ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИКОГЕНА В КЛЕТКАХ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИБРАЦИОННОМ СТРЕССЕ**HISTOCHEMICAL STUDY OF GLYCOGEN CONTENT IN BLOOD CELLS IN CHRONIC VIBRATION-INDUCED STRESS**

ДОЛГУШИН М.В.¹
ВЯЖЕВ А.А.¹
БАЛКАНОВ Л.А.¹
КОВАЛЬ Ю.А.²

DOLGUSHIN M.V.¹
VAZEV A.A.¹
BALKANOV L.A.¹
KOVAL YU.A.²

¹ФГБОУ ВО «Красноярский
государственный медицинский
университет им. проф. В.Ф. Войно-
Ясенецкого» Минздрава России

¹Federal State-Funded Educational
Institution of Higher Education “Prof. V.F.
Voino-Yasensky Krasnoyarsk State Medical
University”

²ФГБОУ «Иркутский государственный
медицинский университет» Минздрава
России

²Federal State-Funded Educational
Institution of Higher Education “Irkutsk State
Medical University”

maxdolg2008@yandex.ru

maxdolg2008@yandex.ru

doi: 10.18411/pivsn-12

idsp: pivsn-12

АННОТАЦИЯ

Исследовали направленность изменения гистохимических показателей на гликоген (ШИК-реакция) в лейкоцитах периферической крови у больных с вибрационной патологией различной степени тяжести. Снижение содержания гликогена имело закономерный характер при прогрессировании вибрационной патологии, а в лимфоцитах наблюдалось вне связи с тяжестью заболевания, но в определённой зависимости от профессиональной специализации обследуемых. Возможно, что отмеченные особенности в изменении содержания гликогена в нейтрофилах и лимфоцитах обусловлены влиянием различных механизмов долгосрочной адаптации к экстремальному воздействию.

Ключевые слова: вибрация, стресс, лейкоциты, гликоген, гистохимия

ABSTRACT

The change trend of the histochemical indices for glycogen (PAS-reaction) in the peripheral blood leucocytes in the patients with the vibration-induced pathology of different severity has been studied. The decrease in the glycogen content in the neutrophils was found to have a regular character in progressing the vibration-induced disease but it was observed to be in the lymphocytes without the correlation to the disease severity degree, although in the defined dependence on the occupational specialization of the patients examined. It is possible that the features observed in the change in the glycogen content in the neutrophils and the lymphocytes may be stipulated by the effects of different mechanisms of the long-standing adaptation to the extreme exposure.

Keywords: vibration, stress, leucocytes, glycogen, histochemistry

ВВЕДЕНИЕ

Реакция организма человека на длительное воздействие производственной вибрации включает комплекс нейрогормональных и нейрососудистых нарушений, имеющих свои особенности в зависимости от степени выраженности вибрационной болезни (ВБ) [1]. При этом очевидно, что периферические и системные сдвиги, вызванные длительным контактом с виброинструментами, способны оказывать влияние на функциональное состояние клеток крови, играющей активную роль в адаптационно-компенсаторных процессах.

Реализация неспецифических механизмов, направленных на сохранение гомеостаза, непременно сопровождается перестройками в состоянии энергетического обмена [2]. Это обстоятельство делает актуальными исследования особенностей энергообеспечения в клетках крови у рабочих с диагнозом ВБ, включая определение уровня гликогена, имеющего существенное значение в качестве легкодоступной резервной формы глюкозы. Гистохимический анализ позволяет без особых затруднений обнаружить гликоген в лейкоцитах, что может быть использовано в ходе клинического наблюдения за лицами, подверженными риску развития профессиональных заболеваний [3, 4, 5, 6]. Однако результаты оценки данного параметра энергетического обмена в клетках крови больных с вибрационной патологией к настоящему времени достаточно слабо представлены в литературе.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

