

О.В. Попкова, И.В. Кудяева, Л.Б. Маснавијева

МОЛЕКУЛЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЛИЦ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ РТУТЬЮ

ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН (Иркутск)

Цель настоящей работы – изучение уровня молекул межклеточной адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 у лиц, экспонированных ртутью. Все обследованные (88 мужчин в возрасте 31–62 года) были разделены на три группы: лица с диагнозом хроническая ртутная интоксикация в отдаленном постконтактном периоде (1-я группа); лица с впервые установленным профессиональным диагнозом (2-я группа); лица без профессионального заболевания со стажем работы во вредных условиях труда более 5 лет (3-я группа). Определение молекул осуществляли методом иммуноферментного анализа. Уровни sICAM-1 в 1-й и 2-й группах не различались и составили 466,2 и 480,2 нг/мл соответственно, в 3-й группе уровень sICAM-1 – 219,1 нг/мл. Концентрация sVCAM-1 в 1-й, 2-й и 3-й группах соответствовала 337,8, 126,8 и 827,4 нг/мл. Увеличение содержания sVCAM-1, выявленное у стажированных рабочих, свидетельствует об активации эндотелия сосудов. Повышенные уровни sICAM-1 у лиц с хронической ртутной интоксикацией являются звеном патогенеза сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний и/или интоксикации ртутью.

Ключевые слова: хроническое воздействие ртути, хроническая ртутная интоксикация, эндотелиальная дисфункция, воспаление, молекулы межклеточной адгезии, sICAM-1, sVCAM-1

MOLECULES OF INTERCELLULAR ADHESION IN BLOOD SERA OF PERSONS EXPOSED TO MERCURY

O.V. Popkova, I.V. Kudyaeva, L.B. Masnavieva

Eastern Siberian Scientific Center of Human Ecology SB RAMS, Irkutsk

This work is aimed at the determination of the level of molecules of intercellular adhesion of sICAM-1 and sVCAM-1 in the persons exposed to mercury. All the examined persons (88 males of 31–62) were divided into three groups: the persons with the diagnosis of chronic mercury intoxication in the postponed postcontact period (1st group); the persons with the first revealed diagnosis (2nd group); the persons without professional disease working under harmful conditions for more than 5 years. Determination of the molecules was conducted using immune-enzymatic analysis method. The levels of sICAM-1 didn't differ in the 1st and 2nd groups and came to 466,2 and 480,2 ng/ml respectively, the level of sICAM-1 in the 3rd group was 219,1 ng/ml. The sVCAM-1 concentration was 337,8, 126,8 and 827,4 ng/ml in the 1st, 2nd and 3rd group respectively. Increasing sVCAM-1 levels in the workers with long-term work period indicate the activation of endothelial vessel. Increased levels of sICAM-1 in patients with cardiovascular disease are related to the pathogenesis of cardiovascular disease or chronic mercury intoxication.

Key words: chronic exposure to mercury, chronic mercury intoxication, endothelial dysfunction, inflammation, molecules of intercellular adhesion, sICAM-1, sVCAM-1

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания являются причиной ранней инвалидизации и, согласно данным ВОЗ, основной причиной смертности, в том числе трудоспособного населения. Наиболее распространенными заболеваниями сердечно-сосудистой системы у лиц, экспонированных ртутью, являются ишемическая болезнь сердца и артериальная гипертензия, которые встречаются у 36 % стажированных работающих и 77 % пациентов в отдаленном периоде интоксикации ртутью [4]. При этом сосудистые нарушения в виде церебрального атеросклероза сопровождаются и осложняют патогенез токсической энцефалопатии при хронической ртутной интоксикации (ХРИ) [7] и протекают на фоне дислипидемии, формирование которой происходит еще до развития ртутной интоксикации [6]. Учитывая факт поступления техногенной ртути в водоемы, ее накопления в водной экосистеме и наличия повышенной ртутной нагрузки у населения, связанной с потреблением загрязненной токсикантом рыбы [3], можно ожидать увеличение риска развития сердечно-сосудистой патологии и у лиц, не контактирующих в производственной деятельности со ртутью.

