

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ У РАБОТАЮЩИХ В ПРОИЗВОДСТВЕ ВИНИЛХЛОРИДА И ПОЛИВИНИЛХЛОРИДА

Бодиенкова Г.М.^{1,2}, Курчевенко С.И.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», Ангарск, e-mail: immun11@yandex.ru;

²Федеральное государственное бюджетное учреждение ВО «Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет», Иркутск

Проведено ретроспективное обследование в динамике через 5 лет работающих в производстве винилхлорида и поливинилхлорида. В результате исследования установлено стойкое снижение АТ у стажированных «практически здоровых» рабочих к белкам NF-200, GFAP, S-100, ОБМ, В-зав. кал. каналу, АХ-Р, Глу-Р, DA-Р, Сер-Р и β 2GP, а у лиц с начальными проявлениями нейроинтоксикации винилхлоридом к белкам NF-200, S-100, ОБМ и β 2GP, что свидетельствует о снижении иммунореактивности относительно белков нервной ткани. Установленное возрастание рабочих с поликлональной иммуносупрессией через 5 лет является следствием продолжающегося воздействия неблагоприятных производственных факторов (винилхлорида и дихлорэтана). С помощью дискриминантного анализа обоснованы информативные иммунологические показатели для диагностики ранних признаков профессиональной нейроинтоксикации винилхлоридом – ауто-АТк S-100В, В-зав. кал. каналу, Глу-Р, ГАМК-Р, DA-Р.

Ключевые слова: производство винилхлорида и поливинилхлорида, нейротропные антитела, иммунореактивность работающих.

DYNAMICS OF CHANGES IN NEURONAL ANTIBODIES IN WORKERS PRODUCTION OF VINYL CHLORIDE AND POLYVINYL CHLORIDE

Bodienkova G.M.^{1,2}, Kurchevenko S.I.¹

¹Federal State Budgetary Scientific Institution «East-Siberian Institution of Mediko-Ecological Researches», Angarsk, e-mail: immun11@yandex.ru;

²Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Irkutsk National Research Technical University», Irkutsk

The workers in the production of vinyl chloride and polyvinyl chloride retrospective examination after 5 years. As a result of a study in healthy trained workers found a decrease of antibodies to proteins neurofilament protein-200 (NF-200), GFAP, to protein S-100 (S-100), antibodies to the main protein of a myelin (MPM), V-dependent calcium channel (VGCC), antibodies to the acetylcholine receptors (AChR), Glu-P, the DA-P, Ser-P and β 2GP. In patients with initial manifestations of vinyl chloride reduction neurointoxication antibodies to proteins NF-200, S-100 and MPM, β 2GP, indicating a reduction of immunoreactivity relative proteins of nervous tissue. Installed polyclonal immunosuppression workers through 5 years is a result of the continuing impact of toxic factors of production (the effect of vinyl chloride and ethylene dichloride). Using discriminates analysis proved informative immunological parameters for the diagnosis of early signs of occupational neurointoxication vinyl chloride-antibodies to S-100B, VGCC, Glu-P, GABA-R, the DA-P.

Keywords: production of vinyl chloride and polyvinyl chloride, neurotrophic antibodies immunoreactivity working.

Условия трудовой деятельности существенно отражаются на функциональном состоянии организма, его резервных возможностях, которые в свою очередь определяют риск возникновения и прогрессирования целого ряда заболеваний. Значительное количество работающих в производстве винилхлорида и поливинилхлорида (ВХ и ПВХ) работает во вредных и опасных условиях труда, оказывающих влияние на центральную и периферическую нервную систему [8]. Влияние ВХ на работающих в большинстве случаев проявляется неспецифическими функциональными расстройствами по типу астено-невротического или астеновегетативного синдромов, синдромом вегето-сосудистой

