

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Л.Д. Олесова, Г.Е. Миронова, Д.К. Гармаева

**БИОХИМИЧЕСКАЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ
ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЫЛИ,
ВЫДЕЛЯЕМОЙ ПРИ РУЧНОЙ ОГРАНКЕ
АЛМАЗОВ, НА ОРГАНИЗМ
(экспериментальное исследование)**

Цель исследования. Оценка влияния пыли, выделяемой при обработке алмазов, на состояние перекисного окисления и иммунной ткани у экспериментальных животных.

Материал и методы. Исследован биоматериал 80 крыс-самцов линии "Wistar", помещенных на 30 суток в цех огранки алмазов. Интенсивность перекисного окисления липидов и показатели антиоксидантного статуса определены спектрофотометрическим методом, фагоцитарная активность лейкоцитов - с помощью НСТ-теста. Морфологический анализ выполнен методом светоптической микроскопии. Химический состав пылесметов определен атомно-эмиссионным методом с индуктивно-связанной плазмой.

Результаты. Интенсивность перекисного окисления липидов у экспериментальных животных была достоверно выше в 1,7 раза, чем у интактных животных. Активность СОД имела тенденцию к понижению, а концентрация низкомолекулярных антиоксидантов - к повышению. Морфофункциональный анализ и НСТ-тест свидетельствуют о подавлении функциональной активности иммунных структур трахеи и бронхов всех генераций и подавлении неспецифического клеточного иммунитета.

Заключение. Экспериментальные исследования свидетельствуют о неблагоприятном воздействии алмазной пыли на состояние иммунной и антиоксидантной защиты организма животных (крыс). Цитотоксичность алмазной пыли на организм обусловлена составом аэрозолей, образующихся из алмазных наночастиц и карбидов тяжелых металлов.

Ключевые слова: алмазная пыль, экспериментальные животные, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, иммунная ткань.

The purpose of research. An estimation of influence of the dust allocated at processing of diamonds on a peroxide oxidation condition and an immune fabric in the experimental animals.

Material and methods. The biomaterial of 80 he-rats of a line "Wistar", placed on 30 days in workshop of a facet of diamonds is investigated. The lipid peroxide oxidation intensity and parameters of antioxidant status are defined by a spectrophotometric method. Phagocytic activity of leukocytes is certified by means of NBT- test. The morphological analysis is held by a method of a lightoptical microscopy. The chemical compound of the dustsweeps is certified by the atom-emissive method with an inductive connected plasma.

Results. Lipid peroxide oxidation intensity in the experimental animals was authentically higher in 1,7 times, than in the intact animals. SOD activity tended to decrease, and concentration of lowmolecular antioxidants - to increase. The morphofunctional analysis and NBT - test testify to suppression of functional activity of immune structures of trachea and bronchial tubes of all generations and suppression of nonspecific cellular immunity.

The conclusion. Experimental researches testify to adverse influence of a diamond dust on a condition of immune and antioxidatic protection of an organism of animals (rats). Diamond dust cytotoxicity on an organism is caused by structure of the aerosols formed from diamond nanoparticles and carbides of heavy metals.

Keywords: a diamond dust, experimental animals, lipid peroxide oxidation, antioxidatic protection, an immune fabric.

В числе приоритетных направлений государственной политики в области охраны здоровья населения в связи с прогрессирующим снижением трудовых ресурсов особое место занимают вопросы здоровья работающего населения. Одним из ведущих факторов риска для здоровья являются неблагоприятные условия труда, что обуславливает высокий уровень профессиональной заболеваемости [5].

Развитие в Республике Саха (Якутия) алмазодобывающей промыш-

ленности связано с интенсивным развитием алмазообрабатывающего производства. В настоящее время в республике действует более 20 алмазогранильных заводов, в которых согласно переписи 2002 г. занято 1290 чел. Углубленное медицинское обследование работников гранильного завода «Аврора-Диамант» в г. Якутске показало, что среди огранщиков ведущее место в структуре заболеваемости занимают болезни верхних дыхательных путей: атрофический ринит, фарингит, тонзиллит, хронический бронхит [4,7]. По данным санитарно-эпидемиологической службы, в рабочих цехах концентрация пыли, образующейся при огранке алмазов, превышает предельно допустимые нормы. Вопросы влияния этой пыли

на состояние здоровья огранщиков, также как и ее химический состав, остаются малоизученными.

Дальнейшее развитие алмазогранильного производства с увеличением контингента работающих определило актуальность данной работы.

Целью настоящего исследования явилась оценка влияния пыли, выделяемой при обработке алмазов, на состояние перекисного окисления и иммунной ткани у экспериментальных животных.

