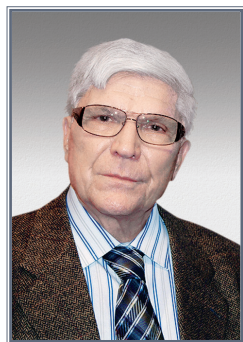


ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКА РАЗВИТИЯ И ПРОГНОЗА ТЕЧЕНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ДЕРМАТОЗОВ

ДИРЕКТОР
НИИ МЕДИЦИНЫ
ТРУДА РАМН
АКАДЕМИК РАМН
Николай Федотович
Измеров



Профессиональная патология кожи до настоящего времени остается одной из важных медицинских и социальных проблем. В настоящее время насчитывается более 90 тыс. химических веществ и около 2 тыс. аллергенов, которые широко применяются в современном производстве. Ведущими из них являются металлы, обладающие сенсибилизирующими свойствами (хром, никель, кобальт). Кроме того, повышенное поступление ионов никеля и его соединений в организм приводит к токсическому эффекту, который сопровождается снижением активности ряда ферментов, активацией процессов липидной перекисидации, нарушением синтеза белка, ДНК, РНК. Широкое распространение на производстве имеют вещества раздражающего действия: цементные растворы, органические растворители, полимерные соединения, аминокислоты, медикаменты и др. Многообразие производственных химических соединений с раздражающими и сенсибилизирующими свойствами, их комплексное воздействие на организм и кожу в сочетании с многочисленными факторами экзо- и эндогенного характера, включая генетически обусловленные особенности метаболизма, приводят к разнообразию клинических проявлений профессиональных дерматозов.

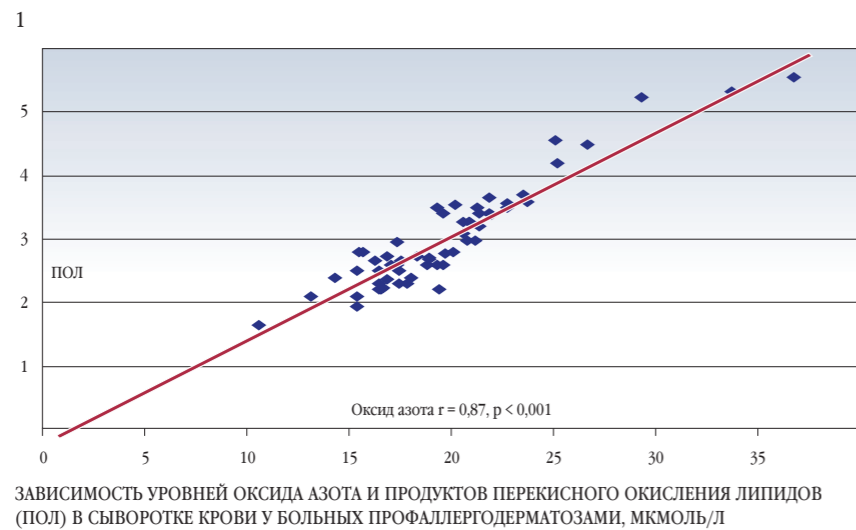
СИСТЕМА «ОКСИДАНТЫ-АНТИОКСИДАНТЫ»

Известно, что накопление продуктов свободнорадикального окисления оказывает повреждающее дей-

ствие на клеточные мембраны, приводя к нарушениям функции иммунокомпетентных клеток, что, в свою очередь, способствует развитию патологических процессов на уровне целостного организма. На современном этапе исследователями обсуждается супероксидная теория патогенеза иммунных расстройств и воспаления.

Высокая реакционная способность активных форм кислорода (АФК) делает их высокотоксичными для биологических систем на всех уровнях, включая молекулярный, клеточный и организменный. Эти высокорекреационные соединения, взаимодействуя с биологическими макромолекулами, являясь причиной нарушения целостности клеточных мембран, усиливают процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), вызывают разрыв нитей ДНК. Указанные процессы вызывают торможение репликации ДНК и, соответственно, угнетение пролиферативной способности в первую очередь быстроделющихся клеток, в том числе и активно пролиферирующих клеток иммунной системы.

