при закрытых глазах пациента. Эпоха анализа — 500 мс, число усреднений — 100. Контрольную группу «условно» здоровых мужчин в количестве 47 человек составили лица репрезентативного возраста и общего трудового стажа, не имеющие в профессиональном маршруте контакта с веществами нейротоксического действия.

Из венозной крови обследуемых, взятой утром до приема пищи, выделяли сыворотку методом центрифугирования при комнатной температуре. Для выявления специфических иммунных изменений, отражающих состояние клеток нервной системы, определяли уровни аутоантител к MAG с использованием стандартного твердофазного иммуноферментного метода с помощью тест-систем фирмы BUHLMANN (Швеция) (кат. № 0004542, лот № 2954). Также определяли уровни антител к мозгоспецифическим белкам (МСБ), к белку S-100 с использованием стандартных тест-систем производства «Сибмедприбор» (г. Новосибирск). Эти методы основаны на твердофазном иммунофер-

ментном анализе и позволяют выявлять аномалии в сывороточном содержании маркерных ауто-АТ определенной антигенной специфичности. Результаты ИФА учитывали фотометрически, используя коэффициент $K = D_o / D_k$, где D_o , D_k — величины оптической плотности продукта. Работа выполнена с учетом требований Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации и была одобрена комитетом по биомедицинской этике ВСНЦ СО РАМН.

В работе использовали общепринятые методы вариационной статистики. Обработка результатов исследования проводилась на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows» v. 6.0 (Stat-Soft Inc., США) (правообладатель лицензии — Ангарский филиал ВСНЦ ЭЧ СО РАМН). Определяли нормальность распределения количественных признаков. Для полученных данных рассчитывали среднее арифметическое значение (M) и его ошибку (m), достоверность различий средних оценивали с использованием критерия Стьюдента (при нормальном распределении). В случае отсутствия правильного распределения использовали непараметрические методы с помощью критерия Уилкоксона — Манна — Уитни с указанием средних величин и стандартного отклонения, с учетом поправки Бонферонни. Для оценки взаимосвязи количественных признаков применяли коэффициенты корреляции Спирмана. Для суждения о достоверности различий встречаемости качественных признаков применяли метод Фишера для малых выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования у здоровых работающих и лиц «группы риска» (в $48,0 \pm 6,5$ и $45,7 \pm 8,4$ % соответственно) выявлены достоверно повышенные уровни аутоантител к МСБ относительно работающих вне контакта с нейротоксикантами ($6,4 \pm 3,5$ %; $p \leq 0,005$). Высокие концентрации антител в $34,3 \pm 8,0$ % случаев к белку S-100 зарегистрированы в группе стажированных рабочих и у $21,9 \pm 2,1$ % здоровых рабочих (в контроле — $2,1$ %; $p < 0,05$). Анализируя средние значения показателей в обследуемых группах, следует также отметить достоверное возрастание уровней аутоантител к МСБ и белку S-100 у здоровых работающих и лиц «группы риска» относительно контроля. Так, средние значения указанных показателей у стажированных работающих были достоверно выше и составили, соответственно, $1,75 \pm 0,97$ и $1,59 \pm 0,64$ усл. ед. относительно группы здоровых работающих ($1,35 \pm 0,13$ и $1,37 \pm 0,06$ усл. ед.) и группы сравнения ($1,08 \pm 0,09$ и $1,06 \pm 0,32$ усл. ед.).

Заслуживают внимания сведения о том, что у работающих с впервые установленным диагнозом хронической ртутной интоксикации отмечена выраженная тенденция к возрастанию средних уровней аутоантител к белку S-100 до $2,01 \pm 0,75$ усл. ед. При усугублении тяжести патологического процесса и развитии хронической ртутной интоксикации

2–3-й степени у обследованных выявлено достоверное снижение всех изучаемых нами уровней аутоантител относительно группы контроля. Концентрация антител к МСБ составила $1,42 \pm 0,1$ усл. ед., к белку S-100 — $1,13 \pm 0,07$ усл. ед.

