

УДК 615.546.45.099.08

БИОМАРКЕРЫ ЭКСПОЗИЦИИ И ЭФФЕКТА БЕРИЛЛИЯ

Луковникова Л.В., Стосман К.И., Крупкин А.Б.* , Иванова А.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»,

192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1,

Тел/факс: (812) 365-06-80, e-mail: institute@toxicology.ru

** Федеральное государственное унитарное предприятие научно-исследовательский институт промышленной и морской медицины Федерального медико-биологического агентства, 196143, Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, д. 65*

Тел.: (812) 415-94-31, факс: (812) 415-94-58

e-mail: niipmm@fmbamail.ru

Резюме

Обследование сотрудников, профессионально контактирующих с бериллием, показало, что у большинства работающих были выявлены нарушения баланса в системе цитокинов, нарастание уровня иммуноглобулинов класса Е. Полученные результаты позволяют рекомендовать проведение иммунологического мониторинга персонала в динамике с целью разработки комплексных программ профилактики и диагностики профессиональных заболеваний.

Ключевые слова: бериллий, иммунологический мониторинг, биомаркеры экспозиции и эффекта.

BIOMARKERS OF EXPOSURE AND EFFECT OF BERYLLIUM.

Lukovnikova L.V., Stosman K.I., Krupkin A.B.* , Ivanova A.S.

«Institute of Toxicology» of Federal Medico-Biological Agency,

* Federal State Unitary Scientific-research institute of Industrial and Marine Medicine of Federal Medical-Biological Agency

Abstract: Staff's control, who has professional contact with beryllium, makes clear that most of working personnel revealed violations of balance in cytokine system, as well as increase the level of immunoglobulins E. The obtained results allow to recommend the interactive immunological monitoring of personnel engaged in manufacture in order to develop comprehensive prevention programmes and diagnostic of professional diseases.

Key words: beryllium, immunological monitoring , biomarkers of exposure and effect.

Введение. В стратегии химической безопасности Российской Федерации мониторинг за состоянием здоровья населения, проживающего на территориях, подверженных химическому воздействию называется актуальной проблемой, требующей пристального внимания специалистов. Одним из этапов реализации государственной политики в этом направлении является программа «Стратегия развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года», в которой выделено 14 приоритетных направлений (платформ). В платформе «Профилактическая среда» подчеркивается, что в настоящее время практически каждый третий работник России трудится во вредных и опасных условиях труда. По оценке Международной организации труда (МОТ), в России свыше 76 тысяч смертей в год происходят из-за болезней, связанных с работой. Недостаточно полное и своевременное выявление профессиональных заболеваний влечет за собой рост числа осложненных случаев, включая инвалидизацию работающих, ухудшение качества трудовых ресурсов, снижение производительности труда. Наибольшую опасность для здоровья персонала и населения прилегающих территорий представляют предприятия, использующие технологии с применением или получением химических веществ первого и второго классов опасности.

Россия относится к тем немногим странам, где добывается бериллий, и в последнее время регистрируется промышленный рост получения этого редкого элемента и изделий из него [1, 2]. Известно, что бериллий относится к веществам первого класса опасности и характеризуется как вещество, которое оказывает аллергенное, эмбриотоксическое и канцерогенное действие [2, 3, 4]. В связи с этим, задача по разработке методов профилактики и ранней диагностики его влияния на здоровье, как персонала, так и населения, подверженного техногенному воздействию бериллия, является чрезвычайно актуальной.

С современных позиций одним из важнейших условий успешности выявления токсического действия химических веществ на здоровье человека является максимально эффективное использование химического и биологического мониторинга [5, 6, 7, 8]. Несмотря на очевидную необходимость контроля уровня химической нагрузки у различных категорий населения, в первую очередь у работающих на химически опасных промышленных предприятиях, в настоящее время не разработана система контроля содержания химических веществ в биосредах организма человека. Практически отсутствует целостная методическая и нормативная база для проведения подобных обследований различных контингентов и групп населения. Особенно эта проблема актуальна для персонала предприятий и населения территорий, подвергающихся повышенному риску техногенного химического воздействия. Даже при наличии

методических рекомендаций (МР) «Биологический контроль производственного воздействия вредных веществ» № 5205-90 проблема биомониторинга химического воздействия остается предметом обсуждения лишь в научных кругах. До сих пор список научно обоснованных и рекомендованных биологических ПДК (БиоПДК) для бензола, стирола, толуола, хлорбензола и свинца в Российской Федерации не утвержден в законодательном порядке [9].