В связи с вышеизложенным нами была поставлена цель: выявить устойчивые тенденции в изменении содержания гликогена в нейтрофилах и лимфоцитах у больных ВБ, входящих в различные профессиональные группы. Выполнение механосборочных работ сопровождается изолированным воздействием вибрации, тогда как горнорабочим помимо контакта с виброинструментами присущи некоторые особенности в условиях труда (включая запылённость и охлаждающий микроклимат), которые способны модулировать метаболические эффекты шумовибрационного фактора [3]. Именно поэтому учёт специфических условий, связанных с профессией обследуемых, позволил бы более обоснованно подойти к заключению о клинико-диагностической значимости внутриклеточных сдвигов в содержании гликогена при ВБ.

Исследование проводилось на базе ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (г. Ангарск). Под наблюдением находились лица с диагнозом ВБ, индуцированной воздействием локальной вибрации ($n=157$), которые были отнесены к различным группам в зависимости от места работы. В число обследуемых входили слесари агрегатно-сборочных цехов одного из промышленных предприятий г. Иркутска ($n=50$) и г. Улан-Удэ ($n=24$), а также горнорабочие из Сахалинской области ($n=46$), Читинской области ($n=21$) и Красноярского края ($n=16$). Кроме того, все первые три вышеуказанные группы лиц были разделены на подгруппы в зависимости от выявленной у них при обследовании тяжести ВБ (I степень или II степень). В качестве контроля ($n=18$) были задействованы рабочие слесарного цеха, не подвергавшиеся воздействию профессиональных вредностей. Параллельная группа сравнения включала рабочих агрегатно-сборочных цехов, подвергавшихся продолжительному влиянию локальной вибрации, но не заболевших ВБ ($n=20$). Взятие мазков крови для гистохимического определения гликогена у больных ВБ из г. Иркутска, а также у лиц, составлявших контрольную группу и группу сравнения, проводили в ходе медицинского осмотра. У всех остальных пациентов мазки крови были взяты при поступлении в клинику ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (г. Ангарск).

Гликоген в лейкоцитах выявляли при помощи ШИК-реакции, предварительно фиксируя мазки в абсолютном этаноле и контролируя специфику реакции амилазой [7]. Ядра клеток докрашивали в течение 20 минут 2%-ным раствором метилового зелёного,

предварительно очищенного хлороформом от примесей метилового фиолетового. Результаты определения уровня гликогена в нейтрофилах выражали в условных единицах среднего цитохимического коэффициента (СЦК) по L. Karlow [7], а в лимфоцитах – в процентах положительно реагирующих клеток. Статистическую оценку достоверности выявленных изменений в значениях цитохимических параметров проводили с использованием U-критерия (Манна-Уитни).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Статистически значимые изменения в содержании гликогена в лейкоцитах были отмечены во всех группах лиц с диагнозом ВБ и по отношению к контролю имели одинаковую направленность – в сторону уменьшения (Таблица). При этом реактивные особенности лейкоцитов, связанные с тяжестью патологии и с профессиональной специализацией обследуемых, были обнаружены при сравнении метаболических сдвигов в различных типах клеток. Снижение уровня гликогена в нейтрофилах проявлялась при прогрессировании ВБ (II степень), вне зависимости от профессии рабочих, контактирующих с виброинструментами. Напротив, аналогичное изменение в лимфоцитах можно считать характерным для начальной стадии заболевания. В подгруппах лиц с диагнозом II степени ВБ уменьшение числа гликогенположительных лимфоцитов в периферической крови было типичным только для горнорабочих, отсутствуя у рабочих агрегатно-сборочных цехов, составляющих группу 3. Кроме того, влияние профессиональной специализации больных ВБ на число лимфоцитов, содержащих гликоген, выражалась в более высоком уровне статистической достоверности изменений этого параметра по отношению к контролю в подгруппах горнорабочих. В том случае, когда длительное воздействие вибрации не приводило к развитию ВБ (группа 2), содержание гликогена снижалось в лимфоцитах, но не в нейтрофилах. В связи с этим сдвиги данного показателя в лимфоцитах относительно группы 2 были выражены крайне слабо (проявляясь лишь у горнорабочих из группы 5 с диагнозом I степени ВБ), а в нейтрофилах по уровню статистической значимости были сходными с изменениями по отношению к контролю.