Методы исследования.

В качестве подопытных животных были выбраны 80 крыс-самцов линии «Wistar», массой тела 200 – 240 г, в возрасте 3 – 4 месяца. Выбор животных – крыс-самцов диктовался необходимостью получения стабильных

ОЛЕСОВА Любовь Дыгынвна – зав. лаб. ЯНЦ СО РАМН; МИРОНОВА Галина Егоровна – д.б.н., проф. БГФ ЯГУ, зав. лаб. ЯНЦ СО РАМН; ГАРМАЕВА Дарима Кышектовна – д.м.н., проф. МИ ЯГУ, зав. лаб. ЯНЦ СО РАМН.

результатов, исключая влияние циклических изменений, характерных для организма самок. Кроме того, у этих лабораторных животных патологические реакции протекают значительно быстрее, чем у собак, кошек или кроликов. Широкий диапазон их существования обуславливает сходные реакции различных органов и систем этих животных с реакциями органов и систем человека.

Все эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами проведения работы с использованием экспериментальных животных». Экспериментальные животные были помещены в естественные условия цеха огранки алмазов алмазогранильного завода ЗАО «Аврора-Диамант» и ЗАО «Эрэл» г. Якутска РС(Я). Забор материала осуществляли на 30-е сутки эксперимента.

Антиоксидантный статус оценивали по концентрации содержания низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) и активности супероксиддисмутазы (СОД). Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по накоплению его конечного продукта – малонового диальдегида (МДА). Фагоцитарную активность лейкоцитов, спонтанную и стимулированную опсонизированным зимозаном, определяли с помощью НСТ-теста. Лейкоциты крови выделяли в градиенте фиколла-верографина по общепринятой методике. Функциональное состояние лейкоцитов в экспериментах изменяли, добавляя во взвесь лейкоцитов пыль, образующуюся при обработке алмазов (алмазная пыль).

Для морфологического анализа влияния алмазной пыли на иммунокомпетентную ткань дыхательных путей был использован метод светооптической микроскопии. Подготовка гистологи-

ческих препаратов проходила по общепринятой методике. Материалом гистологического исследования служили ткани трахеи в ее подгортанной области и в области бифуркации, а также ткани правого и левого главных бронхов между бифуркацией трахеи и воротами легких. Бронхи последующих поколений забирали вместе с паренхимой легких.

Химический состав пылесметов определяли атомно-эмиссионным методом с индуктивно-связанной плазмой.

Результаты и обсуждение.

Опытные животные были помещены на рабочих столах огранщиков в непосредственной близости от шлифовальных дисков (рис. 1-2).

Согласно полученным нами данным, воздействие неблагоприятных факторов алмазогранильного производства на организм экспериментальных животных (крыс) изменяло интенсивность процессов перекисного окисления липидов. Уровень МДА у крыс, экспонированных в течение месяца в цехе огранки, был в 1,7 раза выше ($P < 0,05$), чем у интактных крыс ($2,7 \pm 0,2$ и $1,6 \pm 0,3$ нМ/мл соответственно) (рис. 3).

Увеличение концентрации МДА в крови крыс свидетельствует об интенсификации скорости процессов ПОЛ в организме экспериментальных животных. Усиление ПОЛ является свидетельством цитотоксичности пыли, образующейся в процессе огранки алмазов. Полученные нами данные подтверждаются многочисленными публикациями других исследователей, в работах которых изучалось воздействие фиброгенных кварцсодержащих пылей, образующихся в горнодобывающей промышленности [1-3]. Известно, что инициаторами ПОЛ являются активные формы кислорода (АФК) и



Рис. 2. Рабочий стол огранщика

в первую очередь – супероксиданионрадикал. Активность СОД – одного из ключевых ферментов антиоксидантной системы организма у экспонированных в цехах крыс была ниже на 9,2% ($P > 0,05$), чем у интактных животных, что можно интерпретировать как ослабление компенсаторной реакции ферментативного звена антиоксидантной системы (рис. 4).

Возможно, уменьшение активности СОД является следствием прямого ингибирования процессов транскрипции и трансляции солями тяжелых металлов, попадающих в организм с алмазной пылью. Атомно-эмиссионный анализ показал, что в состав пыли, образующейся при обработке алмазов, входит 18 химических элементов, но наибольшую долю в составе пылей занимают металлы: хром, никель, марганец, медь и цинк. Согласно литературным данным, высокопрочный слой на шлифовальные круги для огранки алмазов наносится методом плазменного покрытия при 1500°C , при этом агломерат твердого сплава образуется из частиц карбидов металлов. В литературе имеются сведения, что у рабочих, подвергающихся аэрозольной ингаляции твердых сплавов, развивается диффузный прогрессирующий фиброз легких [8].

