

О.Н. Герасименко, Л.А. Шпагина, В.М.Чернышев, Е.Л. Потеряева, В.В. Власенко,
Д.Д. Цырендоржиев

ДИАГНОСТИКА СОСУДИСТЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ВИБРАЦИОННОЙ БОЛЕЗНИ НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ ЛЕЙКОЦИТАРНО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ

Новосибирская государственная медицинская академия, г. Новосибирск

Представлены патогенетические механизмы формирования микроангиопатий при вибрационной болезни (ВБ). Уточнены лейкоцитарно-эндотелиальные взаимодействия в формировании сосудистой дисфункции от воздействия локальных вибраций. Предложены дополнительные методы диагностики сосудистых нарушений у больных с вибрационной патологией.

Ключевые слова: *вибрационные микроангиопатии, окислительный метаболизм нейтрофилов, эндотелиальная дисфункция.*

O.N. Gerasimenko, L.A. Shpagina, V.M. Tchernyshov, E.L. Poteryaeva, V.V. Vlasenko, D.D. Tsirendorzhiyev.
Studying leucocyte-endothelial mechanisms for diagnosis of vascular disorders in vibration disease. The article presents pathogenetic mechanisms of microangiopathy development in vibration disease. The authors specified leucocyte-endothelial interactions in vascular dysfunction caused by local vibrations, suggested additional methods to diagnose vascular disorders in vibration disease patients.

Keywords: *vibration microangiopathy, leucocyte oxidative metabolism, endothelial dysfunction.*

В структуре профессиональных заболеваний вибрационная патология занимает ведущее место и наносит существенный социально-экономический и медицинский ущерб обществу. Проблема сосудис-

тых нарушений при ВБ является одной из ведущих в области медицины труда и общей клиники. Вибрационные микроангиопатии представляют собой адекватную модель для изучения микроциркулятор-

ных расстройств, поскольку в клинике заболевания нарушения периферического кровообращения и микрососудов являются наиболее яркими и специфичными [1]. Микроциркуляторные нарушения доказаны не только в клинике, но и экспериментально на животных, подвергающихся воздействию вибраций различных параметров. В механизмах развития вибрационных ангиопатий важное значение имеют синдром высокой липопероксидации, тканевая гипоксия, ранние нарушения сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, изменения нейрогормональной регуляции сосудистого тонуса [5]. В последние годы большое значение уделяется патогенетически обоснованным, лейкоцитарным механизмам эндотелиальной дисфункции при различных формах сосудистой патологии [2]. Вместе с тем практически отсутствуют работы по изучению лейкоцитарно-эндотелиальных механизмов развития ВБ.

На основе изучения патогенетической роли лейкоцитарно-эндотелиальных взаимодействий в формировании микроангиопатии актуальным является оптимизация диагностики сосудистых нарушений при ВБ с включением современных, научно обоснованных методов.

Материалы и методики.

Проведено комплексное исследование 107 больных ВБ I степени тяжести от воздействия локальных вибраций. Все обследованные — мужчины, рабочие крупного предприятия самолетостроения г. Новосибирска. Средний возраст больных составил $47,02 \pm 0,58$ года. Группу сравнения составили 23 практически здоровых мужчины, работающих на том же предприятии вне контакта с вибрацией, средний возраст рабочих составил $45,41 \pm 1,51$ года. Профессиональный состав обследованных больных: сборщики-клепальщики — 87 человек, слесари механосборочных работ — 20 человек. Стаж виброопасной работы больных ВБ в среднем по группе составил $20,06 \pm 0,87$ года. При этом продолжительность контакта с вибрацией до 15 лет определена у 21 больного ВБ и от 16 до 30 лет у 86 человек. Все больные ВБ были на момент первичной диагностики (40 человек) в послеконтактном периоде от 1 до 3 лет, из них рационально трудоустроенных (43 человека), или продолжали контактировать с вибрацией (24 человека). Верификация сосудистых нарушений при ВБ осуществлялась на основе капилляроскопии лимба, ногтевого ложа, адреналиновой пробы, реовазографии и доплераграфии сосудов верхних и нижних конечностей). Из исследования исключались больные с острыми или обострениями хронических воспалительных заболеваний, с сопутствующей патологией сердечно-сосудистой, бронхолегочной системы.