Таблица 1

Изменение содержания гликогена в лейкоцитах периферической крови после продолжительного воздействия локальной вибрации

Группа	Степень ВБ	Число обследуемых (n)	Гликоген в нейтрофилах (СЦК)	Гликоген в лимфоцитах (%)
1. Контроль	-----	18	1,90 ± 0,01	21,8 ± 2,2
2. Слесари-сборщики без диагноза ВБ	-----	20	1,90 ± 0,01	14,1 ± 1,2*
3. Слесари-сборщики (г. Иркутск)	I ст. II ст.	18 32	1,88 ± 0,01 1,83 ± 0,01***#	15,1 ± 1,5* 18,4 ± 1,3
4. Слесари-сборщики (г. Улан-Удэ)	I ст. II ст.	6 18	1,86 ± 0,03 1,84 ± 0,01***#	12,2 ± 2,2* 13,9 ± 1,8*
5. Горнорабочие (Сахалинская обл.)	I ст. II ст.	6 40	1,89 ± 0,02 1,82 ± 0,01***#	8,4 ± 1,0*** 11,4 ± 1,1**
6. Горнорабочие (Читинская обл.)	II ст.	21	1,83 ± 0,02***#	10,1 ± 1,1**
7. Горнорабочие (Красноярский край)	II ст.	16	1,83 ± 0,01***#	11,2 ± 1,4**

Примечание. Показана достоверность отличия цитохимических показателей у больных ВБ различной степени тяжести по отношению к контролю (* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$), по отношению к группе 2 (работающие с виброинструментами, но без диагноза ВБ, # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$) и к подгруппе обследуемых с I степенью ВБ (\$ - $p < 0,05$).

Обнаруженное нами закономерное снижение содержания гликогена в нейтрофилах может быть обусловлено стабильно выявляемой при выраженных формах ВБ экономизацией функций щитовидной железы [1, 8]. На уровне периферической

крови это проявляется уменьшением концентрации тиреоидных гормонов, способных оказывать заметный стимулирующий эффект на метаболические процессы в нейтрофильных гранулоцитах [9, 10]. Вместе с тем некоторое ослабление (экономизация) функциональной активности щитовидной железы является одним из признаков, сопровождающих переход к стадии резистентности в ходе адаптации организма к хроническим стрессовым нагрузкам [2]. Напротив, изменение уровня гликогена в лимфоцитах, которое, в отличие от нейтрофилов, было закономерным уже для начальных симптомов ВБ, по всей видимости, обусловлено повышенным его расходом и может иметь отношение к реализации более раннего этапа стресс-реакции, связанного с усилением эрготропных (симпатических) влияний. В таком случае есть основание предполагать, что отмена повышенного распада гликогена, выявленная нами в одной из групп обследуемых при прогрессировании ВБ и отмечавшаяся ранее в ходе предыдущего медицинского осмотра на том же предприятии [3], вероятно, является проявлением трофотропного (парасимпатического) эффекта. Как известно, данный регуляторный сдвиг сопровождается повышением уровня гликогена в лимфоцитах [6]. В свою очередь преобладание трофотропного влияния над эрготропным рассматривается в качестве одного из механизмов в динамике долгосрочной адаптации к экстремальным воздействиям [11, 12]. При этом необходимо отметить, что в группе 2 (включающей работающих с виброинструментами без диагноза ВБ) в ходе адаптационного процесса у лиц, контактирующих с виброинструментами 10 и более лет, также могла происходить реализация подобного механизма, препятствующего снижению внутриклеточного содержания гликогена в лимфоцитах. Процент лимфоцитов, реагирующих на гликоген, в данной подгруппе ($n=11$) составлял в среднем $16,3 \pm 1,6$ (не отличаясь достоверно от контроля), статистически достоверное снижение по отношению к контролю процентного числа клеток с положительной реакцией наблюдалось лишь в подгруппе с меньшим стажем работы ($n=9$), составляя в среднем $11,7 \pm 1,2$ ($p < 0,01$). Кроме того, мы посчитали целесообразным сравнить уровень гликогенположительных лимфоцитов в вышеуказанной подгруппе здоровых лиц, проработавших с виброинструментами 10 и более лет ($16,3 \pm 1,6$ %; $n=11$), и у лиц с диагнозом ВБ, поскольку практически у всех обследованных нами больных продолжительность контакта с вибрацией была аналогичной, превышая 9 лет. При таком сравнении также достаточно отчетливо проявлялось влияние профессиональной специфики на изменение в состоянии энергетического обмена лимфоцитов при ВБ: по отношению к подгруппе здоровых лиц со стажем работы более 9 лет достоверное снижение числа лимфоцитов, положительных на гликоген, наблюдалось лишь у горнорабочих, вне зависимости от тяжести клинической симптоматики. Возможно, что, свойственный лимфоцитам горнорабочих более выраженный метаболический ответ, направленный на уменьшение внутриклеточного уровня гликогена (и совершенно не затронутый тенденцией к нормализации при прогрессировании ВБ) обусловлен существенно большей интенсивностью стрессовой нагрузки у данной профессиональной категории обследуемых по сравнению с рабочими агрегатно-сборочных цехов, подвергавшихся изолированному воздействию шумовибрационного фактора.