Следует учитывать, что в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы одна из ведущих ролей отводится дисфункции эндотелия (ДЭ). В ее развитии существенное значение имеют воспалительные процессы. В связи с этим в настоящее время активно изучаются различные маркеры воспаления эндотелия сосудов, к которым относятся С-реактивный белок, интерлейкины, гомоцистеин и другие показатели [8]. Однако наибольшие перспективы в этом направлении связывают с изучением молекул межклеточной адгезии 1-го типа (sICAM-1) и молекул адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа (sVCAM-1) [1].

С клинической точки зрения, эндотелиальная дисфункция – это синдромокомплекс, характеризующийся систематическим расстройством функции сосудистого русла. В его основе лежит генерализованный дефект во всех механизмах гомеостаза эндотелиально-гладкомышечного альянса сосудов, включающий в себя либо снижение количества оксида азота (NO), либо дисбаланс эндотелий-продуцируемых факторов вазодилатации и вазоконстрикции [2]. Все это создает благоприятную почву для инфильтрации эндотелия липидами, лейкоцитами, формирования

воспаления, в котором эндотелиальные клетки высвобождают медиаторы, молекулы межклеточной и сосудистой адгезии (sICAM-1, sVCAM-1), P- и E-селектины [12]. Существует мнение, что растворимые формы sICAM-1 и sVCAM-1 обнаруживаются в плазме крови в результате их десквамации с поверхности активированных эндотелиальных клеток [14]. При этом их концентрация в крови повышается при воспалительных состояниях, сопровождающихся активацией экспрессии данных молекул на эндотелиальных и других клетках [11]. Учитывая, что при воздействии ртути происходит активация оксидативного стресса, изменения в липидном обмене проатерогенного характера и увеличение уровня провоспалительных цитокинов, сопровождающихся изменением реактивности сосудов [5, 6, 7], можно ожидать при этом развития эндотелиальной дисфункции, активации экспрессии на поверхности эндотелиальных клеток молекул адгезии и их повышенной десквамации в кровяное русло. Данное предположение определило **цель нашего исследования** – изучение уровня молекул межклеточной адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 у лиц, экспонированных ртутью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В условиях клиники Ангарского филиала ФБГУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН были обследованы 88 мужчин в возрасте 31–62 года, контактирующие в профессиональной деятельности с парами металлической ртути. Все обследованные были разделены на три группы. В первую группу вошли 45 человек с диагнозом ХРИ в отдаленном постконтактном периоде (на момент обследования период разобщения с токсикантом составлял более 5 лет), во вторую – лица с впервые установленным диагнозом ХРИ (12 человек), третью группу составил 31 человек со стажем работы во вредных условиях труда более 5 лет (стажированные рабочие), не имеющий профессионального заболевания. Среднегрупповой возраст в 1-й, 2-й и 3-й когортах находился в пределах: 54 (48–56), 48 (43–54) и 48 (40–53) лет соответственно ($p = 0,01$). Диагноз профессионального заболевания и сопутствующей патологии был установлен врачами-профпатологами клиники Ангарского филиала ФБГУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН (главный врач – д.м.н., профессор О.Л. Лахман). Исследования выполнены с информированного согласия обследуемых и соответствуют этическим нормам Хельсинкской декларации (2000) и Приказа Минздрава РФ № 266 (от 19.06.2003).