Что касается аутоантител к миелин-ассоциированному гликопротеину (анти-MAG), то у рабочих «группы риска» средний уровень аутоантител к MAG достоверно не отличался от аналогичного показателя у здоровых рабочих ($340,83 \pm 15,94$ и $366,5 \pm 8,91$ ВТУ соответственно), в то время как у больных с хронической ртутной интоксикацией концентрация аутоантител к MAG достоверно возросла до $589,06 \pm 62,52$ ВТУ относительно «группы риска» и здоровых работающих ($p \leq 0,05–0,01$). Следует отметить, что средние значения показателя у пациентов с преобладанием астенических расстройств и больных с преобладанием когнитивных нарушений достоверно различались как между собой ($451,7 \pm 33,63$ и $596,7 \pm 118,11$ ВТУ соответственно; $p \leq 0,05$), так и относительно «группы риска» и группы здоровых работающих. Заслуживает внимания тот факт, что у больных с хронической ртутной интоксикацией с преобладанием когнитивных нарушений среднее значение показателя антител к MAG было достоверно выше, чем в группе больных с преобладанием астенических расстройств. MAG принадлежит к молекулам клеточной адгезии и экспрессируется на олигодендроглиоцитах и шванновских клетках. Он является медиатором взаимодействий олигодендроглиоцитов между собой и с нейронами. При миелинизации аксонов он также обнаруживается на их внешних поверхностях и прилежащих поверхностях клеток, формирующих миелин [1], в связи с чем есть основание считать, что определение уровней аутоантител к MAG может являться одним из информативных показателей выраженности аутоиммунных процессов у пациентов с хронической ртутной интоксикацией.

Полученные в наших исследованиях данные могут свидетельствовать о том, что повышение концентрации аутоантител у здоровых работающих под действием нейротоксикантов при отсутствии патологических изменений является защитным фи-

зиологическим механизмом, и лишь уровень ауто-сенсibilизации, когда собственная нервная ткань становится мишенью для «агрессивных иммунных клеток», свидетельствует об участии антимонозговых антител в формировании поражений ЦНС.

На следующем этапе наших исследований предпринята попытка выявить взаимосвязь между уровнем аутоантител к белку S-100 и показателями, характеризующими нарушение когнитивной функции у больных с хронической ртутной интоксикацией (табл. 1). При анализе показателя латентности зрительного коркового ответа у пациентов с хронической ртутной интоксикацией выявлено затягивание времени начала ответа, латентности P200 и окончания ответа относительно контрольных значений. Эти изменения были более выраженными в группе пациентов, у которых регистрировались высокие уровни антител к белку S-100. Выявлено достоверное удлинение латентности основного пика N1 до $351,4 \pm 148,3$ и P2 до $454,6 \pm 106,2$ мс против $151,3 \pm 107,3$ и $325,7 \pm 89,7$ мс у пациентов с нормальными уровнями антител к S-100. Изменение параметров зрительных вызванных потенциалов отражает задержку ответа в группе больных с повышенными уровнями аутоантител к белку S-100.

Регистрируемые вызванные потенциалы на вспышку света характеризуют различные свойства систем мозга и позволяют оценить процессы высшей нервной деятельности, связанные с активирующими и тормозными влияниями на кору со стороны ретикулярной формации мозга. Изменения зрительных вызванных потенциалов у больных хронической ртутной интоксикацией подтверждают нарушение активирующего влияния ретикулярной формации на стволовые образования и таламус, что в свою очередь вызывает нарушения таламических связей с корково-подкорковыми образованиями мозга. Клинически изменения активности ретикулярной формации проявляются в ослаблении внимания, памяти, восприятия, нарушениях в сфере мотивации [3].

Подтверждением полученных результатов могут служить данные корреляционного анализа между уровнями аутоантител к белку S-100 и временем ответа регистрируемых зрительных вы-

Таблица 1
Средние показатели латентности основных пиков зрительных вызванных потенциалов у пациентов с хронической ртутной интоксикацией в отдаленном периоде в зависимости от уровней антител к S-100 ($M \pm SD$)

Показатели	Больные хронической ртутной интоксикацией ($n = 36$) с уровнями антител к S-100	
Латентность (мс) ЗВП	Норма	Высокие
N1 слева	$172,4 \pm 98,1$	$147,3 \pm 34,8$
P2 слева	$319,22 \pm 108,1$	$314,3 \pm 55,3$
P3 слева	$417,0 \pm 104,1$	$433,3 \pm 114,8$
N1 справа	$151,3 \pm 107,3$	$351,4 \pm 148,3^*$
P2 справа	$325,7 \pm 89,7$	$454,6 \pm 106,2^*$
P3 справа	$425,69 \pm 111,3$	$568,0 \pm 120$

Примечание: * – различия достоверны при $p < 0,05$ между группами с высокими и нормальными уровнями антител к S-100.