Кроме того, высоколабильным, короткоживущим, реактивным свободным радикалом является оксид азота (NO). Как свободный радикал с одним непарным электроном NO способен реагировать с большинством биологических молекул, однако его окислительный потенциал относительно ниже, чем у других свободных радикалов. Соединяясь со свободными кислородными радикалами, NO образует токсичные пероксинитриты, которые вместе с NO окисляют сульфгидрильные группы цитоплазматических белков, протеолипиды, вызывают повреждение ДНК и мутации. Другим механизмом цитотоксичности пероксинитрита служит его взаимодействие с супероксиддисмутазой. Реагируя с ионами металлов, входящих в состав супероксиддисмутаз, пероксинитрит вызывает образование реактивного и высокотоксичного иона нитрозония (NO_2^+), который связывается с фенольными группами и образует нитрофенолы. При этой реакции супероксиддисмутаза (СОД) выполняет роль катализатора нитрирования широкого спектра производных фенола, в том числе тирозинов. Образование нитротирозинов в существенной степени определяет токсичность NO, пос-



колку при инактивации тирозинкиназ не происходит фосфорилирования белков и нарушаются функции цитоплазматических рецепторов.

Резкое усиление окислительных процессов при недостаточной активности системы антиокислительной защиты (АОС) приводит к развитию окислительного стресса, который в настоящее время рассматривается как один из общих механизмов повреждения тканей организма. При этом могут быть задействованы различные звенья системы «оксиданты-антиоксиданты».

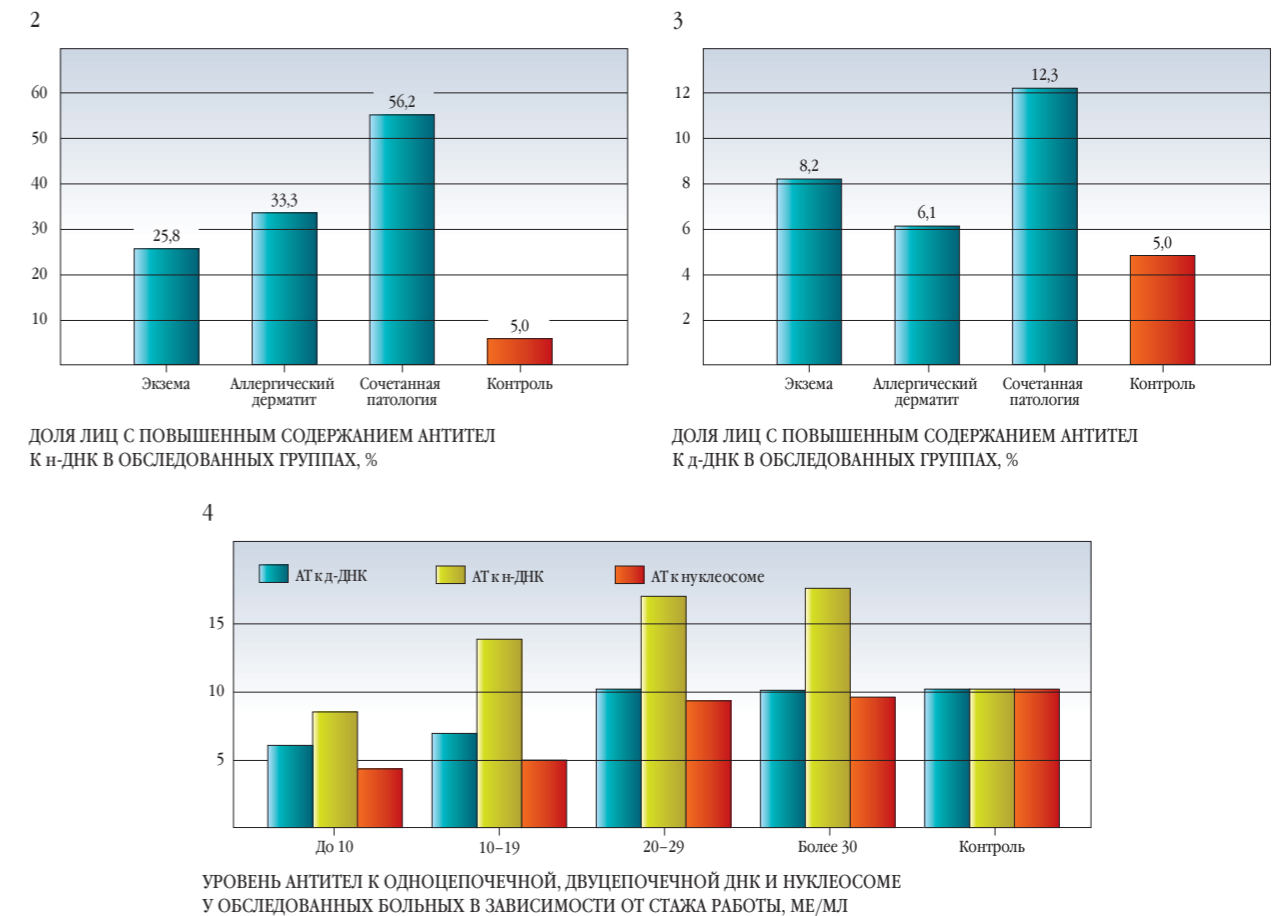
Имеющиеся данные о взаимосвязи процессов ПОЛ с реакциями воспаления и аллергии обуславливают интерес к изучению этих процессов при профаллергодерматозах. Нами было проведено обследование 129 больных (102 женщины и 27 мужчин) профаллергодерматозами. В результате изучения условий их труда было установлено одновременное присутствие на рабочих местах веществ сенсибилизирующего и раздражающего действия. У всех обследованных лиц развивалось поражение кожи аллергического характера (экзема, аллергический дерматит). В связи с этим были выделены следующие группы: больные с профессиональной экземой (97 человек) – 1-я группа; больные профессиональным аллергическим дерматитом (32 человека) – 2-я группа. Основная масса обследованных больных представлена средней и старшей возрастными группами. Обследованные являлись работниками машиностроительного, металлообрабатывающего, строительного производств, имели различные профессии (штукатуры, маляры, токари, машинисты, монтажники, облицовщики-плиточники, формовщики, лаборанты).

