

УДК 613.632:612.017.1:616.8

**АУТОАНТИТЕЛА К БИОРЕГУЛЯТОРАМ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ
У РАБОТАЮЩИХ В ПРОИЗВОДСТВЕ ВИНИЛХЛОРИДА****Бодиевкова Г.М.***ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», Ангарск,
e-mail: immun11@yandex.ru*

Интенсивность аутоиммунных реакций и спектр вырабатываемых аутоантител у работающих в производстве винилхлорида (ВХ) зависят от продолжительности воздействия и стадии развития патологического процесса. Полученные результаты позволяют оценить степень заинтересованности определенных структур нервной ткани – биорегуляторов нервной системы в развитии неврологических нарушений. Показано, что изменение синтеза аутоантител к специфическим белкам нервной ткани связано с ухудшением неврологического статуса. У стажированных «практически здоровых» работников выявлено возрастание сывороточных концентраций ауто-АТ к МАG, а у лиц с клиническими проявлениями астенического расстройства с вегетативной дисфункцией – ауто-АТ к ДНК, ауто-АТ к S-100. Полученные результаты позволяют улучшить качество диагностики, особенно на ранних этапах заболевания и, как следствие, формирование наиболее оптимальной тактики лечения.

Ключевые слова: производство винилхлорида, рабочие, аутоантитела, нервная система**AUTOANTIBODIES TO BIOREGULATORS OF NERVOUS SYSTEM
IN EMPLOYEES AT PRODUCTION OF VINYL CHLORIDE****Bodienkova G.M.***Federal State Budgetary Scientific Institution «East-Siberian Institution of Mediko-Ecological
Researches», Angarsk, e-mail: immun11@yandex.ru*

The intensity of the autoimmune responses and spectrum of the autoantibodies produced in the employees working at the productions of vinyl chloride may depend on the duration of exposure and development stage of pathological process. The findings allow assessing the interest degree of some nervous tissue structures – the bioregulators of the nervous system in the development of neurological disorders. The alteration in the synthesis of the autoantibodies to the specific proteins of the nervous tissue was found to correlate with the aggravation of the neurological status. So, the increase in the serum concentrations of the autoantibodies to MAG was revealed in the «practically healthy» employees with a long-term working period and the increase in the autoantibodies to DNA, autoantibodies to S-100 was revealed in the persons with clinical manifestations of asthenic disorders with vegetative dysfunction. The findings would allow to improve the quality of diagnostics, especially at the early stages of the disease and, as a result, forming the more optimal tactics of treatment.

Keywords: production of vinyl chloride, workers, autoantibodies, nervous system

Во многих странах мира в настоящее время чрезвычайно востребованным является производство винилхлорида. Работающие на современных производствах ВХ подвергаются воздействию комплекса хлорированных углеводов. Винилхлорид и его производные оказывают на организм самые разнообразные эффекты: канцерогенный [9], мутагенный [5], эмбриогенный, тератогенный [6; 7].

Зарегистрированы единичные случаи хронической интоксикации винилхлоридом, которая характеризуется преимущественно нарушениями в нервной системе. Влияние ВХ на работающих в большинстве случаев проявляется неспецифическими функциональными расстройствами по типу астено-невротического или астеновегетативного синдромов, синдромом вегето-сосудистой дистонии и полинейропатии [2].

Изменения в нервной системе сопровождаются изменением иммунологических показателей, которые могут играть роль

свидетеля патологического процесса. При этом значительная роль в патогенезе многих заболеваний нервной системы отводится аутоиммунным механизмам. Особый интерес в настоящее время представляет механизм регуляции ЦНС иммунной системой в виде продукции аутоантител. В связи с чем актуальным является поиск ранних молекулярных маркеров, изменения, концентрации которых в биосубстратах, отражают степень выраженности патологического процесса. Одними из таких биоиндикаторов могут выступать аутоантитела к специализированным структурам нервной ткани, вовлеченные в механизмы биорегуляции нейроиммунных взаимоотношений.

Целью настоящего исследования являлось изучение изменений в содержании аутоантител к нейрональным белкам – регуляторам нервной системы у работающих в производстве винилхлорида в зависимости от степени выраженности патологического процесса.