Характеристика условий труда. При клепально- и механосборочных работах основным неблагоприятным фактором является локальная вибрация ударного и вращательного типа. Продолжительность контакта с вибрацией в течение рабочего дня у сборщиков-клепальщиков в среднем составила

52,3 % (от 15 до 60 %) с использованием нескольких типов ручных машин ударного действия (КМП-5, 6, 21, 31, дрели). Вибрационные параметры основных пневмоинструментов, используемых клепальщиками, превышали санитарные нормы на 2—15 дБ в октавных полосах со среднегеометрическими частотами 16, 63, 125 и 250 Гц. Средняя внутрисменная нагрузка вибрацией у слесарей механосборочных работ составила 27,2 % рабочего времени с использованием пневмоинструментов вращательного действия — пневматические шкурочувальные машины и дрели (ИП-2009-А, ИП-2201, ИП-2003, ИП-2014) в среднегеометрических частотах октавных полос 63 и 125 Гц. Наиболее высокие уровни виброскорости, превышающие предельно-допустимые значения до 14 дБ, отмечены при выполнении технологических операций по «зачистке сварочных швов». Дополнительными неблагоприятными факторами у рабочих был шум, превышающий предельно допустимые уровни при работе пневмоинструментов на 5—20 дБ в зависимости от характера операций, места их выполнения и физическое напряжение мышечно-суставного аппарата верхних конечностей.

Специальные методы исследования.

1. Метод изучения окислительно-метаболической функции полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЛ). Для оценки способности нейтрофилов крови нарабатывать активные метаболиты кислорода (АМК) использовали люминолазависимый хемилуминесцентный метод (Топо-Ока et al., 1979; Цырендоржиев Д.Д. с соавт., 1992).

2. Методы определения прооксидантной активности сыворотки крови. Для оценки совокупной активности сывороточных факторов, прямирующих нейтрофилы, изучали общую лейкоцитмодулирующую активность (ЛМА) крови хемилуминесцентным способом [4] путем добавления исследуемой сыворотки к интактным нейтрофилам здоровых лиц. Содержание эндогенных изомеров токоферола в сыворотке крови определялось хроматографическим способом [8]. Концентрацию гомологов токоферола в сыворотке крови определяли по величине амплитуды пиков, полученных на хроматограмме в пересчете на стандарт, и выражали в мг%.

3. Методы изучения функционального состояния эндотелия. Оценка интенсивности продукции NO проводилась с помощью определения нитритов в крови спектрофотометрическим способом [9]. Определение фактора Виллебранда (ФВ) в плазме крови проводилось по количественному методу (Evans, Osten в модификации Архиповой Б.Ф., Баркагана Л.З., Марамзиной Л.В., 1982).

Результаты исследования.

В клинической картине больных ВБ в 100 % случаев присутствовал периферический ангиодистонический синдром верхних конечностей с приступами акроангиоспазмов (95,3 %) или без них (4,7 %), который в 30 % случаев сочетался с синдромом вегетативно-сенсорной полиневропатии верхних конеч-

Показатели ХЛ-ответа нейтрофилов крови больных ВБ

Показатель ХЛ	Больные ВБ, n = 107	Контроль, n = 20
Средняя светимость с-ХЛ (имп/мин/нф.)	0,038 ± 0,002*	0,016 ± 0,007
Средняя светимость и-ХЛ (имп/мин/нф.)	0,072 ± 0,012*	0,048 ± 0,008
ИС (ус. ед.)	1,94 ± 0,134*	3,0 ± 0,113

Здесь и в табл. 2: * Различия достоверны относительно контроля ($p < 0,05$), n — количество исследованных лиц в группах.

ностей. Нарушения капиллярного кровообращения, по данным капилляроскопии ногтевого ложа, имели место практически у всех обследованных. В 84 % случаев выявлены изменения по типу капиллярспазма, характеризующиеся бледностью и мутностью фона, укорочением капилляров (форма «запятых», «точек»), сужением артериального колена, плохой видимостью кровотока, его прерывистостью. У части больных (14 %) изменения капиллярного кровообращения носили характер спастико-атонии, проявляющейся мутностью фона, повышенной извитостью сосудов, особенно венозного колена, деформацией в виде клубочков, извитых штопоров. У отдельных больных (2 %) наблюдался штрих-пунктирный кровоток. Исследования капилляров конъюнктивы у больных ВБ показало сужение артериального колена с уменьшением количества капиллярных петель лимба до 5—7 в поле зрения, извитость венулярных стволов.