Под воздействием алмазной пыли наблюдалась тенденция ($P > 0,05$) к повышению содержания низкомолекулярных антиоксидантов в крови: в опытной группе крыс этот показатель равнялся $0,082 \pm 0,002$, в интактной – $0,073 \pm 0,002$ г·экв/мл (рис. 5).

Вероятно, этот факт связан с адаптивным увеличением биосинтеза эндогенных низкомолекулярных антиоксидантов как ответная компенсаторная реакция организма на негативное влияние алмазной пыли. Ранее нами было показано, что воздействие кварцсодержащей пыли на ранних этапах пневмофиброза вызывает повышение



Рис. 1. Цех огранки алмазов

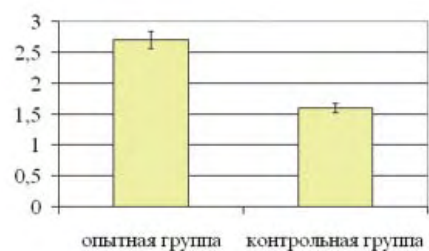


Рис. 3. Уровень МДА у экспериментальных животных

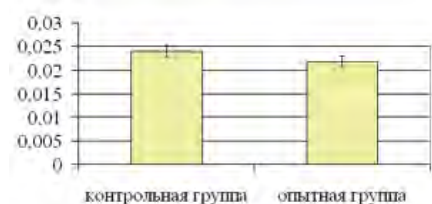


Рис. 4. Средний показатель активности СОД в крови экспериментальных крыс



Рис. 5. Содержание НМАО в крови экспериментальных животных, мМ/гНВ

концентрации аскорбиновой кислоты в тканях легких и крови крыс [6]. Определение функциональной активности фагоцитов с помощью НСТ-теста как наиболее объективный метод, отражающий состояние их кислородзависимых бактерицидных систем, показал, что иммунная система животных под влиянием алмазной пыли ослабевает.

У крыс, экспонированных в течение месяца в цехе огранки, процент НСТ-положительных лейкоцитов уменьшался в спонтанном варианте почти в 1,4 раза, а при стимуляции зимозаном – в 1,2 раза по сравнению с интактными крысами.

Полученные нами данные подтверждают имеющиеся в литературе сведения о том, что патологические изменения, вызываемые фиброгенными пылями, обусловлены их проокислительным влиянием. При контакте пылевой частицы с мембраной фагоцитов (тканевых макрофагов и лейкоцитов крови) происходит «дыхательный взрыв», т.е. чрезмерное потребление кислорода. Практически весь дополнительно потребленный кислород используется не на энергетические или пластические нужды клетки, а для бактерицидной защиты клетки. Особая ферментная система фагоцитов, встроенная во внешнюю клеточную мембрану, НАДФН-оксидаза, изменяет электронную структуру молекулярного кислорода, превращая его в главное оружие бактерицидной защиты – кислородные радикалы [2,3,7,9].

Морфологические данные подтверждают результаты биохимических исследований. На 30-е сутки эксперимента наблюдается выраженная перибронхиальная лимфоцитарная инфильтрация, снижение воздушности ткани легкого, утолщение межалвеолярных перегородок. Перибронхиальные сосуды легких животных расширены, полнокровны, межалвеолярные перегородки утолщены за счет клеточной инфильтрации. В слизистой оболочке гортани, трахеи и бронхов

обнаружены единичные лимфоидные узелки без центров размножения.

В эти сроки (30-е сутки) в иммунной ткани дыхательных путей значительно уменьшается количество лимфоцитов. Число малых лимфоцитов остается достоверно ниже контрольных показателей на всем протяжении стенок дыхательных путей. Наиболее низкое процентное содержание малых лимфоцитов, по сравнению с контролем, выявлено в лимфоидных скоплениях в стенках трахеи (в 1,8-2,6 раза), в диффузной лимфоидной ткани стенок главных бронхов (в 1,5-1,6 раза). В стенках внутрилегочных бронхов число малых лимфоцитов достоверно уменьшается и в диффузной лимфоидной ткани (в среднем в 1,5-2 раза), и в лимфоидных скоплениях (в среднем, в 1,6-1,7 раза). Аналогичную направленность имеет реакция плазматических клеток, характерная для всей лимфоидной ткани стенок трахеи и бронхов всех генераций. Этих клеток достоверно меньше, чем в контроле, в среднем в 1,8 раза. Несколько иная картина наблюдается с процентным содержанием макрофагов, число которых достоверно увеличивается по отношению к контрольным показателям в 6 раз. Причем в лимфоидной ткани бронхов среднего и мелкого калибров обоих легких наблюдается присутствие большого числа макрофагов, нагруженных пылевыми частицами (кониофагов). Кроме того, как по сравнению с контролем (в 10 раз), так и по сравнению с предыдущими сроками опыта (в 1,5 раза) продолжает достоверно увеличиваться число деструктивно измененных клеток, ко-