Материалы и методы исследования

Проведено комплексное обследование мужчин, работающих в производстве ВХ. Первую группу составили 53 практически здоровых стажированных работника (со стажем работы – $12,2 \pm 0,7$ года, средним возрастом $36,9 \pm 1,2$ года) без признаков нарушений нейropsychического статуса. Группа сформирована в ходе периодического медицинского осмотра врачами клиники института. Во вторую группу включены 26 пациентов с начальными проявлениями нейроинтоксикации, характеризующейся астеническим (эмоционально-лабильным) расстройством с вегетативной дисфункцией. Диагноз установлен на основании углубленного обследования в клинике института. Средний стаж работы обследованных лиц составил $18,3 \pm 1,2$ года, средний возраст – $47,3 \pm 1,9$ года. Контрольную группу практически здоровых мужчин в количестве 56 человек составили лица, сопоставимые по возрасту и общему трудовому стажу, не имеющие в профессиональном маршруте контакта с веществами нейротоксического действия.

Концентрацию аутоантител к миелин-ассоциированному гликопротеину (MAG) в сыворотке крови оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем производства BÜHLMANN anti-MAG ELISA (Швеция). Содержание нейротропных ауто-АТ, направленных к белкам: нейрофиламентному протеину-200 (NF-200), глиальному фибриллярному кислому белку (GFAP), S-100, основному белку миелина (ОБМ), вольтажзависимому Са-каналу (В-зав. Са-канал), глутаматным рецепторам (Глу-Р), дофаминовым рецепторам (DA-Р), ГАМК – рецепторам (ГАМК-Р), серотониновым рецепторам (Сер-Р), холинорецепторам (АХ-Р), ДНК, $\beta 2$ гликопротеину ($\beta 2GP$) в сыворотке крови определяли с помощью ЭЛИ-Н-Теста МИЦ «Иммункукус» г. Москва. Среднюю индивидуальную иммунореактивность (СИР) каждого анализируемого образца сыворотки крови и отклонения (R) рассчитывали согласно инструкции к набору ЭЛИ-Н-Тест. Данные о сывороточной иммунореактивности анализируемых проб, полученные в абсолютных единицах оптической плотности, пересчитывали от уровня реакции контрольной сыворотки, постановка реакций которого с каждым из антигенов проводилась на каждом из планшетов. Среднюю индивидуальную иммунореактивность (СИР) каждого анализируемого образца сыворотки крови рассчитывали по формуле: $СИР = (R (ar1) \times 100 / R (k1) - 100 + R (ar2) \times 100 / R (k2) - 100 + \dots + R (ar12) \times 100 / R (k12) - 100) : 12$. Отклонения (R) (в процентах от среднего нормализованного уровня) иммунореактивности анализируемого образца сыворотки крови с каждым из используемых антигенов рассчитывали по формуле: $R_{(norm) ar1} = (ОП (ar_1) \times 100 / ОП (k_1)) - 100 - СИР$. Границы физиологического (нормального) уровня антител к используемым антигенам ЭЛИ-Н-Тест находятся в диапазоне от – 20% до + 10% от значений контрольной сыворотки. Аномальная иммунореактивность – выходящая за границы эмпирически установленной нормы реакции иммунореактивность (ниже – 30 С.У. или выше + 20 С.У.) [3]. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 в среде Windows. Для показателей рассчитывалась средняя арифметическая (M), ошибка средней арифметической (m), стандартные отклонения (σ), медиана (Me) и интерквартильный размах (25-й и 75-й про-

центили). Достоверность различий средних оценивали с использованием параметрических и непараметрических критериев – Стьюдента (при нормальном распределении) и Манна-Уитни с учетом поправки Бонферони (при отличающемся от нормального распределения) [4]. Для суждения о достоверности различий встречаемости качественных признаков для малых выборок применяли метод Фишера.

Работа не ущемляет права и не подвергает опасности благополучия обследованных работников в соответствии с требованиями биомедицинской этики, предъявляемых Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000) и Приказа Минздрава РФ №266 (от 19.06.2003). Все лица, включенные в исследование, дали информированное согласие на проведение манипуляций.

Результаты исследования и их обсуждение

Учитывая, что изменение продукции ауто-АТ позволяет судить о начинающихся или уже манифестировавших патологических процессах любой органной локализации [1], в нашем случае представляло интерес оценить концентрацию ауто-АТ к нейрональным белкам – биорегуляторам нервной системы у работающих в производстве ВХ.