При исследовании периферического кровообращения дистальных отделов верхних конечностей у больных ВБ методом реовазографии выявлены изменения в 100 % случаев. Так, отмечено повышение сосудистого тонуса в 83,3 %, а снижение — в 16,3 % случаев. Кровенаполнение сосудов у больных ВБ в 43,9 % было снижено, в 26,1 % обнаружено повышение пульсового кровенаполнения. Географический индекс сосудов предплечий в среднем по группе снижен и составил справа 0,48 ± 0,08, слева — 0,46 ± 0,08, что соответственно в 2,1 и 2,2 раза достоверно ниже контрольных значений. Во всех наблюдаемых случаях по данным реовазограмм зарегистрировано затруднение венозного оттока. Дополнительно у 23 больных проведено доплерографическое исследование магистральных сосудов верхних конечностей. Во всех случаях выявлено повышение сосудистого тонуса, признаки ангиодистонии. Индекс резистентности сосудов (ИР) в среднем составил 0,85 ± 0,02 и 0,82 ± 0,02, что в 1,4 и 1,3 раза достоверно выше контрольных значений.

Метаболический профиль нейтрофила изменяется при различных нарушениях структурного гомеостаза. Доказана важная роль ПМА в развитии сосудистых нарушений при различных заболеваниях [2].

Для выяснения влияния хронического воздействия вибрации на состояние системных ПМА и продуцируемых ими АМК, проводилось изучение функционально-метаболической активности нейтрофилов крови и их реактивной способности.

Результаты ХЛ-анализа у больных ВБ в среднем по группе выявили умеренную активацию исходного окислительного метаболизма нейтрофилов крови. Так, показатели ХЛ нейтрофилов по результатам средней светимости спонтанной-ХЛ составили 0,038 ± 0,002 имп/мин/нф., что достоверно в 2,4 раза выше контрольного значения. Средняя светимость индуцированной-ХЛ у больных ВБ в среднем составила 0,072 ± 0,012 имп/мин/нф., что достоверно в 1,5 раза выше контрольного показателя.

При этом индекс стимуляции (ИС) в среднем составил 1,9 ± 0,134, что достоверно в 1,6 раза ниже реактивного потенциала нейтрофилов крови в контрольной группе (табл. 1). Анализ показателей ХЛ-ответа нейтрофилов крови не выявил достоверных различий в группах больных ВБ в зависимости от профессии и стажа виброопасной работы.

В то же время изменения окислительного метаболизма нейтрофилов сохраняются в послеcontactном периоде (рис. 1). Так, показатели ХЛ-анализа в группе 1, больных на момент первичной диагностики и группе 2, больных ВБ, рационально трудоустроенных достоверно не отличались между собой. Ухудшение окислительного метаболизма ПМА крови отмечено у больных ВБ, продолжающих контакт с вибрацией. Так, в группе 3, больных ВБ, продолжающих контакт с вибрацией, показатели исходной активности нейтрофилов по результатам с-ХЛ в среднем составили 0,043 ± 0,003 имп/мин/нф., что в 1,3 раза выше, чем у больных на момент первичной диагностики, в группе 1. Индекс стимуляции в группе 3 в среднем составил 1,43 ± 0,21 что достоверно в 1,5 раза меньше, чем в группе 1.

