

Г.М. Бодиенкова, С.И. Курчевенко

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
ПАРОВ МЕТАЛЛИЧЕСКОЙ РТУТИ НА РАБОТАЮЩИХ***Ангарский филиал ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека (Ангарск)*

Проведено клинико-иммунологическое обследование работающих в условиях воздействия паров металлической ртути. Выявлены особенности изменений иммунного ответа работающих в зависимости от стадии развития нейротоксикации парами металлической ртути. Показана взаимосвязь изменений отдельных иммунологических параметров от дозовой нагрузки ртутью и содержания ее в крови и моче.

Ключевые слова: ртуть, работающие, иммунологическая реактивность

**CHANGE OF REGULARITIES OF IMMUNE RESPONSE IN WORKERS EXPOSED
TO METAL MERCURY VAPORS**

G.M. Bodienkova, S.I. Kurchevenko

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

The clinical-immunological examination of the employees working under conditions of the exposure to the metal mercury vapors has been performed. The change peculiarities of the immune responses have been revealed in the employees in dependence on the development stage of the neurointoxication with the metallic mercury vapors. The correlation between the changes of the individual immunological parameters associated with the dosed mercury load and its contents in the blood and urine has been indicated.

Key words: mercury, workers, immunological responsiveness

В настоящее время изучение воздействия ртути на организм человека остается весьма актуальной и приоритетной проблемой. Это обусловлено широким контактом работающих с ртутью, как в химической промышленности, так и в бытовой сфере. Известно, что ртуть, попадая в организм человека ингаляционным, пероральным и перкутантным путями, способна включаться во все виды обмена. Соединения ртути, обладая высокой реакционной способностью, являются универсальными ингибиторами многих ферментных систем, в результате чего изменяется белковый обмен, что обуславливает полиорганность ртутных поражений [1]. К числу структур организма, обладающих высокой чувствительностью к ртутной интоксикации относятся и иммунная система, которая по современному определению является индикаторной системой экологического неблагополучия и чутко реагирует на изменения окружающей среды [3]. Изменения в её деятельности могут приводить к нарушениям в работе других систем организма, усугублению текущего процесса, развитию осложнений, в основе которых лежат агрессивные иммунопатологические реакции.

Установлено, что ртуть и её соединения в больших дозах способна подавлять механизмы клеточного и гуморального иммунитета [5]. Вместе с тем, в клинических [2] и в экспериментах исследований показано, что присутствие даже малых концентраций ртути в организме может сопровождаться патологическими изменениями в органах и тканях и вызывать изменения иммунологических и биохимических процессов. Как правило, ранние формы профессиональных поражений нервной

системы у работающих могут оставаться клинически незаметными, что затрудняет в последующем обоснование профессиональных и профессионально обусловленных заболеваний. В последние десятилетия на основе иммунологических методов ведется активный поиск биомаркеров экспозиции, влияния и эффекта, показателей индивидуальной восприимчивости и устойчивости к воздействию вредных факторов производственной среды.

В связи с вышеизложенным, основной **целью работы** явилось выявление особенностей изменения иммунореактивности организма работающих при воздействии паров металлической ртути, а также зависимости изменения от дозовой нагрузки и содержания ртути в моче и в крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы мужчины, контактирующие в производственных условиях с парами металлической ртути ($n = 133$) со средним стажем работы — $11,33 \pm 0,59$ года, в возрасте от 21 до 60 лет (средний возраст — $36,2 \pm 0,9$ года). В том числе 56 рабочих со стажем работы в контакте с ртутью более 10 лет и/или наличием изменений в психоэмоциональной сфере и/или неврологических расстройств установленных врачами клиники института в ходе медицинского осмотра («группа риска»). А также 38 пациентов с установленным диагнозом хронической ртутной интоксикацией (ХРИ), находившихся на обследовании и лечении в клинике института. Все они ранее контактировали с парами металлической ртути, средний стаж работы их составил $15,7 \pm 1,7$ года (средний возраст — $46,0 \pm 1,4$ года).

Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали методом непрямой поверхностной иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител, меченных флуоресцеин изотиоцианатом (ФИТЦ), специфичных к маркерам CD3+ (зрелые Т-лимфоциты), CD4+ (Т-хелперы/индукторы), CD8+ (Т-супрессоры/цитотоксические клетки), CD16+ (натуральные киллеры), CD20+ (В-лимфоциты), CD25+ (активированные лимфоциты), CD95+ (лимфоциты с рецепторами к индукции апоптоза), HLA-DR (маркеры иммунокомпетентных клеток) («МедБио-Спектр», г. Москва). Иммуноглобулин А (IgA), IgM и IgG определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем производства «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Определение сывороточных цитокинов: интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухоли- α (TNF- α), интерферона- γ (INF- γ) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа производства ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург). Дозовая нагрузка парами металлической ртути на рабочих основных профессий за годы работы рассчитана в лаборатории медицины труда Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН с учетом потребления объема воздуха за смену в зависимости от тяжести трудового процесса. Содержание ртути в цельной крови и моче определяли на анализаторе «Юлия-2» (погрешность $\pm 1,5$ мкг) в лаборатории физико-химических методов исследования (руководитель лаборатории — д.б.н., профессор В.Б. Дорогова).

