

В.В.Косарев, В.С.Лотков, А.В.Жестков

**РЕСПИРАТОРНЫЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ДИОКСИНОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

Государственный медицинский университет, Самара

RESPIRATORY AND IMMUNOLOGICAL CHANGES
AT THE CHRONICAL INFLUENCE OF THE DIOXINES

V. V. Kosarev, V. S. Lotkov, A. V. Zhestkov

Summary

The results of the immunological examination of 126 people working in the conditions of the constant influence of dioxines and related compounds are cited in the article. Cellular and serum-transferable immunity were assessed with the methods of enzyme immunoassay and laser flow cytometry. It was determined that firstly the macrophage-neutrophil system is drawn in the process of the rendering harmless of the dioxines. However, all-resorptive action of dioxines brings to the exhaustion of the functional possibilities of the macrophage-neutrophil system and activation of the immunity system functioning on the dioxines neutralization.

Резюме

В работе приводятся результаты клинко-иммунологического обследования 126 рабочих, работающих в условиях постоянного воздействия диоксинов и родственных соединений. Функциональное состояние органов дыхания оценивалось методами компьютерной спирографии с исследованием вязкостного дыхательного сопротивления, фибробронхоскопии. Для анализа иммунного статуса использовали проточную лазерную цитометрию и иммуноферментный анализ. Установлено, что в респираторном тракте развиваются воспалительно-дистрофические изменения, сопровождающиеся функциональными расстройствами; первой в процесс обезвреживания диоксинового ксенобиотика вовлекается макрофагально-нейтрофильная система, однако общерезорбтивное действие диоксинов приводит к истощению функциональных возможностей системы макрофагов и нейтрофилов, при этом активизируется действие иммунной системы по нейтрализации диоксинов.

В последние годы существенно возросла опасность загрязнения окружающей среды хлорированными углеводородами (диоксинами) и близкими им по химической структуре и свойствам соединениями [10]. Диоксины и достаточно большая группа диоксиноподобных веществ поступают в окружающую среду в качестве побочных продуктов производства хлорированных углеводородов на основе полихлорфенолов и при сжигании мусора. Обнаружение в ряде европейских стран у женщин полихлорированных тетрахлордibenзо-р-диоксинов (ТХДД) в грудном молоке побудило ВОЗ организовать специальный комитет по диоксинам, который провел ряд исследований, посвященных распространению данных веществ в окружающей среде. Было отмечено широкомасштабное распространение хлорорганических соединений с постепенным и постоянным их накоплением в биологических системах [11,12].

По числу диоксиновых агрессоров Самарская область занимает одно из первых мест в России — на ее территории расположено 8 предприятий с диоксиновыми технологиями [8]. В последние 30 лет на одном из них — Чапаевском заводе химических удобрений (ЧЗХУ) — был организован технологический процесс переработки изомеров гексахлорана с получением трихлор-, гексахлорбензола и пентахлорфенолята натрия, который сопровождался образованием высокотоксичного ТХДД. Освоение выпуска этих продуктов затянулось на долгие годы и сопровождалось поражениями персонала, так как очистка готовой продукции от диоксинов и родственных соединений технологической схемой не предусматривалось. Санитарно-гигиенические условия труда были неудовлетворительными с превышением предельно допустимых концентраций (ПДК) по хлорированным углеводородам в 10 раз и более.

Реализованная в Чапаевске производственная схема была детищем своего времени [9], она не прошла серьезной предварительной проработки в экспериментальных условиях и ее приходилось доводить в процессе производства с многочисленными санитарно-гигиеническими нарушениями, что привело в конечном итоге к принятию постановления Правительства РФ № 720 от 21.06.96 о разработке и реализации Федеральной целевой программы "Социально-экологическая реабилитация территории и охрана здоровья населения г.Чапаевска Самарской области", в рамках которой выполнено настоящее исследование.

Респираторная система в 90% случаев является основными "входными воротами" поступления химических веществ и, чтобы защитить организм от поллютантов, система дыхания должна обладать мощнейшим защитным потенциалом [3]. Реализация этого потенциала во многом определяется функциональным состоянием иммунной системы [4]. Иммунная система, участвуя в поддержании гомеостаза, во многом определяет устойчивость организма к воздействию различных профессиональных факторов [6,

13,14]. Функция иммунной системы заключается в распознавании "своего" и "чужого", обезвреживании и удалении из организма последнего, независимо от его экзогенного или эндогенного происхождения [15]. Согласно мнению *О.Г.Алексеевой* [1], первичная реакция на внедрение экзогенных чужеродных веществ реализуется макрофагально-нейтрофильной системой, тогда как собственно иммунная система включается в работу вторично. Поэтому определенный диагностический интерес представляет изучение содержания в плазме фибронектина, который синтезируется альвеолярными макрофагами, фибробластами, моноцитами, эпителиоидными клетками, нейтрофилами, тканевыми базофилами и тромбоцитами.