К числу потенциальных индукторов, подготавливающих нейтрофилы к «метаболическому взрыву» в ответ на стимул, относят многие сывороточные факторы, в том числе активные фракции ком-

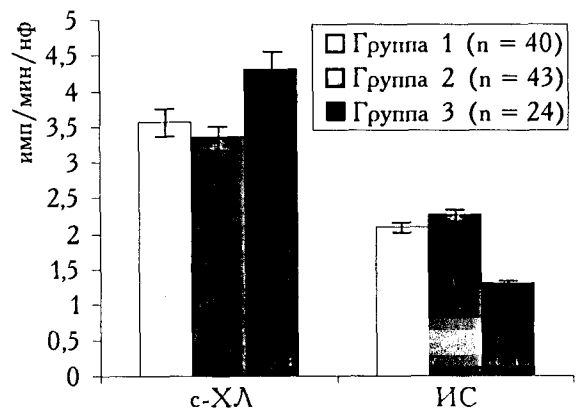


Рис. 1. Показатели ХЛ-ответа ПМА крови у больных ВБ

плементы, эйкозаноиды (прежде всего лейкотриены), кинины, фактор активации тромбоцитов и флогогенные медиаторы, такие, как интерлейкины-1, -6, -8 и фактор некроза опухоли (ФНО-а) [6]. О флогогенности сыворотки можно судить по общей ЛМА, которая определялась добавлением исследуемой сыворотки к интактным нейтрофилам здоровых лиц [7].

Изучение ЛМА сыворотки крови проведено у 20 здоровых мужчин-доноров (контроль) и у 30 больных ВБ, средняя продолжительность контакта с вибрацией $-20,8 \pm 1,56$ года; профессиональный состав — однороден, представлен сборщиками-клепальщиками; все больные ВБ были на момент первичной диагностики. В проведенном исследовании за 1,0 усл.единицу были приняты показатели спонтанного ХЛ-ответа тест-системы (лейковзвесь доноров). При добавлении исследуемой сыворотки к тест-системе оценивалось состояние ЛМА.

ЛМА сыворотки контрольной группы в среднем составила $0,21 \pm 0,001$ усл. ед. и в 4,8 раза тормозила продукцию АМК нейтрофилами тестируемой лейкоцели. ЛМА сыворотки крови больных ВБ в среднем составила $1,54 \pm 0,137$ усл. ед. При этом сыворотка крови больных ВБ в отличие от контроля не только не ингибировала, а напротив, достоверно усиливала продукцию АМК нейтрофилами тест-системы в 1,54 раза. Анализ результатов показал стимулирующее действие сыворотки крови больных ВБ на нейтрофилы тест-системы. Получено достоверное повышение в 7,3 раза ЛМА сыворотки крови больных ВБ относительно контроля.

Массивная продукция нейтрофилами АМК приводит к ослаблению антиоксидантной защиты клеток и, в частности, неферментативного звена — системы токоферола. Регуляторные влияния антиоксидантных систем в первую очередь осуществляются на уровне активных форм кислорода. Ранние исследования по изучению антиоксидантного статуса у больных ВБ показали угнетение ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы. Так, было показано снижение а-токоферола у больных ВБ [5]. Интересным представлялось изучение других гомологов токоферола: ТФ-ац (ацетатная форма токоферола), сигма-токоферол (5-ТФ). Гипотетически предполагалась возможность компенсаторного роста других изомеров токоферола. Изучение изоформ ТФ в сыворотке крови проводилось у 20 здоровых мужчин-доноров (контроль) и у 51 больного ВБ, продолжительность контакта с вибрацией в среднем по группе составила $20,91 \pm 1,56$ года; профессиональный состав больных ВБ представлен сборщиками-клепальщиками и слесарями механосборочных; все больные ВБ были на момент первичной диагностики (табл. 2). В группе больных ВБ содержание а-ТФ в сыворотке крови в среднем по группе составило $0,72 \pm 0,107$ мг%, что достоверно в 1,6 раза ниже контрольного значения. Содержание 5-ТФ в сы-

воротке крови больных ВБ в среднем по группе составило $0,12 \pm 0,011$ мг%, что достоверно в 2,3 раза меньше, чем в контрольной группе. Концентрация ТФ-ац в сыворотке крови больных ВБ в среднем по группе составила $0,22 \pm 0,025$ мг%, что достоверно в 1,7 раза ниже контрольного значения. Сравнительный анализ показателей окислительного метаболизма нейтрофилов с прооксидантной и антиоксидантной активностью сыворотки крови больных ВБ выявил прямые и обратные корреляционные связи между изучаемыми значениями. Так, средняя светимость спонтанного и индуцированного ХЛ-ответа нейтрофилов достоверно положительно коррелировала с ЛМА ($r = +0,54$ и $r = +0,52$ соответственно). Кроме того, повышенная ЛМА сыворотки крови больных ВБ достоверно обратно коррелирует с уровнем сигма- и альфа-токоферола ($r = -0,54$ и $r = -0,52$ соответственно).