Работа не ущемляет права и не подвергает опасности благополучия обследованных рабочих в соответствии с требованиями биомедицинской этики, предъявляемых Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000). Исследования выполнены с информированного согласия пациентов в Ангарском филиале ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН.

Обработка результатов исследования проводилась на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 0.6», Stat-Soft inc, США (правообладатель лицензии Ангарский филиал ФГБУ «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 Бонферрони. Для оценки взаимосвязи количественных признаков применяли коэффициенты корреляции Спирмана. Корреляционный анализ проводился с определением коэффициента линейной корреляции Спирмана.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная оценка показателей иммунного статуса у работников, подвергающихся воздействию паров металлической ртути, позволила выявить изменения в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета. У рабочих как «группы риска», так и пациентов с ХРИ наблюдается снижение в крови относительного содержания зрелых Т-лимфоцитов до $30,51 \pm 1,34$ и $29,34 \pm 2,30$ %, соответственно против $47,17 \pm 0,72$ % в контроле ($p < 0,001$) и Т-хелперов до $27,24 \pm 1,27$ и $30,21 \pm 2,08$ %, соответственно против $35,95 \pm 0,61$ % в контроле ($p < 0,05$). Заслуживает внимание факт значительного возрастания числа лимфоцитов с рецепторами позднего активационного апоптоза у рабочих «группы риска» до $23,13 \pm 1,38$ против $10,92 \pm 1,52$ % в контроле ($p < 0,001$) и лимфоцитов экспрессирующих HLA-DR до $24,67 \pm 1,40$ против $18,69 \pm 1,06$ % в контроле ($p < 0,001$). Повышение в периферической крови числа лимфоцитов, экспрессирующих CD95-антиген, может свидетельствовать об активации процессов индукции апоптоза лимфоцитов в условиях угнетения иммунной системы. Апоптоз в данном случае, по-видимому, следует рассматривать как механизм защиты организма от генетически измененных (аутореактивных) клеток. Однонаправленные, но более выраженные изменения указанных показателей наблюдаются у пациентов с установленным диагнозом ртутной интоксикации. Кроме того, у пациентов с ХРИ обнаружено достоверное повышение относительного количества натуральных киллеров до $26,47 \pm 2,51$ % ($20,60 \pm 0,45$ % в контроле, $p < 0,05$) и количества В-лимфоцитов до $25,65 \pm 1,62$ % ($19,94 \pm 0,53$ % в контроле, $p < 0,001$). При этом у лиц «группы риска» наблюдалась лишь тенденция к их возрастанию. Сравнительный анализ показателей клеточного иммунитета у лиц «группы риска» и пациентов с ХРИ позволил установить однонаправленный характер изменений отдельных изучаемых параметров. Вместе с тем, следует отметить более выраженный дисбаланс в системе иммунитета у пациентов с ХРИ.

Что касается гуморального звена иммунного ответа, то в группе здоровых работающих наблюдается увеличение содержания сывороточного иммуноглобулина IgA до $7,36 \pm 2,09$ мг/мл (в контроле $2,07 \pm 0,12$ мг/мл, $p < 0,001$), а у лиц «группы риска» и больных с ХРИ выявлено снижение его концентрации до $1,33 \pm 0,11$ и $1,40 \pm 0,21$ мг/мл, соответственно ($p < 0,05$). Низкая концентрация IgA в крови, по-видимому, может быть обусловлена не только снижением его продукции, но и переходом в секреты слизистых оболочек в повышенном количестве. Обращает на себя внимание достоверное снижение IgM во всех группах обследованных как в «группе риска» до $0,65 \pm 0,06$ мг/мл, так и пациентов с ХРИ до $0,67 \pm 0,08$ мг/мл относительно контроля ($2,03 \pm 0,12$ мг/мл, $p < 0,05$). Что касается IgG, то достоверных различий между сравниваемыми группами не обнаружено. При анализе уровней иммуноглобулинов в обследуемых группах

установлен их дисбаланс как в «группе риска», так и пациентов с ХРИ.