Существующий метод контроля воздушной среды путем измерения концентраций химических веществ в воздухе рабочей зоны и сопоставление полученных результатов с допустимыми уровнями воздействия не дает исчерпывающего представления о количестве вещества, фактически поглощенного организмом, особенно в тех случаях, когда поступление токсиканта возможно, помимо ингаляционного, другими путями: через кожу, желудочно-кишечный тракт и при комплексном поступлении. Совершенно очевидно, что биомониторинг, как система оценки потенциальной опасности токсикантов для здоровья работников, не имеет должного распространения.

Загрязнение различных объектов окружающей среды тяжелыми металлами способствует алергизации населения, что может выражаться как бессимптомной сенсibilизацией, так и аллергическими заболеваниями такими как бронхит, ринит, бронхиальная астма, экзема, дерматит [10, 11, 12, 13]. Кроме того, известно, что контакт с тяжелыми металлами может приводить к развитию аутоиммунной патологии, изменению концентрации иммуноглобулинов [14, 2].

Научные данные последних лет свидетельствуют об увеличении заболеваний у сотрудников предприятий, непосредственно связанных в своей профессиональной деятельности с химически опасными веществами, в том числе и с бериллием [15, 16, 9]. Контакт с данным элементом может проявляться реакцией гиперчувствительности замедленного типа, реализацией аутоиммунных механизмов и др. [17, 18]. С увеличением стажа работы в условиях длительного воздействия бериллия частота сенсibilизации может достигать 80% и более. Это подтверждается экспериментальными и клиническими наблюдениями [10, 11, 1, 15, 2, 3, 4, 19, 18].

Целью работы было обоснование предложений по включению методов биологического мониторинга в алгоритм обследования работников, профессионально контактирующих с бериллием, для совершенствования системы оценки состояния здоровья персонала химически опасных объектов.

Материалы и методы. В ходе выполнения работы было обследовано 50 сотрудников предприятия, профессионально контактирующих с бериллием. В группу сравнения (15 человек) были включены сотрудники предприятия, не имевшие

непосредственного контакта с токсикантом. Проведен анализ содержания бериллия в воздухе рабочей зоны, в смывах с поверхностей технологического оборудования и в биосредах (кровь, моча) персонала. Количественный химический анализ смывов с поверхностей технологического оборудования, биоматериала на содержание бериллия проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Кровь для исследования отбирали из локтевой вены утром натощак в пробирки-контейнеры Vacutest® (Vacutest KIMA, Италия).

Исходя из общих знаний о маркерах аллергических состояний, нами были выбраны следующие показатели иммунотоксических эффектов бериллия как индуктора аллергических реакций: уровень общего иммуноглобулина Е (IgE, МЕ/мл), интерлейкина-4 (IL-4, пг/мл), интерлейкина-8 (IL-8, пг/мл), интерферона- γ (INF- γ , пг/мл) и фактора некроза опухолей- α (TNF- α , пг/мл). Количественное определение иммунологических показателей (IgE, IL-4, IL-8, INF- γ и TNF- α) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы Monobind (США) и ООО «Цитокин» (Россия). Учет результатов проводили на планшетном спектрофотометре Synergy 2 (BioTek, США).