Одним из сывороточных факторов, примиряющих нейтрофилы, являются цитокины типа ИЛ-1 ρ и ФНО-а [3]. Изучение цитокиновой активности сыворотки крови проводилось у 20 здоровых мужчин-доноров (контроль) и у 25 больных ВБ, средний возраст больных — $47,4 \pm 1,37$ года; продолжительность контакта с вибрацией в среднем по группе составила $22,8 \pm 1,56$ года; профессиональный состав больных ВБ был однороден и представлен сборщиками-клепальщиками; все больные ВБ были на момент первичной диагностики.

У больных ВБ выявлено повышение цитокиновой активности в сыворотке крови (рис. 2). Так, в группе больных ВБ уровень ФНО-а в среднем составил $48,35 \pm 3,83$ пкг/мл, что достоверно, в

Т а б л и ц а 2
Содержание изомеров токоферола в сыворотке крови больных ВБ

Показатель АОС	Больные ВБ, n = 51	Контроль, n = 20
α-ТФ, мг%	$0,72 \pm 0,107^*$	$1,16 \pm 0,03$
δ-ТФ, мг%	$0,12 \pm 0,011^*$	$0,27 \pm 0,05$
ТФ-ац, мг%	$0,22 \pm 0,025^*$	$0,37 \pm 0,023$

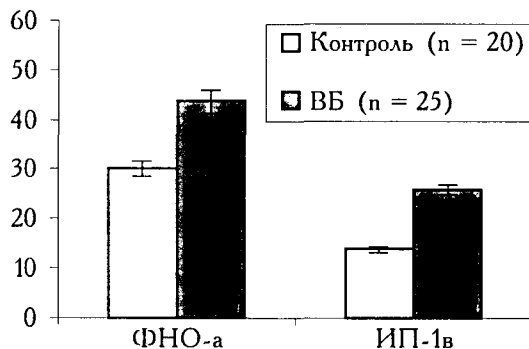


Рис. 2. Содержание цитокинов у больных ВБ

1,6 раза выше контрольного значения. Содержание ИЛ-1 β в сыворотке крови больных ВБ в среднем по группе составил $25,51 \pm 3,57$, что достоверно, в 1,9 раза превышало контрольный показатель. Доказано, что цитокины и, в частности ФНО- α , а также АМК, вырабатываемые нейтрофилами, способны непосредственно повреждать эндотелиоциты [10]. В связи с этим представлялось интересным изучить содержание лейкоцитарных факторов в зависимости от функционального состояния эндотелия.

Изучение эндотелиального фактора релаксации (NO) и фактора Виллебранда (ФВ) проводилось у 20 здоровых мужчин-доноров (контроль) и у 48 больных ВБ. Продолжительность контакта с вибрацией в среднем по группе составила $23,18 \pm 0,76$ года. Профессиональный состав представлен сборщиками-клепальщиками и слесарями механосборочных работ. Все больные ВБ были на момент первичной диагностики. Содержание NO в сыворотке крови больных ВБ составило $67,01 \pm 4,82$ мкг/мл, что достоверно в 1,6 раза ниже контрольного значения. Концентрация ФВ в плазме крови больных ВБ в среднем по группе составила $125,41 \pm 6,42$ %, что достоверно, в 1,5 раза превышало контрольный уровень. При этом эндотелиальные показатели у больных ВБ внутри группы одинаково нарушены (не получено достоверных отличий в различных группах в зависимости от профессии).