В последнее время наблюдается повышенный интерес к гематологическим лабораторным тестам в клинике ВБ, что связано с перспективой рассмотрения метаболических изменений в системе крови в качестве дополнительных диагностических признаков ранних и выраженных проявлений патологии [1, 8, 13]. Снижение количественного уровня гликогена, зависящее от клинического статуса лиц, контактирующих с виброинструментами, ранее отмечалось лишь при исследовании реакции нейтрофилов крови у горнорабочих [14], не позволяя соответствующим образом оценить значимость данного внутриклеточного сдвига в патогенезе ВБ. Кроме

того, практически отсутствовали какие-либо сведения об особенностях длительного влияния локальной вибрации на содержание гликогена в лимфоцитах крови, что, безусловно, привлекло наше внимание, наряду с достаточно объективным характером учёта самой цитохимической реакции. Как известно, показатели визуальной оценки содержания гликогена в лимфоцитах коррелируют с количественным определением его уровня методом цитофлюорометрии [15]. Согласно результатам настоящей работы, изменение интенсивности гистохимической реакции на гликоген в лимфоцитах, в отличие от нейтрофилов, не показывает зависимости от клинических проявлений ВБ, но, по всей видимости, отражает интенсивность и продолжительность стрессовой нагрузки. Очевидно, это может иметь значение в оценке неспецифических эффектов, индуцированных производственной вибрацией, а также неблагоприятными природно-климатическими условиями, способными, как было показано ранее, усиливать патогенное действие вибрационного фактора на организм горнорабочих [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, для лейкоцитов периферической крови рабочих с диагнозом ВБ, индуцированной воздействием локальной вибрации, характерно снижение содержания гликогена. Данный метаболический сдвиг, отражающий напряженность в состоянии энергетического обмена, проявляется различным образом в лимфоцитах и нейтрофилах. Пониженный уровень гликогена в лимфоцитах отмечается вне зависимости от тяжести ВБ (у горнорабочих в несколько большей степени, чем у лиц, выполняющих механосборочные работы), тогда как в нейтрофилах – при прогрессировании патологии и вне связи с особенностями профессиональной деятельности обследуемых. Влияние клеточной специфики на реакцию гликогена может иметь отношение к различным механизмам реализации адаптационного процесса при умеренных и умеренно-выраженных симптомах ВБ, наблюдающихся соответственно при первой и второй стадиях заболевания.