Обработка данных выполнена с использованием пакета статистических программ «Statistica 6.0» фирмы StatSoft (США). Отличия между выборками оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Уровень циркулирующих цитокинов и IgE определяли у сотрудников всех структурных подразделений, имеющих различный возраст и рабочий стаж. Одной из важных особенностей хронической интоксикации бериллием является отсутствие зависимости эффекта от дозы [10, 11, 20]. Данное утверждение нашло подтверждение и в наших исследованиях. Несмотря на то, что сам элемент определялся в биологических средах (крови и моче) на допустимом уровне, контакт с бериллием приводил к изменению показателей системы иммунитета. Так, у 28 сотрудников предприятия из 50 обследованных, отмечено повышение уровня IL-8, INF- γ или IgE, причем одновременно изменялись оба или все три перечисленные показателя. Повышенный уровень сывороточного INF- γ регистрировался у 5 работающих на уровне $131,22 \pm 18,21$ пг/мл ($p < 0,05$), против $15,90 \pm 4,20$ пг/мл в группе сравнения. Превышение содержания интерлейкина IL-8 равно $89,63 \pm 6,74$ пг/мл ($p < 0,05$), против $25,18 \pm 8,70$ пг/мл в группе сравнения, наблюдали у 21 человека из обследованных. Значения других целевых цитокинов – IL-4 ($2,94 \pm 0,23$ пг/мл) и TNF- α ($0,15 \pm 0,10$ пг/мл) у всех наблюдаемых не превышали средних значений в группе сравнения. Гиперпродукция общего IgE выявлена у 12 сотрудников и составили $418,50 \pm 61,66$ МЕ/мл ($p < 0,05$), против

96,12±14,61 МЕ/мл в группе сравнения. Выявленные нарушения гуморальных факторов иммунитета количественно можно определить как умеренные, а у отдельных работников – как сильно выраженные.

Таким образом, обследование сотрудников различных подразделений предприятия показало, что у большинства работающих выявляются нарушения баланса в системе цитокинов, а также нарастание уровня иммуноглобулина класса Е. У сотрудников, непосредственно участвующих в производственном процессе, наблюдается гиперактивный тип иммунного ответа.

По мнению ряда исследователей острый и хронический токсический бериллиевый бронхит, бериллиоз наблюдаются на тех стадиях производства, где имеет место диспергирование бериллия в воздушную среду [15]. Как показали данные химического мониторинга, при интенсивной загрузке производственного оборудования на предприятии по переработке бериллия регистрировались превышения предельно-допустимого содержания бериллия в воздухе рабочей зоны от 1,2 до 1,7 ПДК сс. При этом содержание бериллия на поверхностях технологического оборудования обнаруживалось в количестве от 0,71 до 460 мкг/м², на напольном покрытии - от 4,1 до 866,0 мкг/м²; загрязненность стен составляла от 0,49 до 35 мкг/м². Такие уровни загрязнения поверхностей бериллием следует учитывать при оценке состояния воздушной среды, так как имеет место зависимость между уровнями поверхностного загрязнения и содержанием бериллия в воздухе производственных помещений [15].

В научной литературе за «нормальный» уровень содержания бериллия в крови принимается величина 1 мкг/л, в моче – 0,28-1 мкг/л [1, 25]. Результаты количественного определения содержания бериллия в биологических средах обследованного персонала показали, что среднее содержание бериллия в крови составляет 0,036 мкг/л; в моче – 0,031 мкг/л. Как следует из представленных данных, у всех обследованных работников концентрация бериллия в биосредах не превышала значений, принятых за условную «норму» [1, 2].

Антропогенные и экологические факторы, в том числе и тяжелые металлы, при остром и хроническом действии в больших и даже малых дозах наряду с другими системами организма повреждают иммунную, индуцируя многочисленные специфические и неспецифические эффекты [20, 21, 16, 22]. Часто профессиональный контакт с этими металлами приводит к развитию аллергических заболеваний органов дыхания, кожи, глаз, почек, которые характеризуются нарушением регуляции иммунитета, хроническим воспалением и повреждением тканей [10, 11]. Характер иммунного ответа на аллерген осуществляется взаимодействием многих клеточных популяций: макрофагов, Т- и В-

лимфоцитов и др. Это взаимодействие регулируется главным образом субпопуляциями Т-лимфоцитов – Т-хелперами 1 и 2 типа (Th-1 и Th-2), продуцирующими широкий спектр цитокинов. За развитие гиперчувствительности замедленного типа ответственны Th-1, за гиперчувствительность немедленного (IgE-зависимого) типа – Th-2 [23, 24, 25, 26].