дистонии и полинейропатии [5]. Известно, что клиническая картина ранних стадий многих нейроинтоксикаций проявляется в виде неспецифических синдромов, а имеющиеся критерии постадийной диагностики основаны не на объективных количественных параметрах, а на степени выраженности неврологической симптоматики. В комплексе клинических проявлений хронической профессиональной интоксикации винилхлоридом значительное место занимают синдромы, свидетельствующие о поражении гипоталамической области и ствола мозга [5]. Поражение гипоталамической области, как правило, протекает с нарушением нейрогуморальных взаимоотношений в организме и изменением обмена медиаторов симпатического и парасимпатического отделов нервной системы [3]. Современные представления о существовании тесных взаимосвязей между нервной и иммунной системами предполагают вовлеченность иммунных механизмов в формирование патологических состояний и заболеваний нервной системы, в том числе нейроинтоксикация винилхлоридом, что подтверждено многочисленными исследованиями [2, 3]. В связи с чем активно проводится поиск специфических маркеров повреждения центральной нервной системы [4, 9,10]. К настоящему времени известен ряд неспецифических маркеров, указывающих на повреждение головного мозга различной этиологии. В частности, это нейроспецифические белки, которые изменяются количественно при различных заболеваниях. Среди них наиболее изученными являются глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) и белок S-100, которые можно рассматривать в качестве маркеров гибели астроцитов, а также основной белок миелина (ОБМ) – индикатор повреждения олигодендроцитов [9]. Как снижение, так и повышение сывороточной концентраций нейроспецифических белков указывает на изменения в определенных структурах нервной ткани, позволяет дать прижизненную оценку состояния центральной нервной системы и оценить динамику нейродегенеративных процессов [6].

В предыдущих исследованиях нами показано нарушение иммунореактивности [1] и вовлеченность аутоиммунных реакций в процессы регуляции нервной системы посредством выработки антител (АТ) к регуляторным белкам нервной ткани при хроническом воздействии хлорированных углеводов. У стажированных «практически здоровых» работников установлено возрастание АТ к MAG (обладающих в данном случае протективными свойствами), а у лиц с начальными проявлениями нейроинтоксикации винилхлоридом – АТ к ДНК и АТ к S-100 относительно группы контроля [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение изменений сывороточной концентрации аутоантител к нейрональным белкам в динамике (через 5 лет) хронического воздействия неблагоприятных факторов на работающих в современном производстве винилхлорида и поливинилхлорида.

Материалы и методы исследования

Проведено ретроспективное лабораторно-иммунологическое обследование когорты мужчин (n=37), работающих в производстве винилхлорида и поливинилхлорида. В результате углубленного обследования в клинике института все пациенты при первичном обследовании разделены на 2 группы. В первую группу включены 21 «практически здоровых» стажированных работника (со стажем работы – 12,2±0,7 года, средним возрастом 36,9±1,2 года) без признаков нарушений нейропсихического статуса. Во вторую – 16 пациентов с начальными проявлениями нейроинтоксикации, характеризующейся астеническими (эмоционально-лабильными) расстройствами с вегетативной дисфункцией. Средний стаж работы обследованных лиц составил 18,3±1,2 года, средний возраст – 47,3±1,9 года. Все эти рабочие были повторно обследованы через 5 лет (2009 и 2014 гг.). В настоящее время для раннего выявления и мониторинга за течением патологических процессов, затрагивающих структуры ЦНС, используются методы определения сывороточных концентраций нейротропных ауто АТ. Определение сывороточного содержания нейротропных аутоантител (ауто-АТ), направленных к белкам: нейрофиламентному протеину-200 (NF-200), глиальному фибриллярному кислому белку (GFAP), белку S-100, основному белку миелина (ОБМ), вольтаж-зависимому кальциевому каналу (В-зав. Са-канал), глутаматным рецепторам (Глу-Р), дофаминовым рецепторам (ДА-Р), ГАМК-рецепторам (ГАМК-Р), серотониновым рецепторам (Сер-Р), холинорецепторам (АХ-Р), ДНК, β2-гликопротеину (β2GP) проводили с помощью ЭЛИ-Н-Теста МИЦ «Иммункулус» (г. Москва). Среднюю индивидуальную иммунореактивность (СИР) каждого анализируемого образца сыворотки крови и отклонения (R) рассчитывали согласно инструкции к набору ЭЛИ-Н-Тест по формуле:

$$\text{СИР} = \left(\frac{R(\text{ar}1) \times 100}{R(\kappa1)} - 100 + \frac{R(\text{ar}2) \times 100}{R(\kappa2)} - 100 + \dots + \frac{R(\text{ar}12) \times 100}{R(\kappa12)} - 100 \right) : 12$$

где:

СИР – средняя индивидуальная иммунореактивность сыворотки конкретного пациента, выраженная в процентах от контрольных значений

R(ar1, 2,...12) – величина оптической плотности анализируемой сыворотки крови в лунках с антигенами-1, 2,...12;

R(κ1, κ2, ...12) – величина оптической плотности контрольной сыворотки крови в лунках с антигенами-1, 2, ...12.