В результате исследований установлено, что более выраженная интенсивность аутоиммунных реакций выявлена у лиц с начальными проявлениями нейроинтоксикации (астеническое расстройство с вегетативной дисфункцией). А именно, как следует из данных, представленных табл. 1, у последних наблюдается возрастание концентрации ауто-АТ к белку S-100 до $0,772 (0,671-1,019)$ у.е. относительно группы стажированных «практически здоровых» работников ($0,689 (0,601-0,826)$ у.е.; $p < 0,05$). Белки группы S-100 являются важнейшими регуляторами деятельности мозга и принимают участие в реализации фундаментальных базовых функций нервной системы [8]. Если учесть, что в клинической симптоматике обследованных нами лиц врачами клиники были установлены эмоционально-волевые расстройства в виде эмоционально-аффективной ригидности, следует полагать, что выявленные повышенные уровни ауто-АТ к S-100 указывают на изменения в структурах ЦНС, отвечающих за регуляцию эмоционального статуса. Также, у лиц с начальными проявлениями нейроинтоксикации обнаружены достоверно высокие уровни ауто-АТ к ДНК ($0,202 (0,159-0,243)$ у.е.) по сравнению с группой контроля ($0,156 (0,142-0,178)$ у.е.; $p = 0,04$). Обращает на себя внимание увеличение уровня ауто-АТ к MAG у «практически здоровых» работников до $348,3 (293,1-448,8)$ ВТУ (в контроле $259,4 (214,4-372,0)$ ВТУ; $p = 0,02$). Выявленное

повышение уровней ауто-АТ к нейротропным белкам у стажированных работающих без признаков нарушений нейропсихического статуса может свидетельствовать о ранних (донозологических) изменениях в определенных структурах нервной ткани.

длительного воздействия неблагоприятных производственных факторов и может сопровождаться нарушением клиренса, т.е. удаления из организма продуктов апоптоза клеток, и в последующем привести к хронической аутоинтоксикации продуктами обмена [3].

Таблица 1

Оценка уровней ауто-АТ у работающих при воздействии винилхлорида, Me(Q₂₅-Q₇₅)

Ауто-АТ к	контроль	Производство винилхлорида	
		«практически здоровые» работающие (n = 21)	Лица с начальными проявлениями нейроинтоксикации (n = 20)
NF-200 (y.e.)	0,278 (0,219–0,308)	0,318 (0,222–0,369)	0,299 (0,271–0,389)
GFAP (y.e.)	0,294 (0,269–0,342)	0,284 (0,225–0,314)	0,294 (0,272–0,359)
S-100 (y.e.)	0,772 (0,629–0,936)	0,689* (0,601–0,826)	0,772 (0,671–1,019)
ОБМ (y.e.)	0,273 (0,219–0,471)	0,251 (0,217–0,296)	0,258 (0,229–0,326)
В-зав. Са-канал (y.e.)	0,219 (0,200–0,232)	0,227 (0,200–0,262)	0,235 (0,205–0,271)
АХ-Р (y.e.)	0,299 (0,235–0,346)	0,306 (0,234–0,366)	0,288 (0,252–0,357)
Глу-Р (y.e.)	0,264 (0,248–0,286)	0,294 (0,234–0,366)	0,310 (0,238–0,373)
ГАМК-Р (y.e.)	0,235 (0,191–0,256)	0,264 (0,202–0,349)	0,265 (0,224–0,330)
DA-Р (y.e.)	0,261 (0,235–0,290)	0,255 (0,215–0,296)	0,275 (0,244–0,297)
Сер-Р (y.e.)	0,384 (0,343–0,459)	0,354 (0,315–0,469)	0,370 (0,302–0,427)
ДНК (y.e.)	0,156 (0,142–0,178)	0,181 (0,147–0,227)	0,202▲ (0,159–0,243)
β2GP (y.e.)	0,213 (0,193–0,244)	0,221 (0,198–0,268)	0,215 (0,186–0,260)
MAG (BTU)	259,4 (214,4–372,0)	348,3▲ (293,1–448,8)	341,2 (277,0–450,3)

Примечание. * – различия между группами, ▲ – различия по сравнению с контролем статистически значимы при p < 0,05.