Содержание (в%) малых лимфоцитов, макрофагов и деструктивно измененных клеток в лимфоидной ткани у крыс контрольной группы животных и у опытных животных, помещенных в условия цеха огранки алмазов на 30-сутки эксперимента ($\bar{X} \pm S_x$) (на примере тканей трахеи)

Клетки		Верхняя часть трахеи				Нижняя часть трахеи			
		Диффузная лимфоидная ткань		Лимфоидные скопления		Диффузная лимфоидная ткань		Лимфоидные скопления	
		Собственная пластинка слизистой оболочки	Подслизистая основа	Подэпителиальная часть	Основание лимфоидных скоплений	Собственная пластинка слизистой оболочки	Подслизистая основа	Подэпителиальная часть	Основание лимфоидных скоплений
Малые лимфоциты	Контрольная группа	31,5±4,43	26,9±4,14	39,8±1,02	41,2±2,13	25,6±2,86	22,5±1,86	42,1±1,73	46,4±4,07
	Опытная группа	27,5±2,40	21,2±3,95	18,3±25,2*	18,8±1,88*	21,2±2,60	20,1±2,40	17,5±1,94*	17,8±2,84*
Макрофаги	Контрольная группа	2,1±0,40	4,7±2,26	5,0±0,43	4,2±1,09	3,3±0,96	1,0±0,83	7,1±0,93	5,1±1,35
	Опытная группа	12,7±1,68*	8,6±3,55	12,6±1,44*	15,5±2,10*	7,8±1,07*	4,6±0,71*	18,7±0,93*	14,1±0,48*
Деструктивно измененные клетки	Контрольная группа	1,5±0,76	0,8±1,03	3,0±0,71	1,5±0,45	2,3±1,27	0,7±1,12	2,5±0,82	1,7±0,48
	Опытная группа	7,7±1,87*	10,6±2,13*	11,7±2,74*	10,4±1,2*	13,0±1,24*	10,6±1,12*	10,2±0,53*	12,8±1,41*

* Достоверность по сравнению с контролем.

торое наиболее выражено как у бронхов мелкого калибра, так и у концевых бронхиол обоих легких (таблица).

Таким образом, полученные нами данные о количественных и качественных изменениях иммунных структур в стенках трахеи и бронхов при длительном воздействии алмазной пыли, выделяемой на этапе ручной огранки алмазов, дают основание утверждать о повреждающем характере данной пыли, подавлении защитных механизмов слизистой оболочки органов дыхания.

Заключение

Проведенные нами экспериментальные исследования свидетельствуют о цитотоксичности пыли, образующейся при огранке алмазов, и неблагоприятном воздействии ее на состояние иммунной и антиоксидантной защиты организма крыс, экспонированных в рабочем цехе алмазогранильных заводов. Ослабление антиоксидантной защиты и статистически достоверное увеличение уровня малонового диальдегида в крови экспериментальных животных подтверждают, что токсичность исследованной нами пыли обусловлена ее прооксидантным действием. Повреждающий характер длительного воздействия алмазной пыли отражают и результаты морфологических данных. Так, комплекс структурных преобразований в лимфоидной ткани слизистой обо-

лочка дыхательных путей свидетельствует о подавлении функциональной активности иммунных структур трахеи и бронхов всех генераций, усилении процессов деструкции клеток, снижении общего числа клеток лимфоидного ряда, клеток с картинами митоза и лимфобластов. Уменьшение процента НСТ-положительных лейкоцитов крови (в спонтанном варианте почти в 1,4 раза, а при стимуляции зимозаном – в 1,2 раза по сравнению с интактными крысами) свидетельствует о подавлении неспецифического клеточного иммунитета.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что пагубное влияние алмазной пыли на организм обусловлено составом аэрозолей, образующихся из алмазных наночастиц и карбидов тяжелых металлов, составляющих высокопрочный слой шлифовальных кругов, используемых для огранки алмазов.