Забор крови производили в утренние часы с помощью вакуумных систем. Сыворотку отделяли от клеточных элементов, аликвотировали, замораживали и хранили при -70°C до проведения исследований. Количественное определение растворимых молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 осуществляли методом иммуноферментного анализа на ИФА-ридере (BioTek, США), используя соответствующие тест-системы «BenderMedSystems» (Австрия).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для проверки нулевой гипотезы об отсутствии различий между исследуемыми независи-

мыми группами проводили сравнение групп в ANOVA Краскела – Уоллиса (различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$). Последующие попарные сравнения групп осуществляли с использованием непараметрического U-критерия Mann – Whitney, применяя поправку Бонферрони при оценке значения p . В этом случае различия считали статистически значимыми при $p < 0,017$. Результаты представлены в виде средних медианы (Med), верхнего (Q25) и нижнего (Q75) квартилей. Относительная частота встречаемости признака приведена с указанием границ 95% доверительного интервала (ДИ). В качестве t -критерия использовали значение 1,96.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ литературных данных позволил определить, что концентрация sICAM-1 в сыворотке крови здоровых лиц разных популяций составляет 150–500 нг/мл, sVCAM-1 – 300–1000 нг/мл [10, 15]. В результате проведенных нами исследований было установлено, что в общей выборке обследованных лиц, экспонированных ртутью (88 человек), уровень молекул адгезии sICAM-1 находился в пределах 384,9 (230,8–519,8) нг/мл, sVCAM-1 – 719,0 (121,9–1031,1) нг/мл. Содержание молекул адгезии sICAM-1 в группе с ХРИ и с впервые установленным диагнозом ХРИ практически не различалось и составило 466,2 (375,5–536,2) и 480,2 (422,6–538,3) нг/мл соответственно (рис. 1). В когорте стажированных работающих средний уровень sICAM-1 был ниже концентрации данных показателей в первых двух группах – 219,1 (176,5–292,0) нг/мл ($p = 0,00$). Уровень sVCAM-1 статистически значимо различался между группами ($p = 0,04$) и составил 337,8 (79,7–1477,8), 126,8 (40,1–871,3) и 827,4 (636,3–934,1) нг/мл в 1-й, 2-й и 3-й группах соответственно.

Необходимо отметить, что в когортах пациентов с ХРИ доля обследованных с концентрацией sICAM-1, превышающей верхнюю границу контрольных значений (500 нг/мл), составила в 1-й группе – 40,0 % [ДИ 23,5–56,5], во 2-й группе – 41,7 % [ДИ 5,6–77,8], и отличалась от таковой в 3-й группе – 6,5 % [ДИ 5,3–18,3]. При этом у стажированных работающих встречались низкие концентрации sICAM-1 (ниже 150 нг/мл), частота которых составила 19,4 % [ДИ 2,3–36,5]. Среди обследованных 1-й группы сниженные уровни данного анализа отмечались у 2,2 % [ДИ 0,1–8,7] и отсутствовали во 2-й группе. Можно предположить, что уменьшение уровня sICAM-1 в крови является отражением нормальной реакции эндотелия сосудов, в связи с тем, что данные молекулы практически не выявляются на покоящемся эндотелии.

Установленная среднегрупповая концентрация sVCAM-1 во всех когортах обследованных соответствовала контрольным значениям. В то же время среди пациентов с диагнозом профзаболевания доля лиц с пониженным уровнем данного анализа (меньше 300 нг/мл) была в 15–19 раз выше, чем в группе стажированных работающих (3,2 % [ДИ 0,1–12,6]) и составила 46,7 % [ДИ 29,9–63,5] и 58,3 % [ДИ 22,2–94,4] в 1-й и 2-й группах соответственно. Следует отметить, что уровень sVCAM-1, превышающий