Аллергические реакции немедленного типа опосредованы продукцией IgE. При контакте с аллергеном происходит каскад реакций, результатом которых является индукция синтеза IgE антител, высвобождение таких медиаторов воспаления как гистамин, лейкотриены, цитокины, ферменты.

В развитии гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) важная роль принадлежит сенсibilизированным Th1-клеткам и макрофагам, вырабатывающим провоспалительные цитокины (IL-2, INF- γ , TNF- α и др.) [23, 24]. Цитокины выполняют важнейшие регуляторные функции на начальных этапах индукции и дифференцировки иммуноцитов при формировании специфического аллергического ответа. Наряду с гистамином и гистаминоподобными медиаторами провоспалительные цитокины участвуют в реализации аллергического повреждения по типу атопии или непосредственно формируют ГЗТ-воспалительный процесс [27, 23, 28, 24].

В настоящее время доказано, что бериллий и его соединения можно отнести к активным аллергенам [1, 3, 18]. В основе развития антиген специфических воспалительных реакций на бериллий лежит продукция иммунокомпетентными клетками цитокинов. В ряде научных статей было показано, что при хронической интоксикации бериллием отмечается повышение продукции TNF- α , IL-6, IL-2, IL-10 и INF- γ альвеолярными макрофагами [19, 18]. В бронхоальвеолярном лаваже лиц, контактировавших с данным химическим элементом, выявляется повышенный уровень TNF- α , активация Th1-клеток [24]. Интоксикация сульфатом бериллия стимулирует выработку IL-2, IL-6, IL-10, INF- γ [19, 17].

Детектируемое в наших исследованиях увеличение уровня IL-8 в сыворотке крови может косвенно свидетельствовать о нарушении функциональной активности продуцирующих его клеток (макрофагов, фибробластов, Т-лимфоцитов и др.). У небольшого количества сотрудников предприятия также выявлялось повышение концентрации INF- γ , синтезируемого активированными Т-лимфоцитами, в том числе, Th1-клетками, играющими основополагающую роль в развитии гиперчувствительности замедленного типа. Наблюдаемый рост продукции общего IgE можно рассматривать как ранний диагностический признак развития аллергических заболеваний.

Заключение. Полученные данные позволяют рекомендовать проведение иммунологического мониторинга персонала, занятого на производстве и переработке

бериллия, в динамике с целью разработки комплексных программ профилактики и диагностики профессиональных и производственно обусловленных заболеваний и патологических состояний. Результаты биомониторинга в значительной степени отражают уровень суммарной поглощенной дозы соединений бериллия и являются необходимым критерием с позиций доказательной медицины для диагностики его вредного действия на организм. При проведении токсиколого-гигиенических исследований определение химических веществ в организме, т.е. определение суммарной поглощенной дозы токсиканта является объективной характеристикой условий труда на производстве и степени надежности гигиенических регламентов, эффективности использования коллективных и индивидуальных средств защиты.

Выводы

1. У сотрудников предприятия, профессионально контактирующих с соединениями бериллия, выявлен гиперактивный тип иммунного ответа – повышенные уровни сывороточных цитокинов (IL-8, INF- γ) и общего IgE.

2. При проведении медицинских осмотров персонала, профессионально контактирующего с бериллием, рекомендуется определять содержание сывороточных цитокинов и общего иммуноглобулина Е в динамике.

3. Повышенный уровень IL-8 и INF- γ , увеличение концентрации сывороточного общего IgE можно рассматривать как биомаркеры эффекта бериллия.

4. Биомаркерами экспозиции является обнаружение бериллия в наиболее информативных биосредах – кровь, моча. Рекомендуемое время отбора проб – окончание рабочей смены, конец рабочей недели.

Литература

1. Вредные вещества в окружающей среде. Элементы I-IV групп периодической системы и их неорганические соединения: справочно – энциклопедическое издание // Редактор-организатор В.А. Филов и др. – СПб.: НПО «Профессионал», 2005. – 462 с.

2. Филов В.А. Бериллий и его соединения: окружающая среда, токсиколо-гия, гигиена // Российский химический журнал. – 2004. – Т. XLVIII, № 2. – С.76-86.