Авторы выражают признательность сотрудникам ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (г. Ангарск) за организационную и техническую поддержку при проведении настоящего исследования.

1. Гоголева О.И., Малютина Н.Н. Механизмы нарушения гомеостаза, индуцированного стресс-вибрационным повреждением // Мед. труда. и пром. экол. – 2000. – № 4. – С. 20 – 25.
2. Тигранян Р.А. Гормонально-метаболический статус организма при экстремальных воздействиях. – М.: Наука, 1990. – 288 с.
3. Долгушин М.В. Метаболический статус лимфоцитов периферической крови у рабочих виброопасных профессий // Бюл. Вост.-Сиб. научн. центра СО РАМН. – 2004. – № 4. – С. 27 – 29.
4. Долгушин М.В., Потрохов О.И. Цитохимия лимфоцитов периферической крови в оценке тяжести острой интоксикации продуктами горения // Клин. лаб. диагност. – 2010. – № 10. – С. 17 – 17а.
5. Макарьева И.В., Башарова Г.Р., Салыхова Р.М., Гильманов А.Ж. // Значение цитохимического исследования внутриклеточного метаболизма нейтрофилов в оценке воздействия продуктов хлорорганического производства // Клин. лаб. диагност. – 2004. – № 9. – С. 42 – 43.
6. Татаринова О.М. Цитохимические исследования лейкоцитов периферической крови у лиц, работающих с нитрогликолями // Токсикология, гигиена, профпатология при работе с опасными химическими веществами. Информ. сборник № 1. – СПб., 2007. – С. 88 – 92.
7. Клиническая цитохимия / Под ред. А.В. Ягоды, Н.А. Локтева. – Ставрополь: Изд-во СтГМА, 2005. – 485 с.
8. Кирьяков В.А., Павловская Н.А., Сухова А.В., Антошина Л.И. Современные лабораторные маркеры ранних стадий формирования вибрационной патологии // Вестник Рос. АМН. – 2005. – № 3. – С. 27–29.
9. Бабич Н.О., Антоняк Г.Л., Тымочко М.Ф. Влияние тироксина на активность некоторых ферментов энергетического обмена в миелоидных клетках костного мозга и нейтрофилах крови поросят // Вопр. мед. химии. 2000. – Т. 46, № 2. – С. 162 – 168.
10. Fernandez V., Videla A. On the mechanism of thyroid hormone-induced respiratory burst activity in rat polymorphonuclear leukocytes // Free Radic. Biol. Med. - 1995. – Vol. 19, № 3. – P. 359 – 363.

11. Farrace S., Ferrara M., De Angelis C. et al. Reduced sympathetic outflow and adrenal secretory activity during a 40-day stay in the Antarctic // *Int. J. Psychophysiol.* – 2003. – Vol. 49, № 1. - P. 17 – 27.
12. Horowitz M., Meiri U. Central and peripheral contributions to control of heart rate during heat acclimation // *Pflugers Arch.* – 1993. Vol. 422, № 4. – P. 386 – 392.
13. Kao D.S., Yan J.G., Zhang L.L. et al. Serological tests for diagnosis and staging of hand-arm vibration syndrome // *Hand.* – 2008. – Vol. 3, № 2. - P. 129 – 134.
14. Балан Г.М. Активность некоторых ферментов лейкоцитов крови при вибрационной болезни // *Лаб. дело.* – 1978. – № 9. – С. 528 – 531.
15. Басова И.М., Кудрявцева Л.А. Сравнительная оценка содержания гликогена в лимфоцитах периферической крови крупного рогатого скота в норме и при хроническом лимфоидном лейкозе // *Цитология.* – 1991. – Т. 33, № 2. – С. 85 – 88.
16. Колесов В.Г. Роль природно-климатических факторов в развитии вибрационной патологии и рефлекторных синдромов шейного остеохондроза у горнорабочих // *Региональные экологические проблемы и здоровье населения.* – Ангарск, 1999. – С. 93 – 98.