Литература

1. Ватолина О.Е. Исследование активации кислородозависимой бактерицидной системы моноцитов человека и кролика пылью с различной степенью фиброгенности / О.Е. Ватолина, В.А. Гусев // Гигиена труда и проф. забол. – 1990. - №10. - С. 37-39.
2. Величковский Б.Т. Фиброгенные пыли. Особенности строения и механизма биологического действия / Б.Т. Величковский. – Горький: Волго-Вятское кн. изд., 1980. – 159 с.
3. Величковский Б.Т. Экологическая пульмонология (Роль свободнорадикальных процессов) / Б.Т. Величковский. – Екатеринбург, 2003. – 141 с.
4. Гармаева Д.К. К проблеме влияния производственных факторов на здоровье работников алмазогранильной отрасли РС(Я) / Д.К. Гармаева, Ф.А. Захарова, Г.Е. Миронова // Актуальные проблемы охраны труда в Республике Саха (Якутия): Мат-лы межрегион. научно-практич. конф., Якутск, 18 апреля 2006 г. - Якутск, 2006. - С.167
5. Измеров Н.Ф. Здоровье трудоспособного населения / Н.Ф. Измеров // Медицина труда и промышленная экология. - 2005. - №11. - С.3-9.
6. Миронова Г.Е. Влияние различных доз аскорбиновой кислоты на развитие пневмофиброза, вызванное двуокисью кремния / Г.Е. Миронова // Вопросы медицинской химии. – 1991. - №37/5. - С.84-86.
7. Миронова Г.Е. Влияние производственных факторов алмазогранильной отрасли на состояние антиоксидантной и иммунной системы / Г.Е. Миронова, Д.К. Гармаева, А.В. Ефремова // Мат-лы междунар. науч. чтений «Приморские зори – 2007». – Владивосток: Изд-во ТАНЭБ, 2007. - Вып.2. - С. 96-99.
8. Стеллмэн Дж.М. Энциклопедия по охране и безопасности труда. Пер. с англ., 4-е издание / Дж.М. Стеллмэн. - Женева, 1998.
9. Огорокова Л.П. Оценка цитотоксичности алмазной пыли методом хемолюминисценции / Л.П. Огорокова // Якутский мед. журнал. – 2004. - №4(8). – С. 12-15.

Н.С. Рудая

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИХ ЭРОЗИЙ ЖЕЛУДКА: НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА СТАРУЮ ПРОБЛЕМУ

Приведены данные результатов диагностики и лечения 338 пациентов с хроническими эрозиями желудка. Множественные (более 5) эрозии были выявлены у 226 (66,9%), а единичные – у 112 (33,1%) пациентов. Пациенты с множественными эрозиями получали консервативное лечение, включающее ингибиторы протонной помпы, прокинетики, антациды, антихеликобактерную терапию. У пациентов с единичными эрозиями первым этапом проводили аналогичное консервативное лечение. В связи с отсутствием эффекта от консервативного лечения 83 (74,1%) пациентам выполнили эндоскопическую резекцию слизистой с эрозией. Эффективность операции в сроки более 3 лет составила 91,1%. Количество пациентов с признаками воспаления, отека, нейтрофильной или мононуклеарной инфильтрации уменьшилось с 75,9% в ранние сроки после резекции слизистой, до 67,1 и 7,6% в ближайшие и отдаленные сроки соответственно. Полученные непосредственные и отдаленные результаты лечения подтверждают правильность выбранной тактики в терапии хронических эрозий желудка.

Ключевые слова: фиброгастроскопия, хронические эрозии, эндоскопическая резекция слизистой.

Results of diagnostics and treatment of 338 patients with chronic erosion of a stomach are listed. Plural (more than 5) erosions have been revealed in 226 (66,9 %), singular - in 112 (33,1 %) patients. Patients with plural erosions received the conservative treatment including inhibitors of a proton pump, prokinetics, antacids, antihelicobacter - therapy. The patients with singular erosions on the first stage were treated conservatively. Having no effect from conservative treatment to 83 (74,1%) patients endoscopic resection of the eroded mucous was carried out.. Efficiency of operation in more than 3 years period has made 91,1 %. The quantity of patients with attributes of inflammation, edema, neutrophil or mononuclear infiltration has decreased from 75,9 % in early terms after resection of mucous to 67,1

РУДАЯ Наталья Семеновна – к.м.н., с.н.с. НИИ гастроэнтерологии СибГМУ (г. Севск).

and 7,6 % in the nearest and remote terms accordingly. The received direct and remote results of treatment justify chosen tactics in therapy of chronic stomach erosion.

Keywords: fibrogastroscopy, chronic erosion, endoscopic resection of mucous.