Учитывая, что цитокины с одной стороны, выполняют защитную функцию, а с другой — участвуют в патогенезе многих заболеваний [5], нами проведена оценка цитокинового профиля у обследованных групп. У рабочих в «группе риска» выявлено возрастание сывороточных концентраций провоспалительных цитокинов IL-1b (до $176,69 \pm 59,56$ против $20,81 \pm 2,83$ пг/мл в контроле; $p < 0,001$), IL-2 (до $97,62 \pm 36,06$ пг/мл, в контроле $16,20 \pm 6,31$ пг/мл; $p < 0,001$), TNF- α (до $102,18 \pm 31,94$ пг/мл, в контроле $15,21 \pm 1,80$ пг/мл; $p < 0,001$), противовоспалительного IL-4 (до $62,32 \pm 10,83$ пг/мл, в контроле $10,01 \pm 3,04$ пг/мл; $p < 0,05$) и снижение INF- γ (до $7,41 \pm 1,91$ пг/мл, в контроле $25,25 \pm 5,35$ пг/мл; $p < 0,001$). У пациентов с ХРИ относительно «группы риска», подвергавшихся воздействию паров металлической ртути, наблюдается снижение провоспалительных цитокинов IL-1 β (до $133,21 \pm 28,9$ пг/мл, $p < 0,05$), IL-6 (до $3,68 \pm 1,19$ пг/мл, $p < 0,05$), TNF- α (до $42,1 \pm 11,3$ пг/мл, $p < 0,05$) с тенденцией к повышению IL-2 (до $127,75 \pm 33,56$ пг/мл) и снижению противовоспалительного цитокина IL-4 (до $21,60 \pm 3,27$ пг/мл, $p < 0,05$). Усиленная продукция цитокинов способствует защите организма и желательна на начальных этапах воспаления, однако положительная роль этого процесса становится проблематичной в тот момент, когда степень активации перестает быть адекватной и первоначально защитный механизм перерастает в патологический процесс.

На следующем этапе наших исследований нами предпринята попытка выявить зависимость между изменением иммунологических показателей от наличия или отсутствия ртути в биосубстратах (кровь, моча) у обследованных групп. У лиц «группы риска» при увеличении содержания ртути в моче происходит увеличение сывороточных концентраций IL-2 и TNF- α и снижение IgA, о чем свидетельствуют прямые корреляционные связи ($r = 0,29$; $p < 0,05$ и $r = 0,33$; $p < 0,05$, соответственно) и обратная корреляционная связь ($r = -0,28$; $p < 0,05$). Кроме того, увеличение концентрации ртути в крови сопряжено со снижением сывороточной концентрации IgA ($r = -0,43$; $p < 0,05$). У пациентов с ХРИ возрастание содержания ртути в моче коррелирует со снижением количества клеток CD4 ($r = -0,37$; $p < 0,05$), CD8 ($r = -0,48$; $p < 0,05$) и CD16 ($r = -0,42$; $p < 0,05$), с одновременным повышением сывороточной концентрации IL-1 β ($r = 0,41$; $p < 0,05$). Наличие ртути в крови сопровождается гиперпродукцией IL-1 β ($r = 0,42$; $p < 0,05$). Полученные данные, по-видимому, могут

свидетельствовать о непосредственном иммунотоксическом действии ртути на иммунокомпетентные клетки.

Значительный интерес представляла также оценка изменений иммунных показателей в зависимости от дозовой нагрузки на работающих паров металлической ртути. Следует отметить, что последняя дополнительно характеризует интенсивность влияния химического фактора. Проведенные исследования показали, что у работающих подвергавшиеся воздействию ртути с повышением дозовой нагрузки происходит снижение содержания сывороточного IgM, о чем свидетельствует обратная корреляционная связь ($r = -0,25$; $p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, воздействие паров металлической ртути способствует выраженному изменению иммунологической реактивности работающих. Развитие профессиональной нейротоксикации сопровождается увеличением количества лимфоцитов, экспрессирующих маркеры поздней (CD95+ и HLA-DR+) и ранней (CD25+) стадии активации на фоне выраженной иммуносупрессии. Гиперпродукция IL-1 β , IL-2, TNF- α на ранних этапах развития ртутной интоксикации (в «группе риска») свидетельствует о напряжении компенсаторно-приспособительных механизмов. Снижение сывороточных концентраций указанных цитокинов у пациентов с ХРИ свидетельствует о дисрегуляции в системе иммунитета, что, может, способствовать поддержанию патологического процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека. — М., 1991. — С. 393—397.
2. Андреева О.К., Колесов В.Г., Лахман О.Л. Неврологические аспекты отдаленного периода хронической ртутной интоксикации // *Профессия и здоровье: материалы I Всерос. конгр.* — М., 2002. — С. 129—130.
3. Сакиева К.Ж. Пути профилактики и лечения отрицательного действия факторов окружающей среды нефтегазоносного региона на организм // *Вестн. Рос. ун-та Дружбы народов.* — 2003. — № 1. — С. 120—125.
4. Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Особенности продукции фактора некроза опухоли α при туберкулезе легких и внелегочной локализации // *Цитокины и воспаление.* — 2010. — Т. 9, № 1. — С. 45—48.
5. Toro J.R., Finlay D., Dou X. Detection of type 1 cytokines in discoid lupus erythematosus // *Arch. Dermatol.* — 2000. — Vol. 136, N 12. — P. 1497—1501.

Сведения об авторах

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

Курчевенко Светлана Ивановна — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН (665827, г. Ангарск, 12-а мр/н, д. 3; тел.: (3955) 55-75-66; e-mail: immun11@yandex.ru; svetlanakurchenko@mail.ru)