Анализ полученных данных выявил у всех обследованных больных гиперактивацию процессов свободнорадикального окисления, характеризующуюся достоверным повышением уровня продуктов ПОЛ. Значительный интерес представляет изучение количественного содержания оксида азота у этих больных. Проведенные исследования выявили достоверное по сравнению с контролем повышение количественного содержания оксида азота в группе больных професс-

ональным аллергическим дерматитом, в то время как в группе больных профессиональной экземой достоверных различий с контролем не обнаружено. При этом уровень оксида азота ($r = 0,87$) коррелировал с повышенным содержанием продуктов ПОЛ (рис. 1). Это дает основание предположить действие оксида азота как свободного радикала у данной группы больных.

В состоянии антиокислительной системы установлено достоверное снижение уровня общей антиокислительной активности. Изменение уровня отдельных антиоксидантов сыворотки крови характеризуется снижением концентрации α -токоферола – главного жирорастворимого антиоксиданта сыворотки крови (на 37% у больных профессиональной экземой и на 31% у больных профессиональным аллергическим дерматитом), а также дефицитом другого жирорастворимого антиоксиданта – ретинола. Оценка функционирования ферментативного звена антиоксидантной системы выявила снижение содержания трансферрина, повышение активности СОД более чем в два раза у больных профаллергодерматозами в сравнении с контрольной группой. По уровню активности каталазы достоверных различий в сравнении с контролем не выявлено. Однако при индивидуальном анализе было установлено, что в группе больных профессиональной экземой 47,4% лиц имели повышенную активность каталазы, 33% – снижение активности данного фермента. В группе лиц с профессиональным аллергическим дерматитом у 37,5% наблюдалось повышение, а у 40,6% – понижение активности каталазы.

Таким образом, гиперактивация процессов свободнорадикального окисления у больных профессиональными аллергодерматозами является проявлением типового патологического процесса. Снижение общей антиокислительной активности сыворотки крови свидетельствует об угнетении антиокислительной системы у данной группы больных. Также угнетено неферментативное звено данной системы. Анализ ферментативного звена выявил угнетение каталазы при прогрессировании патологического процесса (распространенные формы экземы и дерматитов), у высокостажированных



(> 20 лет) больных. Противовоспалительные свойства СОД и ее антирадикальная активность рассматриваются в литературе как важный фактор неспецифической резистентности. Поэтому усиление активности этого антиоксиданта можно рассматривать как компенсаторную реакцию в ответ на усиление окислительных процессов в организме больного. С другой стороны, повышение активности СОД может усугублять патологический процесс, так как активность каталазы у 50–60% больных или снижена, или в пределах физиологической нормы, и таким образом, с избыточным образованием перекиси водорода в реакции дисмутации, катализируемой СОД, она не справляется. Снижение содержания трансферрина свидетельствует о хронизации воспалительного процесса и является плохим прогностическим признаком. Важно подчеркнуть, что у больных профессиональными аллергодерматозами при прогрессировании патологического процесса усиливается степень угнетения, увеличивается вариабельность активности ферментов и нарушается взаимодействие (характер корреляции) между ними как взаимосвязанной системы.

ПРОЦЕССЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК

Учитывая выраженные изменения в системе «оксиданты-антиоксиданты» и обсуждаемый в литературе радикальный механизм повреждения ДНК, в основе кото-

рого лежит способность свободных радикалов вызывать разрывы сахарофосфатных и гликозидных связей в ДНК, представляло интерес исследование активности повреждения ДНК, включая одно- и двуцепочечные разрывы.