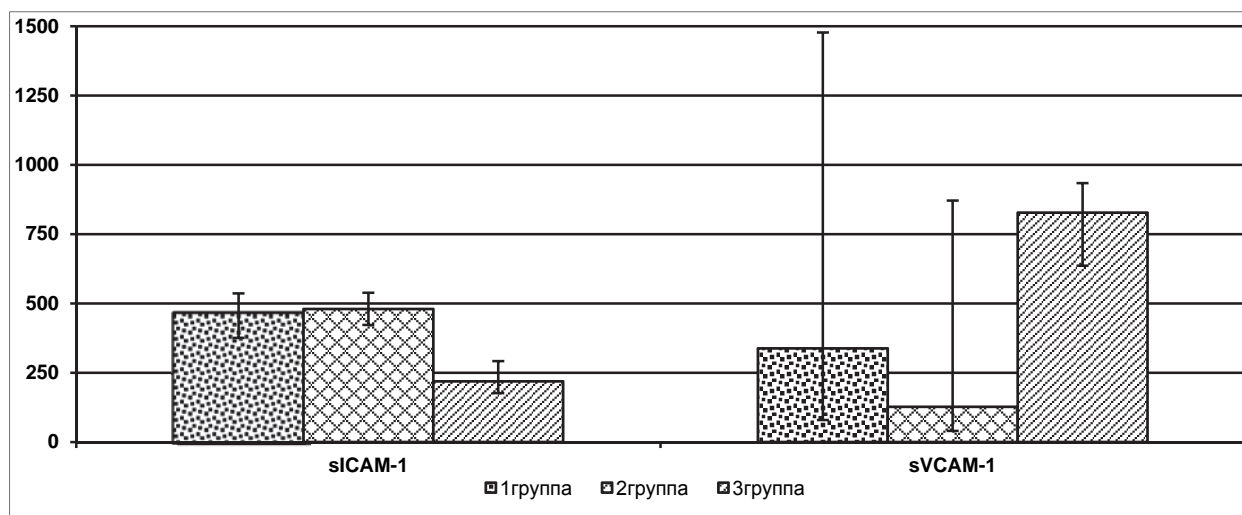


Рис. 1. Содержание молекул межклеточной адгезии у лиц, экспонированных ртутью. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильных отрезков.

контрольные значения (1000 нг/мл), встречался у 19,4 % [ДИ 2,3–36,5] обследованных 3-й группы. А доля лиц с ХРИ, имеющих повышение уровня sVCAM-1 выше контрольного, составила 35,6 % [ДИ 19,4–51,8] в 1-й группе и 25 % [ДИ 7,7–57,7] – во 2-й группе.

Известно, что экспрессия sVCAM-1 на поверхности эндотелиальных клеток увеличивается при действии различных факторов, приводящих к их активации (увеличение напряжения линейного сдвига в определенном участке артерии, выделения и накопления окисленных липидов и липопротеидов и других биологически активных веществ, таких, как эндотелин-1, СРБ, антитензиноген-1 и т.д.). Ранее было выявлено, что как у стажированных работающих в условиях контакта с ртутью, так и у пациентов с диагнозом ХРИ отмечается повышение в сыворотке крови концентрации эндотелина-1 и СРБ на фоне наличия признаков оксидативного стресса и проатерогенных нарушений [5, 6, 9]. Отмеченные изменения могут играть роль в активации процессов ДЭ и, тем самым, оказывать влияние на изменение уровня молекул межклеточной адгезии в сыворотке крови. Помимо этого, известно, что экспрессия данных лигандов также модулируется уровнем эндотелиального NO [16], функция которого заключается в подавлении экспрессии sVCAM-1, sICAM-1 и E-селектина [13]. Снижение уровня NO, отмечаемое в том числе у лиц, экспонированных ртутью [5], приводит к патологической активации эндотелиальных клеток. А последующее выделение ими растворимых молекул адгезии в плазму крови, следовательно, может служить маркером либо эндотелиальной дисфункции, либо сосудистого воспаления с активацией эндотелиальных клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Увеличение концентрации sVCAM-1 в сыворотке крови у стажированных работающих свидетельствует об активации эндотелия сосудов и развитии воспалительной реакции, связанной с начальными стадиями