Проведенный сравнительный анализ определил корреляционные связи некоторых лейкоцитарно-эндотелиальных (Л-Э) показателей. Так, NO достоверно обратно коррелирует с показателем средней светимости с-ХЛ-ответа нейтрофилов, цитокинами ФНО- α и ИЛ-1 β ($r = -0,59, r = -0,58$ и $r = -0,52$ соответственно). Показана достоверно положительная корреляция между ФВ и ФНО- α ($r = +0,61$). Представлены достоверно отрицательные корреляционные связи реовазографического индекса со средней светимостью с-ХЛ-ответа нейтрофилов и ФВ ($r = -0,57$ и $r = -0,54$ соответственно) и положительная связь с NO ($r = +0,56$). Индекс резистентности сосудов верхних конечностей (по данным доплерографического исследования) имеет достоверно положительные корреляционные связи со средней светимостью с-ХЛ-ответа нейтрофилов и ФВ

($r = +0,58$ и $r = +0,53$ соответственно) и отрицательную связь с NO ($r = -0,54$) (рис. 3).

Выводы. 1. В патогенезе сосудистых нарушений при вибрационной болезни от воздействия локальных вибраций важное значение имеют изменения окислительного метаболизма полиморфно-ядерных лейкоцитов, усиление прооксидантной и цитокиновой активности сыворотки крови, депрессия системы токоферола, эндотелиальная дисфункция. 2. При вибрационной болезни определяется увеличение цитокинов в сыворотке крови, достоверно коррелирующее с эндотелиальными факторами: окисью азота и фактором Виллебранда. 3. В качестве дополнительного критерия к диагностике вибрационной болезни и выраженности сосудистых нарушений рекомендуется включить методы по оценке исходного метаболизма нейтрофилов и их реактивного потенциала (определение средней светимости спонтанного хемилюминесцентного ответа нейтрофилов и индекса стимуляции). 4. В комплекс обследования больных вибрационной болезнью рекомендуется включить метод по оценке эндотелиального показателя NO в сыворотке крови, тесно коррелирующего с реовазографическим индексом и индексом резистентности сосудов, что позволит определять более ранние критерии сосудистых нарушений. 5. Определение уровня эндогенных изомеров токоферола в сыворотке крови больных может найти применение при оценке эффективности комплексной терапии вибрационной болезни, в том числе антиоксидательной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артамонова В.Г., Колесова Е.Б., Кускова Л.В., Швалев О.В. // Мед. труда. — 1999. — № 2. — С. 1—4.
2. Маянский Д.Н. // Успехи соврем. биол. — 1988. — Т. 106. — С. 290—307.
3. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. — Новосибирск: Наука, 1989, 2-е изд.
4. Маянский Д.П., Цырендоржиев Д.Д., Макарова О.П. с соавт. Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. Ч. 2. Определение биоцидности лейкоцитов: Методические рекомендации. — Новосибирск, 1996.
5. Потеряева Е.А. Вибрационные ангиопатии: патогенез, клинко-морфологические особенности и лечение (клинко-экспериментальное исследование). Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — Новосибирск, 1999.
6. Bautista A.P., Schuler A., Spolarics Z., Spitzer J.J. // Amer. J. Physiol. — 1992. — Vol. 261. — P. 891—895.
7. Blackburn G.F., Shah H.P., Kenten J.H. et al. // Clin.Chem. — 1991. — 37. — P. 534—539.

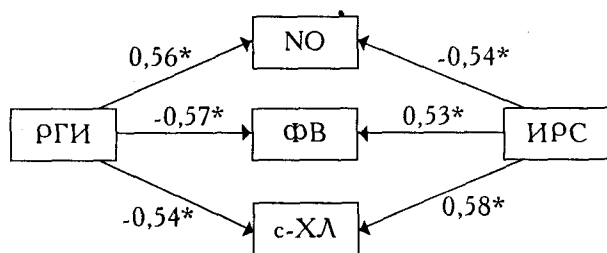


Рис. 3. Корреляционный анализ лейкоцитарно-эндотелиальных показателей и РГИ, ИРС при ВБ

8. *Guesta S., Santa-Grus M.* // *J. Chromatography, Biomedical Applications.* — 1986. — Vol. 380. — P. 140—144.

9. *Ignarro L.J., Bug G.M., Wood K.S., Byrns R.E.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1987. — Vol. 84. — P. 9265—9269.

10. *Lefer D.J., Ma X.L., Lefer A.M.* // *Methods Findings in Experimental Clinical Pharmacol.* — 1993. — 15 (9). — P. 617—622.

Поступила 06.12.04