У больных профаллергодерматозами наблюдался высокий процент антител к нативной двуспиральной ДНК (н-ДНК). Встречаемость антител к н-ДНК в группе больных профессиональной экземой превышала средние популяционные значения в 5 раз (25,8%; $\chi^2 = 10,4$; $p = 0,001$), в группе больных профессиональным аллергическим дерматитом – в 6,6 раза (33,3%; $\chi^2 = 13,0$; $p < 0,001$), у больных профаллергодерматозами в сочетании с бронхиальной астмой – в 11 раз (56,2%; $\chi^2 = 15,4$; $p < 0,001$) (рис. 2).

Содержание антител к одноцепочечной денатурированной ДНК (д-ДНК) в группе с профессиональной экземой превышало средние популяционные значения в 1,6 раза (8,2%; $\chi^2 = 0,687$; $p = 0,4$), у больных профессиональным аллергическим дерматитом – в 1,2 раза (6,11%; $\chi^2 = 0,001$; $p = 0,97$), у больных профаллергодерматозами в сочетании с бронхиальной астмой – в 2,5 раза (12,3%; $\chi^2 = 0,6$; $p = 0,4$) (рис. 3). Содержание антител к нуклеосоме у всех обследованных больных не отличалось от средних популяционных значений.

Анализ степени повреждения ДНК в зависимости от стажа работы показал последовательное нарастание уровня антител к одно-, двуцепочечной ДНК и нуклеосоме с увеличением стажевой нагрузки (рис. 4), при-



Таблица 1

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ «ОКСИДАНТЫ-АНТИОКСИДАНТЫ»
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА GSTM1

	Генотип GSTM1 +/+	Генотип GSTM1 0/0
ПОЛ, мкмоль/л	2,67 ± 0,10	3,32 ± 0,10*
Общая антиокислительная активность, мЭкв.	39,30 ± 1,10	32,30 ± 0,90*

* p < 0,001.

чем уровень антител к нативной ДНК в группах высокостажированных больных (более 20 лет) достоверно выше контрольных величин и показателей групп больных, представленных малостажированными рабочими (до 20 лет).

Таким образом, изучение процессов повреждения ДНК у больных профаллергодерматозами выявило статистически значимое повышение частоты встречаемости лиц с высоким уровнем антител к нативной двуспиральной ДНК. По литературным данным (Сьяксте Т.Г., 1991), двунитевые разрывы относятся к наиболее тяжелым повреждениям ДНК, которые могут являться летальными для клетки. Появление антител к нативной, денатурированной ДНК и нуклеосоме в крови больных профаллергодерматозами может быть результатом воздействия вредных факторов производственной среды, обладающих прямым токсическим действием на клетки (никель, хром и др.), либо следствием чрезмерного образования продуктов свободнорадикального и перекисного окисления, которые вызывают повреждение ДНК.

ФЕРМЕНТЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ
КСЕНОБИОТИКОВ

Широкий спектр химических агентов оказывает прямое токсическое, аллергическое и раздражающее действие на кожу, провоцируя развитие заболеваний. Идентифицированы также соединения, приобретающие повреждающие свойства уже *in vivo* после активации ферментами биотрансформации ксенобиотиков (ФБК). Биотрансформация ксенобиотиков играет ключевую роль в механизмах адаптации организма к факторам внешней среды. Наиболее важными генами детоксикации, которые заслуживают особого внимания при разработке биомаркеров восприимчивости, являются гены цитохрома P-450, ген глутатионтрансферазы и др.

В представленной работе методом ПЦР-анализа нами была изучена частота гомозиготных носителей делеции гена GSTM1, сопровождающейся полным отсутствием белкового продукта и формирующей нулевой генотип GSTM1 0/0. Система глутатионтрансферазы является важной антиоксидантной системой, которая препятствует образованию и накоплению в организме активных форм кислорода. Глутатионопосредованная детоксикация играет ключевую роль в обеспечении

резистентности клеток к перекисному окислению липидов, свободным радикалам, алкилированию белков и в предотвращении повреждений ДНК.