Основной функцией фибронектина принято считать опсоническую — он способен стимулировать фагоцитоз разнообразных объектов, макромолекул [5], субклеточных и клеточных структур, осуществляя неспецифическую защиту организма еще до включения механизмов иммунологического гомеостаза [2].

Целью работы было определение состояния органов дыхания и иммунной системы у работающих в условиях хронического воздействия хлорированных углеводородов.

Всего было обследовано 126 рабочих производства хлорированных углеводородов (диоксинов) на ЧЗХУ. Функциональное состояние органов дыхания оценивали при помощи компьютерной спирометрии с исследованием вязкостного дыхательного сопротивления на аппарате "Custo-Vit" (Австрия) и методом фибробронхоскопии по общепринятым методикам.

Иммунологические методы исследования проводили в соответствии с рекомендациями отечественных и зарубежных авторов [7] и включали иммуноферментный анализ (уровень фибронектина плазмы — количество нанограммов в 1 мл, общий IgE — количество международных единиц в 1 миллилитре, использовали диагностические наборы НПФ "Хема", Москва), определение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с помощью моноклональных антител серии ЛТ. Иммунофлуоресценция оценивалась на проточном цитометре "Epics-Profile" фирмы "Coulter".

Содержание Ig A, M, G в сыворотке определяли методом радиальной иммунодиффузии. Уровень лизоцима в сыворотке крови изучали турбидиметрическим методом с использованием ацетонированного микрококка. Контрольную группу составили 59 человек, не подвергавшихся воздействию промышленных аэрозолей на производстве и в быту, не имевших на момент обследования клинических признаков иммунопатологии.

Клиническая оценка состояния органов дыхания выявила наличие скудной клинической симптоматики, которая сводилась к жалобам на сухой периодический кашель и незначительную одышку при физической нагрузке (19,2%). Значительно больше информации было получено при фибробронхоскопическом

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета (в %) у работающих в зависимости от уровня воздействия диоксинов в сравнении с контрольной группой

Показатель	1-я группа, n=76	2-я группа, n=50	Контрольная группа, n=59
CD3 ⁺ -клетки	69,5±2,1	70,3±1,0	71,2±0,9
CD4 ⁺ -клетки	45,5±2,5*	42,0±4,7	42,9±0,8
CD8 ⁺ -клетки	30,3±0,8*	26,1±1,3	26,2±0,6
CD72 ⁺ -клетки	13,8±1,5*	11,8±1,1	10,5±0,5
CD16 ⁺ -клетки	19,5±1,3*	15,0±1,1	16,8±0,7
Фагоцитирующие клетки	45,3±5,5*	58,0±3,9*	78,3±3,4

Примечание. * — достоверная разница в сравнении с контрольной группой — здесь и в табл. 2, 3; ** — достоверная разница между группами обследованных.

исследовании и изучении состояния бронхиальной проходимости. Слизистая оболочка бронхиального дерева была истончена, анемична с просвечивающим сосудистым рисунком и слизистым секретом в просвете бронхов, что соответствовало эндоскопическим признакам диффузного субатрофического бронхита. Эти изменения сопровождались функциональными расстройствами: статистически достоверно уменьшались скоростные показатели — объем форсированного выдоха $2,7 \pm 0,1$ л ($3,1 \pm 0,1$ л в контроле; $p < 0,05$), пиковая скорость воздушного потока $4,9 \pm 0,2$ л/с ($7,8 \pm 0,1$ л/с в контроле, $p < 0,001$).

Статистически достоверно увеличивалось вязкостное дыхательное сопротивление до $0,35 \pm 0,04$ отн.ед. (в контроле $0,25 \pm 0,03$ отн.ед.), что подтверждало спирографические данные о нарушении бронхиальной проходимости с формированием вентиляционных расстройств, что позволило у 56 (44,4%) обследованных поставить диагноз хронического бронхита.