Таблица 2

Корреляционные взаимосвязи между уровнями антител к S-100 и показателями латентности основных пиков зрительных вызванных потенциалов у пациентов с хронической ртутной интоксикацией ($M \pm SD$)

Показатели	Пациенты с хронической ртутной интоксикацией в отдаленном периоде ($n = 36$)	Пациенты с впервые установленной хронической ртутной интоксикацией ($n = 9$)
Латентность (мс) ЗВП	Уровни антител к S-100	Уровни антител к S-100
N1 слева	$r = 0,43; p = 0,06$	$r = 0,78; p = 0,03$
P2 слева	$r = 0,01; p = 1,0$	$r = 0,01; p = 0,9$
P3 слева	$r = 0,2; p = 0,45$	$r = 0,5; p = 0,2$
N1 справа	$r = 0,76; p = 0,03$	$r = 0,43; p = 0,02$
P2 справа	$r = 0,49; p = 0,06$	$r = 0,33; p = 0,41$
P3 справа	$r = 0,45; p = 0,08$	$r = 0,46; p = 0,2$

званных потенциалов на вспышку света (табл. 2). В группе пациентов с впервые установленным диагнозом хронической ртутной интоксикации выявлена взаимосвязь между уровнями антител к S-100 и задержкой ответа в затылочном отведении справа и слева ($r = 0,78; p = 0,03$ и $r = 0,43; p = 0,02$ соответственно), а в группе больных с хронической ртутной интоксикацией в отдаленном периоде с задержкой ответа в затылочном отведении справа ($r = 0,76; p = 0,03$). Оценивая состояние активирующих систем мозга в зависимости от уровней нейротропных антител, было получено более выраженное затягивание времени начала ответа и латентности P200 в группе больных хронической ртутной интоксикацией, у которых регистрировались высокие уровни антител к белку S-100. Данные изменения характеризуют поражение коры головного мозга, отражая когнитивную составляющую зрительных вызванных потенциалов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, воздействие паров металлической ртути на организм работающих способствует изменению аутоиммунных реакций. Активность аутоиммунных реакций зависит от стадии развития патологического процесса. Развитие аутоиммунных реакций сопровождается изменениями в психоэмоциональной сфере при продолжающемся воздействии на работающих паров металлической ртути. При этом возрастание в сыворотке крови антител к белку S-100 взаимосвязано с повышением

уровня личностной и реактивной тревожности. Высокие уровни антител к белку S-100, по-видимому, способствуют нарушению активирующего влияния ретикулярной формации на стволовые образования и таламус, проявляющемуся в ослаблении внимания, памяти, восприятия, нарушении в сфере мотивации. Повышенные уровни ауто-АТ к МАГ, установленные только у пациентов с хронической ртутной интоксикацией, могут свидетельствовать о нейродегенеративных изменениях в нервной системе и являться одним из диагностических критериев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лютфалиева Г.Т., Добродеева Л.К. Аутоантитела: Физиологическое значение в регуляции гомеостаза // Экология человека. — 2007. — С. 38.
2. Малов А.М., Иванов Т.М., Петров А.Н. Особенности диагностики и тактика ведения больных при меркуриализме // Токсикологический вестник. — 2004. — № 5. — С. 8—15.
3. Нейрофизиологические методы диагностики профессиональных поражений нервной системы (приложение с задачами и ответами): Учебное пособие / О.Л. Лахман, В.С. Рукавишников, Е.В. Катаманова [и др.]. — Иркутск: РИО ИГИУВ, 2008. — 108 с.
4. Полетаев А.Б. Новые подходы к раннему выявлению патологических изменений в организме человека: Методические рекомендации для врачей. — М., 2010. — С. 5—9.

Сведения об авторах

Бодиенкова Галина Михайловна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией иммунологии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН (665827, г. Ангарск, 12-а мкр., д. 3; тел.: 8 (3955) 55-75-66, 55-40-92; e-mail: immun11@yandex.ru; imt@irmail.ru)

Боклаженко Елена Валерьевна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории иммунологии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН (665827, г. Ангарск, 12-а мкр., д. 3; тел.: 8 (3955) 55-75-66, 55-40-92; e-mail: immun11@yandex.ru; imt@irmail.ru)

Катаманова Елена Владимировна — кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по медицинской части клиники Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН (665827, г. Ангарск, 12-а мкр., д. 3; тел.: 8 (3955) 55-75-66, 55-40-92; e-mail: krisla08@rambler.ru)