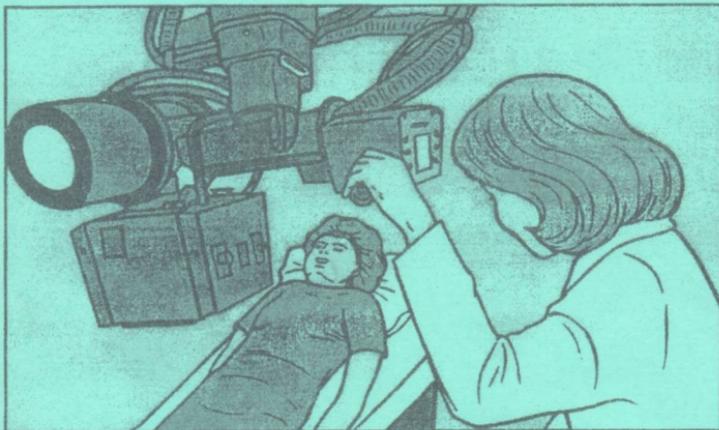




# АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРОФПАТОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ ТРУДА

Сборник материалов  
Республиканского  
научно-практического семинара  
30-31 мая 2002 г.



274914

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

Научно-исследовательский институт экологической  
и профессиональной патологии

Республиканский центр гигиены и эпидемиологии

Научно-исследовательский институт гигиены и санитарии

Белорусская медицинская академия последипломного образования

# **АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРОФПАТОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ ТРУДА**

Сборник материалов  
Республиканского научно-практического семинара  
30-31 мая 2002 г.

Под редакцией Н.Г.Кручинского

Могилев  
МГУ им. А.А. Кулешова  
2002



УДК 612+613.6+613.62+613.644+616.-056.3+616-057(035)+616-097

ББК 51.1(2)2

А43

Редакционная коллегия:

Н.Г. Кручинский, кандидат медицинских наук доцент (главный редактор);

Н.В.Акулич, кандидат биологических наук,

Н.А.Скепьян, доктор медицинских наук профессор,

С.Ф.Федорович, доктор медицинских наук профессор

(заместители главного редактора);

О.И.Всеволодова, кандидат технических наук (ученый секретарь)

Рецензенты:

Доктор медицинских наук профессор И.С.Асаенко;

Доктор биологических наук профессор А.А.Милютин

**Актуальные вопросы профпатологии и медицины труда: Сборник научных трудов / Под ред. Н.Г.Кручинского. – Могилев: МГУ им. А.А. Кулешова, 2002. – 152 с.: ил.**

ISBN 985-6586-74-7.

Настоящий сборник содержит научные труды республиканского научно-практического семинара, посвященного актуальным для республики вопросам профессиональной патологии и медицины труда.

Сборник полемичен по некоторым аспектам затрагиваемых вопросов в области клинической профпатологии, образования, состояния здоровья медицинских работников, оптимальной организации работы службы профпатологии и гигиены труда.

Опубликованные материалы предназначены для медицинских работников и научных сотрудников, занимающихся вопросами медицины труда и профессиональной патологии.

Ответственность за содержание представленных материалов несут их авторы.

УДК 612+613.6+613.62+613.644+616.-056.3+616-057(035)+616-097

ББК 51.1(2)2

2018

ISBN 985-6586-74-7

© Коллектив авторов, 2002

© МГУ им. А.А. Кулешова, 2002

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Акулич Н.В., Кульчицкий С.В. СИСТЕМНЫЕ И МЕСТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МОНОКСИДА АЗОТА .....</b>	<b>7</b>
<b>Асаенок И.С., Борбот А.Ю., Якунин О.А. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВЕННО ОБУСЛОВЛЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ТРАВМАТИЗМА НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ УСЛОВИЙ ТРУДА .....</b>	<b>9</b>
<b>Астапчик А.В. ОБ ОПТИМИЗАЦИИ УСЛОВИЙ ТРУДА И ОХРАНЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ .....</b>	<b>12</b>
<b>Багдонене Тереза. ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ЗДОРОВЬЕ В ЛИТВЕ .....</b>	<b>15</b>
<b>Галиновский С.П., Галиновская Ю.С. ИММУНОЗАВИСИМЫЕ ДЕРМАТОЗЫ В МОГИЛЕВСКОЙ ОБЛАСТИ .....</b>	<b>18</b>
<b>Голуб В.С., Соколов С.М. ПРИОРИТЕТЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МЕДИКО-САНИТАРНОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ РАБОТАЮЩИХ .....</b>	<b>20</b>
<b>Горчаков А.М., Горчакова Ф.Т., Кручинский Н.Г. КЛИНИЧЕСКИЙ И АНТРОПОЭКОЛОГИЧЕСКИЙ БИОМОНИТОРИНГ НА ОСНОВЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА ФАГОЦИТАРНОЙ И СЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ .....</b>	<b>22</b>
<b>Дымова Л.Г., Севастьянов П.В., Чегерова Т.И. КОМПЛЕКСНАЯ МОНОКРИТЕРИАЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ И ЭКОЛОГИИ РЕГИОНА ДЛЯ ПРИНЯТИЯ ОПТИМАЛЬНЫХ УПРАВЛЕНЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ .....</b>	<b>27</b>
<b>Киселев О.П., Горбатовский А.С. О НЕКОТОРЫХ АСПЕКТАХ УСЛОВИЙ ТРУДА И ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ МЕХАНИЗАТОРОВ МОГИЛЕВСКОЙ ОБЛАСТИ .....</b>	<b>29</b>
<b>Клебанов Р.Д., Сиденко А.Т., Шагун Е.В., Внукович О.А. РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ РАБОТАЮЩИХ КАК ПРОБЛЕМА МЕДИЦИНЫ ТРУДА .....</b>	<b>31</b>
<b>Клебанов Р.Д., Казей Э.К. ГИГИЕНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ .....</b>	<b>33</b>
<b>Ключенович В.И. ПУТИ РЕШЕНИЯ АКТУАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ ПРОФПАТОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ ТРУДА .....</b>	<b>34</b>
<b>Коваленко С.Д., Тепляков А.И., Киселев О.П., Петровский А.Н., Кручинский Н.Г. СТРУКТУРА ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ В МОГИЛЕВСКОЙ ОБЛАСТИ .....</b>	<b>36</b>
<b>Конопля Е.Ф., Скепьян Н.А., Морозова А.А., Федорущенко Л.С. НОВЫЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТЫ В ПРОФПАТОЛОГИИ (КАЛЬФОСОРБ) .....</b>	<b>42</b>