У работающих в контакте с хлорированными углеводородами было обнаружено, что содержание CD3⁺, CD8⁺ и CD16⁺-клеток практически не отличалось от аналогичных показателей в контрольной

группе. Уровни CD4⁺ и CD72⁺-лимфоцитов были повышены ($p < 0,01$). Соответственно в сторону увеличения изменялось соотношение CD4⁺/CD8⁺-клеток (табл.1).

С нашей точки зрения, представляет практический интерес оценка изменений клеточного звена иммунитета в зависимости от степени воздействия диоксинов. С этой целью все обследованные были разделены на 2 группы: 1-я группа — аппаратчики, имеющие наибольший контакт с диоксинами — более 30% рабочего времени (76 человек, стаж работы $20,9 \pm 2,8$ года), 2-я группа — слесари ремонтно-технических работ и электрики с менее продолжительным контактом с химическими веществами — не более 10-20% рабочего времени в смену (50 человек, стаж работы $19,7 \pm 1,4$ года). Концентрации диоксинов на рабочем месте составляли от 10 до 100 мг в 1 м³, что выше ПДК в 10 раз.

Межгрупповые показатели клеточного звена иммунитета отличались характерной особенностью, которая заключалась в увеличении содержания CD4⁺, CD8⁺, CD72⁺ и CD16⁺-клеток с параллельным угнетением фагоцитоза ($p < 0,05$).

Изучение гуморального звена иммунитета включало оценку следующих показателей: содержание IgA, IgM, IgG, общего IgE, активности лизоцима сыворотки и концентрации фибронектина плазмы.

Анализ изученных показателей концентрации сывороточных иммуноглобулинов различных классов выявил достоверное повышение уровней IgM и IgG. Средние величины концентрации IgA не претерпевали достоверных изменений в сравнении с контрольной группой. Активность лизоцима сыворотки была снижена (табл.2).

Сравнение межгрупповых показателей гуморального иммунитета показало, что при увеличении степени воздействия диоксиновых производных отмечалось выраженное снижение концентрации сывороточных иммуноглобулинов при более низких значениях показателей фагоцитирующих клеток и уровня лизоцима сыворотки. Концентрация фибронектина в плазме у обследованных представлена в табл.3.

Определение концентрации фибронектина выявило значительное повышение этого показателя у рабочих, контактирующих с диоксинами, в сравнении с контрольной группой. Уровни данного показателя

Таблица 2

Изменение показателей гуморального иммунитета в зависимости от степени выраженности контакта с химическими веществами

Группа обследованных	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л	Общий IgE, МЕд/мл	Лизоцим, ед. акт.
1-я группа, n=76	1,9±0,3	1,1±0,1*	10,2±1,	89,2±10,9*	14,1±2,9*
2-я группа, n=50	1,8±0,4	1,4±0,2	17,9±2,8	91,6±12,1*	15,5±3,2*
Контрольная группа, n=59	1,8±0,4	1,4±0,02	14,8±0,2	110,3±7,4	21,6±0,3

Содержание фибронектина в плазме у рабочих ЧЗХУ в сравнении с контрольной группой

Группа обследованных	Уровень фибронектина, нг/мл		
	мужчины (n=44)	женщины (n=34)	всего (n=78)
Рабочие, имеющие контакт с диоксинами	647,2±38,9*	560,8±63,4*	615,2±38,9*
Контрольная группа	285,8±19,6	252,5±21,3	276,4±25,9

у мужчин несколько выше, чем у женщин. Сравнительная оценка содержания фибронектина в плазме в зависимости от степени воздействия химических веществ представлена в табл.4.

Отмечено статистически достоверное увеличение содержания фибронектина в группе рабочих, имеющих непосредственный контакт с диоксинами в течение рабочей смены с 10-кратным превышением ПДК.

Таким образом, проведенные иммунологические обследования рабочих хлорированных производств выявили тенденцию к формированию вторичного иммунодефицитного состояния у 86 (68,3%) человек: небольшому уменьшению клеток, экспрессирующих CD3⁺-маркер; снижению содержания иммуноглобулиновых фракций. Сравнительное изучение клеточного и гуморального звена иммунитета в зависимости от длительности диоксинового воздействия выявило более выраженное угнетение этих звеньев иммунологической защиты организма в I-й профессиональной группе (превышение ПДК по диоксинам в 10 и более раз; контакт с диоксинами в течение более чем 30% рабочего времени).