Кроме того, нами рассчитана средняя индивидуальная иммунореактивность (СИР) к нейротропным белкам, которая может проявляться в виде поликлональной иммуноактивации (стойкое повышение всех или большинства уровней ауто-АТ), либо поликлональной иммуносупрессии (низкий уровень всех или большинства ауто-АТ). В результате исследований установлено снижение средней индивидуальной иммунореактивности к антигенам нервной ткани у более половины обследуемых работников (у «практически здоровых» – в 81% случаев, у лиц с начальными проявлениями нейроинтоксикации – в 75% случаев). Стойкая поликлональная иммуносупрессия у большинства работающих может являться следствием

Учитывая мнения ряда исследователей [10; 3], что основную клиническую информацию несет не столько абсолютное содержание тех или иных ауто-АТ, сколько их аномальные изменения, нами проанализирована частота выявления их у работников при хроническом воздействии винилхлорида. У работающих с начальными проявлениями нейроинтоксикации аномально высокие уровни ауто-АТ к: S-100, GFAP, NF-200, β2GP, Сер-Р, ОБМ, АХ-Р, ГАМК-Р и ГЛУ-Р были выявлены в большем проценте случаев. Тогда как аномально низкие уровни ауто-АТ к: В-зав. Са-каналу, ГАМК-Р, АХ-Р и ОБМ определены в единичных случаях. Что касается «практически здоровых» работников, то аномальные уровни ауто-АТ определены

в меньшем проценте случаев и к меньшему спектру специализированных структур нервной ткани. Полученные результаты свидетельствуют о нарастании аутоиммунных реакций у работающих при формировании клинических проявлений неврологических расстройств. В данном случае аутоиммунные реакции следует рассматривать как вторичные иммунные изменения, направленные на поддержание или восстановление нарушенного гомеостаза за счет оптимизации клиренса антигенов, в виду того, что ауто-АТ способны стимулировать процессы регенерации, синтез ДНК и митотическую активность клеток-мишеней. Выявление стойких аномалий (как повышенных, так и пониженных уровней) ауто-АТ к биорегуляторам нервной системы позволяет судить о характере изменений, происходящих в определенных структурах нервной ткани.

Известно, что выявленные формы реагирования организма на действие токсикантов не являются постоянными, дальнейший

их исход зависит от многих факторов, в том числе и от продолжительности (стажа) работы во вредных условиях. В связи с чем следующим этапом работы явилось выявление зависимости между выраженностью изменений в содержании ауто-АТ и продолжительностью воздействия винилхлорида на работающих (табл. 2).

Как следует из данных, представленных в табл. 2, с возрастанием продолжительности работы во вредных условиях труда происходит нарастание аутоиммунных реакций. А именно, у работающих со стажем более 10 лет наблюдается повышение ауто-АТ к ОБМ относительно менее стажированных работников. У высокостажированных работников выявлено повышение содержания ауто-АТ к МАG, что, возможно, связано с запуском антимиелинового процесса. У работников со стажем 15 и более лет выявлено повышение ауто-АТ к ДНК по сравнению с менее стажированными (5–9 лет) и группой контроля.

Таблица 2

Изменения концентраций ауто-АТ у работающих в производстве винилхлорида в зависимости от стажа работы, Ме (Q_{25} - Q_{75})

Ауто-АТ к	контроль	Стажевые группы		
		I (5–9 лет) n = 13	II (10–14 лет) n = 9	III (15 и более лет) n = 19
NF-200 (y.e.)	0,278 (0,219–0,308)	0,299 (0,209–0,350)	0,299 (0,274–0,337)	0,337 (0,259–0,426)
GFAP (y.e.)	0,294 (0,269–0,342)	0,292 (0,225–0,316)	0,290 (0,266–0,314)	0,292 (0,265–0,376)
S-100 (y.e.)	0,772 (0,629–0,936)	0,636 (0,549–0,789)	0,702 (0,667–0,795)	0,803 (0,593–1,047)
ОБМ (y.e.)	0,273 (0,219–0,471)	0,220 ▲ (0,186–0,238)	0,246 *II-I (0,232–0,280)	0,286 *III-I (0,239–0,365)
В-зав. Са- канал(y.e.)	0,219 (0,200–0,232)	0,211 (0,179–0,260)	0,236 (0,207–0,263)	0,232 (0,209–0,274)
АХ-Р (y.e.)	0,299 (0,235–0,346)	0,275 (0,187–0,333)	0,302 (0,199–0,357)	0,295 (0,255–0,404)
Глу-Р (y.e.)	0,264 (0,248–0,286)	0,252 (0,217–0,330)	0,308 (0,249–0,312)	0,317 (0,237–0,433)
ГАМК-Р (y.e.)	0,235 (0,191–0,256)	0,219 (0,199–0,334)	0,262 (0,229–0,313)	0,276 (0,241–0,411)
ДА-Р (y.e.)	0,261 (0,235–0,290)	0,248 (0,216–0,291)	0,237 (0,215–0,290)	0,283 (0,246–0,424)
Сер-Р (y.e.)	0,384 (0,343–0,459)	0,343 (0,306–0,413)	0,361 (0,322–0,395)	0,383 (0,325–0,494)
ДНК (y.e.)	0,156 (0,142–0,178)	0,152 (0,147–0,206)	0,180 (0,144–0,208)	0,221 ▲, *III-I (0,166–0,256)
β2GP (y.e.)	0,213 (0,193–0,244)	0,219 (0,198–0,248)	0,208 (0,192–0,227)	0,218 (0,195–0,282)
МАG (BTU)	259,4 (214,4–372,0)	354,5 (288,1–501,3)	346,8 (293,2–386,8)	329 ▲ (282,7–448,8,4)