формирования дисфункции эндотелия. Данный факт подтверждается повышением концентрации sICAM-1 у лиц с диагнозом ХРИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вельков В.В. Часть 2 Куда идешь, лабораторная диагностика: Что делать с новыми биомаркерами? // Клиниколабораторный консилиум. – 2011. – Т. 38, № 2. – С. 38–42.
2. Власов Т.Д. Механизмы гуморальной регуляции сосудистого тонуса, часть 1 // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2002. – Т. 1, № 3. – С. 68–77.
3. Ефимова Н.В., Рукавишников В.С. Медико-экологическая оценка ртутной опасности для населения Иркутской области // Гигиена и санитария. – 2001. – № 3. – С. 19–21.
4. Катаманова Е.В. Нарушения функциональной активности мозга при профессиональном воздействии нейротоксикантов: автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Иркутск, 2012. – 47 с.
5. Кудяева И.В. Роль оксидативного стресса в патогенезе профессиональных заболеваний, возникших от воздействия токсических веществ // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – № 1. – С. 253.
6. Кудяева И.В., Бударина Л.А., Маснабиева Л.Б. Закономерности нарушений биохимических процессов при воздействии нейротоксичных веществ различной природы // Медицина труда и промышленная экология. – 2008. – № 8. – С. 7–11.
7. Лахман О.Л., Катаманова Е.В., Русанова Д.В. и др. Клиника, диагностика нарушений в отдаленном периоде профессиональных нейроинтоксикаций: учеб. пос. – Иркутск: РИО ИГИУВа, 2010. – 72 с.
8. Никитина В.В., Захарова Н.Б., Гладких Г.П. и др. Значение молекулярных маркеров в диагностике сосудистой патологии // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 9. – С. 456–461.
9. Попкова О.В., Кудяева И.В., Маснабиева Л.Б. Некоторые подходы к определению дисфункции эндотелия при профессиональных заболеваниях

токсической этиологии // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2012. – № 4. – С. 45–47.

10. Deneva-Koycheva T.I., Vladimirova-Kitova L.G., Angelova E.A., Tsvetkova T.Z. Serum levels of sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, sP-selectin in healthy Bulgarian people // FoliaMed. (Plovdiv). – 2011. – Vol. 53, N 2. – P. 22–28.

11. Hatchell D.L., Wilson C.A., Saloupis P. Neutrophils plug capillaries in acute experimental retinal ischemia // Microvasc. Res. – 1994. – Vol. 47. – P. 344–354.

12. Khan Z.A., Chakrabarti S. Cellular signaling and potential new treatment targets in diabetic retinopathy // Exp. Diabetes Res. – 2007. – Vol. 54, N 6. – P. 31867.

13. Lee S.K., Kim J.H., Yang W.S., Kim S.B. et al. Exogenous nitric oxide inhibits VCAM-1 expression in human

peritoneal mesothelial cells. Role of cyclic GMP and NF-kappaB // Nephron. – 2002. – Vol. 90. – P. 447–454.

14. Limb G.A., Hickman-Casey J., Hollifield R.D., Chignell A.H. Vascular adhesion molecules in vitreous from eyes with proliferative diabetic retinopathy // Invest Ophthalmol. Vis. Sci. – 1999. – Vol. 40. – P. 2453–2457.

15. Miles E.A., Thies F., Wallace F.A., Powell J.R. et al. Influence of age and dietary fish oil on plasma soluble adhesion molecule concentrations // Clin. Sci. (Lond). – 2001. – Vol. 100, N 1. – P. 91–100.

16. Spiecker M., Darius H., Kaboth K., Hubner F. et al. Differential regulation of endothelial cell adhesion molecule expression by nitric oxide donors and antioxidants // Journal of Leukocyte Biology. – 1998. – Vol. 63. – P. 732–739.

Сведения об авторах

Попкова Ольга Вячеславовна – младший научный сотрудник лаборатории биохимии Ангарского филиала ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН (665827, г. Ангарск, а/я 1170; тел.: 8 (3955) 55-40-86; e-mail: angprovolga@mail.ru)

Кудаева Ирина Валерьевна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая клинико-диагностической лаборатории, руководитель лаборатории биохимии Ангарского филиала ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН (665827, г. Ангарск, а/я 1170; тел.: 8 (3955) 55-96-63; e-mail: kudaeva_irina@mail.ru)

Маснавиева Людмила Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии Ангарского филиала ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН (665827, г. Ангарск, а/я 1170; тел.: 8 (3955) 55-40-86; e-mail: masnavieva_luda@mail.ru)