Отклонения (R) (в процентах от среднего нормализованного уровня) иммунореактивности анализируемого образца сыворотки крови с каждым из используемых антигенов рассчитывали по формуле:

$$R_{(\text{норм}) \text{ аг1}} = (\text{ОП}(\text{аг1}) \times 100 / \text{ОП}(\text{к1})) - 100 - \text{СИР},$$

где:

R(норм) аг1, аг2, ... аг12 – отклонения (в процентах от среднего нормализованного уровня) иммунореактивности анализируемого образца сыворотки крови с антигеном-1, антигеном-2, антигеном-12.

ОП(аг1, аг2... аг12) – оптическая плотность реакции образца сыворотки крови с антигенами аг1, аг2...аг12.

ОП(к1, к2... аг12) – оптическая плотность реакции контрольной сыворотки с антигенами аг1, аг2...аг12.

Физиологический (нормальный) уровень антител к используемым антигенам считали в диапазоне от -20 % до +10 % относительно значений контрольной сыворотки.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 for Windows. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05. Проверку на нормальность распределения количественных данных выполняли по критерию Shapiro-Wilk. Математическую обработку результатов исследования проводили с использованием описательных статистик: медиана Меи интерквартильный размах (в виде 25-го и 75-го перцентилей, $Q_{25}-Q_{75}$) – для данных, не соответствующих нормальному закону распределения. Для анализа количественных признаков при сравнении двух независимых выборок применяли критерий Манна – Уитни. Для дискриминантного анализа использовался модуль «Discriminantanalysis». Информативность анализируемых показателей оценивалась шаговыми процедурами, граничным значением F включения выбрана величина $F=4,0$; критерием классификации служила мера D^2 Махаланобиса.

Клиническое обследование работников основывалось на классификационных критериях болезней и состояний МКБ 10-ого пересмотра. Все лица, включенные в исследование, дали информированное согласие на проведение манипуляций.

Результаты и их обсуждение

Результаты комплексного исследования иммунореактивности организма на основании сывороточных концентраций АТ к белкам нервной ткани в динамике хронического воздействия производственных факторов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Изменения уровней АТ к белкам нервной ткани в динамике у работающих в
производстве ВХ и ПВХ, Ме (Q₂₅-Q₇₅)

| Антитела к: (усл.ед.) | Стажированные «практически здоровые» работники | | Лица с начальными проявлениями нейроинтоксикации | |
|--------------------------|---|--------------------|--|--------------------|
| | 1 обследование | 2 обследование | 1 обследование | 2 обследование |
| NF-200 | 0,29 (0,28-0,33) | 0,21 (0,18-0,26) * | 0,32 (0,27-0,47) | 0,24 (0,19-0,27) * |
| GFAP | 0,33(0,27-0,35) | 0,24 (0,2-0,28) * | 0,28 (0,23-0,36) | 0,28 (0,23-0,34) |
| S-100 | 0,73 (0,63-0,88) | 0,23(0,2-0,28)* | 0,64 (0,58-1,06) | 0,30 (0,23-0,58) * |
| ОБМ | 0,26(0,24-0,3) | 0,17(0,14-0,22) * | 0,26 (0,2-0,36) | 0,19 (0,17-0,23) * |
| В-зав. Са- каналу | 0,23 (0,21-0,29) | 0,18 (0,16-0,22) * | 0,24 (0,18-0,31) | 0,20 (0,17-0,23) |
| АХ-Р | 0,26 (0,23-0,34) | 0,20 (0,18-0,24) * | 0,28(0,24-0,38) | 0,25 (0,18-0,27) |
| Глу-Р | 0,30 (0,25-0,37) | 0,22 (0,19-0,24) * | 0,30 (0,21-0,36) | 0,23 (0,21-0,26) |
| ГАМК-Р | 0,26 (0,22-0,33) | 0,26 (0,19-0,29) | 0,26 (0,23-0,36) | 0,26 (0,21-0,31) |
| DA-Р | 0,31 (0,25-0,38) | 0,25 (0,2-0,28) * | 0,30 (0,25-0,37) | 0,26 (0,23-0,28) |
| Сер-Р | 0,40 (0,33-0,51) | 0,29 (0,24-0,34) * | 0,40 (0,28-0,47) | 0,32 (0,3-0,37) |
| ДНК | 0,24 (0,16-0,29) | 0,19 (0,16-0,21) | 0,20 (0,16-0,23) | 0,20(0,19-0,24) |
| β2GP | 0,22 (0,17-0,26) | 0,16 (0,15-0,18) * | 0,23 (0,2-0,26) | 0,19 (0,16-0,21) * |