При анализе результатов распределения частоты гомозигот по нулевому аллелю гена GSTM1 в группе больных профаллергодерматозами в сравнении с контрольной группой статистически достоверных различий получено не было, выявлено достоверное повышение частоты встречаемости нулевого варианта (GSTM1 0/0) в группе больных с сочетанной патологией (профессиональные заболевания кожи и бронхиальная астма) ($\chi^2 = 5,6$; $p < 0,01$). Несмотря на отсутствие статистически значимых различий в группе больных профаллергодерматозами, обращает на себя внимание высокая доля лиц (56,3%), имеющих нулевой генотип, характеризующийся полным отсутствием белкового продукта. В связи с этим был проведен анализ состояния показателей системы «оксиданты-антиоксиданты» в зависимости от генотипа GSTM1.

У носителей нулевого генотипа гена GSTM1 развивается более выраженный дисбаланс в системе «оксиданты-антиоксиданты», чем у носителей генотипа GSTM1 +/-, что выражается в статистически достоверном повышении продуктов ПОЛ и снижении общей антиокислительной активности сыворотки крови (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о том, что генетический полиморфизм GSTM1 влияет на степень выраженности окислительного стресса у больных профаллергодерматозами. Менее выраженные изменения в системе «оксиданты-антиоксиданты» у лиц с генотипом GSTM1 +/- можно рассматривать как реализацию механизмов защитной компенсации при агрессивном воздействии производственных факторов.

Нами была предпринята попытка оценить состояние больных в зависимости от генотипа GSTM1. Полученные данные представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, более тяжелое течение профаллергодерматозов имели лица с полным отсутствием белкового продукта гена GSTM1. Так, 90% лиц с сочетанной патологией (профессиональные заболевания кожи и бронхиальная астма) имели нулевой генотип гена GSTM1. Среди больных с распространенной формой профессиональной экземы 67% лиц имели нулевой генотип (GSTM1 0/0), а среди больных профессиональным аллергическим дерматитом – 56%. При индивидуальном анализе больных с нулевым генотипом было выявлено,

Таблица 2

ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА GSTM1

Группа	Генотип GSTM1 +/+		Генотип GSTM1 0/0	
	абс.	%	абс.	%
Профессиональная экзема	39	43,4	51	56,6
Профессиональный аллергический дерматит	18	60,0	12	40,0
Сочетанная патология (профессиональные заболевания кожи и бронхиальная астма)	1	10,0	9	90,0
Распространенная форма профессиональной экземы	4	33,3	8	66,7
Распространенная форма профессионального аллергического дерматита	7	43,8	9	56,2
Стаж работы на начало заболевания 1–5 лет	45	32,0	94	68,0

что 68% лиц имели раннее начало заболевания (стаж работы на начало заболевания 1–5 лет).

Таким образом, развитие у лиц с нулевым генотипом гена GSTM1 более тяжелых нозологических форм профаллергодерматозов (экзема) с тяжелым клиническим течением (распространенные формы), формирование сочетанной патологии (профессиональные аллергодерматозы и бронхиальная астма), развитие профессиональной патологии кожи даже при небольшом стаже работы во вредных условиях труда (1–5 лет) свидетельствуют о вовлеченности системы GSTM1 в патогенез профаллергодерматозов. Система GSTM1 может являться критерием риска развития профаллергодерматозов, оценки тяжести и прогноза клинического течения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по изучению состояния систем свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты, генетического биохимического полиморфизма и процессов повреждения ДНК свидетельствуют о патогенетической значимости данных систем в развитии профаллергодерматозов. Анализ полученных результатов позволил выявить критерии риска развития и прогноза клинического течения профессиональных аллергических заболеваний кожи. Полученные данные могут являться основой для разработки системы лечебно-профилактических мероприятий с применением антиоксидантной терапии у лиц, работающих на аллергоопасных производствах и больных профессиональными аллергодерматозами.

СТАТЬЯ ПОДГОТОВЛЕНА ПРИ УЧАСТИИ:
ЗАВЕДУЮЩЕЙ ЛАБОРАТОРИЕЙ БИОХИМИИ
И МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ С ГРУППОЙ ИММУНОЛОГИИ
НИИ МЕДИЦИНЫ ТРУДА РАМН Д.Б.Н., ПРОФЕССОРА
Л.П. Кузьминой
ЗАВЕДУЮЩЕЙ КЛИНИЧЕСКИМ ОТДЕЛОМ,
ЗАВЕДУЮЩЕЙ ОТДЕЛЕНИЕМ ДЕРМАТОЛОГИИ
НИИ МЕДИЦИНЫ ТРУДА РАМН Д.М.Н., ПРОФЕССОРА
Н.И. Измеровой
СТ.Н.С. ЛАБОРАТОРИИ БИОХИМИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ С ГРУППОЙ ИММУНОЛОГИИ
НИИ МЕДИЦИНЫ ТРУДА РАМН К.М.Н.
Н.А. Лазарашвили