Примечание. ▲ – различия по сравнению с контролем; * – различия между стажевыми группами статистически значимы при $p < 0,05$.

Заключение

Таким образом, полученные данные указывают на вовлеченность аутоиммунных реакций в процессы регуляции нервной системы посредством выработки аутоантител к определенным структурам нервной ткани. Интенсивность аутоиммунных реакций и спектр вырабатываемых АТ при воздействии хлорированных углеводов (ВХ и ДХЭ) зависят от продолжительности воздействия и стадии развития патологического процесса. Полученные результаты позволяют оценить степень заинтересованности определенных структур нервной ткани в развитии неврологических нарушений в зависимости от стадии развития патологического процесса. Показано, что изменение синтеза аутоантител к специфическим белкам нервной ткани связано с ухудшением неврологического статуса. У стажированных «практически здоровых» работников выявлено возрастание сывороточных концентраций ауто-АТ к МАG (обладающих в данном случае протективными свойствами), а у лиц с клиническими проявлениями астенического расстройства с вегетативной дисфункцией – ауто-АТ к ДНК, ауто-АТ к S-100. Все это способствует улучшению качества диагностики на ранних этапах заболевания и,

как следствие, формированию наиболее оптимальной тактики лечения.

Список литературы

1. Арапов Н.А., Полетаев А.Б. О перспективах развития новой концепции профилактической медицины // Главный врач. – 2007. – № 6. – С. 72–76.
2. Катаманова Е.В. Нарушение функциональной активности мозга при профессиональном воздействии нейротоксикантов: автореф. дис. докт. мед. наук: 14,02,04 ФГБУ «Научный центр проблем здоровья и репродукции человека» СО РАМН. – Иркутск, 2012. – 47 с.
3. Полетаев А.Б. Физиологическая иммунология (естественные аутоантитела и проблемы наномедицины). – М.: Миклош, 2011. – 218 с.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
5. Bolt H.M. Vinyl chloride-a classical industrial toxicant of new interest // Critical reviews in toxicology. – 2005. – Vcd. 35 (4). – P. 307–323.
6. Chiang S.Y., Swenberg J.A., Weisman W.H., Skopek T.R. Mutagenicity of vinyl chloride and its reactive metabolites, chloroethylene oxide and loroacetal-dehyde, in a metabolically competent human B-lymphoblastoid line // Carcin-ogenesis. – 1997. – Vcd. 18 (1). – P. 31–36.
7. Dogliotti E. Molecular mechanism of carcinogenesis by vinyl chloride // Annlidell superiore di canita. – 2006. – Vol. 24, № 2. – P. 163–199.
8. Heizmann C.W. S-100 proteins: structure, functions and pathology // FrontBiosci. – 2002. – Vcd. 7. – P. 1356–1368.
9. Hsieh H.I., Chen P.C., Wong R.H., Du C.L. et al. Mortality from liver cancer and leukaemia among polyvinyl chloride workers in Taiwan: an updated study // Occup Environ Med. – 2011. – Vcd. 68 (2). – P. 120–125.
10. Meroni P.L., Ronda N., De Angelis V., Grossi C., Raschi E., Borghi M.O. Role of anti-beta2 glycoprotein I antibodies in antiphospholipid syndrome: in vitro and in vivo studies // Clin. Rev. Allergy Immunol. – 2007. – Vol. 32 (1). – P. 67–74.