Примечание: * – различия между 1 и 2 обследованием статистически значимы при $p < 0,05$.

Как следует из данных, представленных в таблице 1, при повторном обследовании через 5 лет как у стажированных «практически здоровых» рабочих при продолжающемся воздействии производственных факторов обнаружено снижение медианных значений концентрации АТ практически ко всем исследуемым антигенам NF-200, GFAP, S-100, ОБМ, В-зав. кал. каналу, АХ-Р, Глу-Р, DA-Р, Сер-Р и β2GP. У рабочих с установленными проявлениями нейроинтоксикации винилхлоридом наблюдается достоверное снижение АТ к NF-200, S-100, ОБМ и β2GP. Вместе с тем уровни АТ к GFAP, В-зав. кал. каналу, АХ-Р, Глу-Р, ГАМК-Р, DA-Р, Сер-Р, ДНК остаются на прежнем уровне и не изменяются в динамике. Следует отметить, что ряд авторов [6] рассматривают стойкое снижение АТ при хронических интоксикациях, сверхсильных физических нагрузках (профессиональный спорт), инфекционных заболеваниях, радиоактивных поражений и других причинах, как снижение общей иммунореактивности организма.

Следует учесть, что развитие различных заболеваний сопровождается стойкими нарушениями синтеза и/или разрушениями молекулярных компонентов в определенных популяциях клеток, которые могут приобретать антигенные свойства. Эти изменения начинаются задолго до клинической манифестации болезни и лежат в основе изменений продукции естественных аутоантител, специфичных для каждой формы патологии [6]. Результаты расчета средней индивидуальной иммунореактивности (СИР) к нейротропным белкам, которая может проявляться в виде поликлональной иммуноактивации (стойкое повышение всех или большинства уровней АТ) либо поликлональной иммуносупрессии (низкий уровень всех или большинства АТ) [7], показала снижение СИР к антигенам нервной ткани более чем у половины (в 76 % случаев) обследованных при первичном обследовании и в 95 % случаев при повторном обследовании. Что касается рассчитанной СИР у рабочих с начальными проявлениями нейроинтоксикации, то при первом обследовании обнаружено снижение её у 68,7 % обследованных, а при повторном у всех (100 %) обследуемых рабочих. Выявленное нарастание числа рабочих с поликлональной иммуносупрессией при повторном обследовании может являться следствием продолжающегося воздействия неблагоприятных производственных факторов. Длительное воздействие на рабочих неблагоприятных факторов производства способствует как усугублению изменений функционального состояния организма, так и возрастает число лиц с нарушением иммунореактивности относительно белков нервной ткани, способствующей развитию профессиональной и производственно обусловленной патологии.

Учитывая, что изменения уровней АТ могут свидетельствовать о ранних (донозологических) изменениях в специализированных структурах нервной ткани, а развитие и клиническое манифестирование профессиональной патологии проявляются позднее, чем регистрируются изменения в иммунной системе, нами предпринята попытка обоснования наиболее информативных иммунологических показателей в диагностике начальных проявлений интоксикации винилхлоридом (табл. 2).