Было обнаружено выраженное увеличение содержания фибронектина — основного фактора, обеспечивающего избирательность фагоцитарной реакции. Увеличение его концентрации наблюдалось у всех рабочих независимо от пола и возраста с достоверным нарастанием в I-й группе (увеличение степени контакта с диоксинами и большим стажем работы).

Таблица 4

Содержание фибронектина в плазме рабочих ЧЗХУ в зависимости от степени контакта с диоксинами

Группа обследованных	Содержание фибронектина, нг/мл	p*
1-я группа, n=40	821,3±48,3	
2-я группа, n=38	514,2±49,6	<0,001
Контрольная группа, n=59	276,4±25,9	<0,001

Примечание. * — достоверность различий между группами и в сравнении с контрольной.

В проведенных нами ранее исследованиях получены данные о содержании фибронектина при пневмокониозах (заболеваниях, обусловленных воздействием физического фактора — малофиброгенной промышленной аэрозоли, которая не обладает общетоксическим действием) — 372,8±18,1 нг/мл. Это значение статистически достоверно меньше, чем при воздействии диоксинового фактора, — 821,3±48,3 нг/мл (в контрольной группе 276,4±25,9).

Выводы

1. При хроническом ингаляционном диоксиновом воздействии (более 20 лет контакта при концентрациях диоксинов от 10 до 100 мг в 1 м³, что выше ПДК в 10 раз) доминируют функционально-морфологические изменения респираторного тракта при скудной клинической симптоматике.
2. При контакте с хлорированными углеводородами (диоксинами) отмечаются нарушения клеточного и гуморального иммунитета до развития клинических проявлений интоксикации (хлоракне, одышка, сухие хрипы в легких, боли в правом подреберье).
3. Высокий уровень фибронектина в плазме указывает на попытку организма обеспечить избирательность фагоцитарной реакции по элиминации хлорированных соединений. Увеличение образования фибронектина всеми клетками, участвующими в формировании защитной реакции организма, свидетельствует об общерезорбтивном действии диоксинов.
4. При хроническом воздействии диоксинов первой активизируется макрофагально-нейтрофильная система, собственно иммунная система вовлекается в процесс вторично.
5. Вовлечение в процесс иммунной системы подтверждает "нехватку" функциональных возможностей макрофагально-нейтрофильной системы в нейтрализации диоксинового ксенобиотика.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева О.Г. Иммунология профессиональных хронических бронхолегочных заболеваний. М.: Медицина; 1987.
2. Харрисон Т.Р. (ред.) Внутренние болезни. М.: Медицина; 1993; т.2: 124-130.
3. Чучалин А.Г. Респираторно-иммунные изменения при хроническом воздействии многокомпонентных химических соединений.

- ний. Здравоохранение. (Москва) 1998; 5 (прил. к журн. "Врач"): 27-28.
4. Вахидова Г.Л., Мельстер Э.Ш., Васильева Ф.Р. и др. Эффективность иммунокорригирующей терапии у больных с заболеваниями органов дыхания с наличием в крови хлорорганических соединений. Пульмонология 1994; 4: 45-50.
 5. Канская Н.В. Особенности взаимосвязи системы гемостаза и уровня фибронектина у больных ИБС. Тер. арх. 1990; 8: 54-56.
 6. Маянский Д.Н. О патогенезе хронического воспаления. Там же 1992; 11: 3-7.
 7. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М.: Изд-во ВНИРО; 1995. 106-177.
 8. Косарев В.В. Клинические модели экологических заболеваний. В кн.: Экология и здоровье человека. Самара; 1995. 47-48.
 9. Федоров Л.А. Диоксины: состояние проблемы, экологическая опасность, пути решения. М.: Математика и экология; 1992.
 10. Федоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. М.: Наука; 1993.
 11. Gladen B.C., Rogan W.J., Hardy P. Development after exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene transplacentally and through breast milk. J. Pediatr 1988; 113: 991-995.
 12. Carrier G., Brunet R., Brouder J. Physiologically-based modeling of the toxicokinetics of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in mammals, including humans. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1995; 131: 253-266.
 13. Holsapple M.P., Snyder N.K., Wood S.C. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced changes in immunocompetence: possible mechanisms. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1991; 31: 73-95.
 14. Neubert R., Golor G. Polyhalogenated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans and the immune system. Arch. Toxicol. 1992; 66: 250-259.
 15. Zober M.A., Ott M.G., Papke O. Morbidity study of extruder personnel with potential exposure to brominated dioxins and furans. Br. J. Industr. Med. 1992; 59: 532-544.