3. Beryllium. EHC 106. Geneva: WHO, 1990. – 210 p.

4. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. V. 58. Lion: IARC, 1993. – p. 41–117.

5. Луковникова Л.В., Фролова А.Д., Чекунова М.П. Металлы в окружающей среде: проблемы мониторинга // Эфферентная терапия. – 2004. – №1. – С.74-79.

6. Луковникова Л.В., Сидорин Г.И. Биомониторинг в системе оценки риска химического воздействия / Сборник трудов IV съезда токсикологов России. Москва. – 2013. – С. 299-301.
7. Фролова А.Д., Луковникова Л.В., Чашин В.П., Сидорин Г.И. К проблеме мониторинга химических веществ // Медицина труда и промышленная экология. – 2003. – №8. – С.1–6.
8. TLVs and BEIs, Based on the Documentations for Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices, ACGIH, WORLDWIDE, 1999. – 184 p.
9. Труд и здоровье/ Н.Ф. Измеров, И.В. Бухтияров, Л.В. Прокопенко, Н.И. Измерова, Л.П. Кузьмина – М.:Литтерра, 2014. – 416 с.
10. Алексеева О.Г. Аллергия при воздействии химического фактора. // Профилактическая токсикология. Центр международных проектов ГКНТ. – Москва. – 1984. – С.323-332.
11. Алексеева О.Г. Аллергия к промышленным химическим соединениям / Алексеева О.Г., Дуева Л.А. – М.: Медицина, 1978. – 278 с.
12. Газалиева М.А. Иммуные механизмы при воздействии соединений бериллия в эксперименте // Гигиена труда и медицинская экология. – 2009. – №4 (25).– С.68 – 69.
13. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. – М.: ВНИРО, 1995. – 219 с.
14. Сивак К.В., Стосман К.И., Рассоха Т.А. и др. Профилактика аутосенсibilизации, обусловленной воздействием солей ртути в эксперименте // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.В. Мечникова. – 2008. – № 1. – С.84–87.
15. Крупкин А.Б., Ковыгин Г.Ф., Битколов Н.З. и др. Медико-экологические аспекты защиты производственной среды при получении и обработке бериллия и изделий из него. – Санкт - Петербург, 2011. – 456 с.
16. Саноцкий И.В. Проблема отдаленных последствий воздействия экотоксикантов // Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности. – Санкт - Петербург, 2001. – С.5.
17. Reinhild Klein, Michael Schwenk, Douglas M. Templeton. // Pure Appl. Chem. – 2006. –Vol. 78, №. 11. – P. 2155–2168.
18. Toxicological profile for beryllium. U.S. Department of health and human services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. – 2002. – 247 p.

19. Maier L.A., Sawyer R.T., Tinkle L.A. et al. // Eur Respir J.– 2001, №17. – P. 403–415.
20. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – М.: МИА, 2003. – 603 с.
21. Певницкий Л.А. Экологический иммунодефицит: иммуногенетические аспекты его развития и коррекции // Вестник РАМН. –1994. – №4. – С.20–27.
22. Смирнов В.С., Петленко С.В., Сосюкин А.Е. Состояние иммунной системы при остром и хроническом воздействии химических ксенобиотиков // Теоретические и прикладные проблемы клинической токсикологии. – 1999. – С.85-103.
23. Пол У.Е. Иммунология. – М.: Мир, 1988. – Т.3. – 360 с.
24. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999. – 607с.
25. Mosmann T. R., Sad S. // Immunol. Today. – 1996, № 17. – P. 138–146.
26. Romagnani S. // Clin.Immunol.Immunopath. – 1996, № 80. – P. 225–235.
27. Борткевич Л.Г., Суковатых Т.Н., Сапунова Т.А. и др. Синтез цитокинов, индуцированный специфическими аллергенами // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т.1, №2. – С.6.
28. Силков А.Н., Ковалевская-Кучерявенко Т.В., Сенникова С.В. [Цитокины в иммунопатогенезе атопического дерматита](#) // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т.11, №1.– С. 5-10.