Таблица 2

Информативные показатели дискриминантного анализа у стажированных «практически здоровых» рабочих и лиц с начальными проявлениями нейроинтоксикации винилхлоридом пациентов

| Показатели, усл. ед. | F-включения | p |
|-----------------------|-------------|-------|
| АТ к белку S-100 | 9,02 | 0,004 |
| АТ к В-зав. Са-каналу | 9,65 | 0,003 |
| АТ к ГЛУ-Р | 4,86 | 0,033 |
| АТ к ГАМК-Р | 4,80 | 0,034 |

| | | |
|-----------|------|-------|
| АТ к DA-P | 5,89 | 0,019 |
|-----------|------|-------|

Нами выполнен дискриминантный анализ в группе пациентов, не имеющих изменения в нервной системе при хроническом воздействии винилхлорида («практически здоровые» рабочие), и у лиц с начальными проявлениями нейроинтоксикации. В результате анализа сывороточных концентраций АТ ко всем исследуемым белкам получено сочетание 5-ти показателей, при которых точность диагноза была максимальной (ауто-АТ к S-100В, В-зав. Са-каналу, Глу-Р, ГАМК-Р, DA-P). На основании регистрации вышеперечисленных АТ к регуляторным белкам нервной ткани появляется возможность диагностики ранних признаков нейроинтоксикации винилхлоридом, а также получить дополнительную информацию о характере поражения нервной системы.

Таким образом, в результате исследований установлено стойкое снижение АТ у стажированных «практически здоровых» рабочих к белкам NF-200, GFAP, S-100, ОБМ, В-зав. кал. каналу, АХ-Р, Глу-Р, DA-P, Сер-Р и β 2GP, а у лиц с начальными проявлениями нейроинтоксикации винилхлоридом к белкам NF-200, S-100, ОБМ и β 2GP, что свидетельствует о снижении иммунореактивности относительно белков нервной ткани. Установленное возрастание рабочих с поликлональной иммуносупрессией через 5 лет является следствием продолжающегося воздействия неблагоприятных производственных факторов (влияние винилхлорида и дихлорэтана). Совокупность полученных результатов позволила выявить наиболее информативные показатели в диагностике начальных проявлений нейроинтоксикации винилхлоридом – ауто-АТ к S-100В, В-зав. Са-каналу, Глу-Р, ГАМК-Р, DA-P.

Список литературы

1. Бодиенкова Г.М., Рукавишников В.С., Курчевенко С.И. Адаптационные возможности организма работающих в условиях воздействия различных нейротоксикантов // Сибирский Консилиум. – 2007. – № 7. – С.161.
2. Бодиенкова Г.М. Аутоантитела к биорегуляторам нервной системы у рабочих в производстве винилхлорида // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 6. – С.9-13.
3. Горячева Л.А., Стулова Е.А. Нейрогуморальные взаимоотношения у больных с хронической интоксикацией винилхлоридом // Гигиена труда и профессиональные заболевания. – 1978. – № 1. – С.23-27.
4. Каляганов П.И. Клиническая характеристика начальных проявлений хронического воздействия винилхлорида // Медицина труда и промышленная экология. – 2002. – № 4. –

С. 29–32.

5. Полетаев А.Б. Физиологическая иммунология (естественные аутоантитела и проблемы наномедицины). – Миклош; М., 2011. – 218 с.
6. Полетаев А.Б. Молекулярная диспансеризация (новые подходы к раннему выявлению патологических изменений в организме человека). – Москва, 2014. – 84 с.
7. Токсико-гигиенические аспекты влияния условий труда на здоровье работающих в производстве винилхлорида и поливинилхлорида / Н.М. Мещаклова [и др.]; под общей ред. С.Ф. Шаяхметова. – Иркутск: НЦРВХ СО РАМН, 2014. – 166 с.
8. Li Jing. Temporal Profile of Astrocytes and Changes of Oligodendrocyte-Based Myelin Following Middle Cerebral Artery Occlusion in Diabetic and Non-diabetic Rats / Jing Li, He Qingping, Jian-Zhong Zhang, LiP. Andy // *Int. J. Biol. Sci.* – 2013. – V. 9, № 2. – P. 190–199.
9. Pesaresi M. Dihydroprogesterone increases the gene expression of myelin basic protein in spinal cord of diabetic rats / M. Pesaresi, S. Giatti, D. Calabrese, O. Maschi, D. Caruso, R.C. Melcangi // *J. Mol. Neurosci.* – 2010. – V. 42, № 2. – P. 135–139.
10. Zimmer D.B., Weber D.J. The Calcium-Dependent Interaction of S100B with Its Protein Targets // *Cardiovascular Psychiatry and Neurology.* – 2010. – V. 2010. – P. 1–18.