<b>Козюкова И.О., Коваленко С.Д., Тепляков А.И., Кручинский Н.Г.</b> КОДИРОВКА ДИАГНОЗОВ ПО МКБ-10 У ПАЦИЕНТОВ С ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ (ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ) .....	46
<b>Косяченко Г.Е.</b> СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ УСЛОВИЙ ТРУДА И ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ РАБОТАЮЩИХ .....	49
<b>Кручинский Н.Г.</b> МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ГЕМОСТИАЗИОПАТИЙ В УСЛОВИЯХ НИЗКОУРОВНЕВОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ .....	52
<b>Кручинский Н.Г.</b> ТЕХНОЛОГИИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ - НОВАЯ ПАРАДИГМА КЛИНИЧЕСКОЙ ПРОФПАТОЛОГИИ .....	65
<b>Кручинский Н.Г., Тепляков А.И.</b> КЛИНИЧЕСКАЯ ПРОФПАТОЛОГИЯ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ НА РУБЕЖЕ ВЕКОВ: КОНЦЕПЦИЯ РАЗВИТИЯ .....	73
<b>Кручинский Н.Г., Теплякова Д.В., Коваленко С.Д., Тепляков А.И., Чегерова Т.И., Кривощек Ю.П., Прокопович А.С., Суслов В.С.</b> СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ, РАБОТАЮЩИХ С ИСТОЧНИКАМИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ .....	76
<b>Кручинский Н.Г., Тепляков А.И., Галиновский С.П., Теплякова Д.В., Чегерова Т.И., Сидорович А.И., Кривощек Ю.П., Бездникова С.В., Коваленко С.Д., Чечура А.И.</b> ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ МОГИЛЕВСКОЙ ОБЛАСТИ .....	80
<b>Кручинский Н.Г., Тепляков А.И., Галиновский С.П., Сосновская Е.Я., Чегерова Т.И., Бездникова С.В., Сидорович А.И., Коваленко С.Д., Кривощек Ю.П., Остапенко В.А.</b> МОДЕЛЬ ДИСПАНСЕРИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ .....	84
<b>Кручинский Н.Г., Гольдинберг Б.М., Прокопович А.С., Чегерова Т.И., Жесткова Е.С., Столин А.Р.</b> ДЕФИЦИТ ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ ДОНОРОВ ПРИ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ДОНАЦИЯХ – ВОЗМОЖНЫЙ ВАРИАНТ РИСКА РАЗВИТИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ .....	92
<b>Мираевский В.И., Чертко Э.Н.</b> ОПТИМИЗАЦИЯ ОРГАНИЗАЦИИ РАБОТЫ МСЧ И ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ ЗДОРОВЬЯ РАБОТАЮЩИХ НА МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ .....	95
<b>Остапенко В.А., Кручинский Н.Г., Коваленко С.Д., Тепляков А.И.</b> КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ПРОФПАТОЛОГИИ – СТРУКТУРНОЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ НИИ: АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ИТОГОВ РАБОТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ .....	99
<b>Остапенко В.А., Тепляков А.И., Прокопович А.С., Чегерова Т.И.</b> ПРОФИЛАКТИКА ИНКОРПОРАЦИИ СВИНЦА В ОРГАНИЗМЕ РАБОЧИХ С ПОМОЩЬЮ ЯБЛОЧНОГО ПЕКТИНА МЕДЕТОПЕКТА .....	101
<b>Павлютина З.Н., Косяченко Г.Е., Зезюля О.Г., Тишкевич Г.И.</b> ПРОФИЛАКТИКА ПРОИЗВОДСТВЕННО ОБУСЛОВЛЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДИ РАБОТАЮЩИХ В ЗОЛЬНЫХ И ДУБИЛЬНЫХ ЦЕХАХ КОЖЕВЕННЫХ КОМБИНАТОВ .....	104

<b>Павлютина З.Н., Мурашко Г.Н., Кусова Л.Н., Тимохина И.А., Харевич Т.В.</b> СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К МЕДИЦИНСКИМ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯМ ДЛЯ ПРИЕМА АБИТУРИЕНТОВ В ВЫСШИЕ УЧЕБНЫЕ ЗВЕДЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ .....	105
<b>Петровский А.Н.</b> ЭНТЕРОСОРБЦИЯ - ЭЛЕМЕНТ СТРАТЕГИИ ВЫЖИВАНИЯ .....	106
<b>Петровский А.Н., Геллер Б.Э.</b> ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ .....	108
<b>Поляков С.М., Кручинский Н.Г., Езерский С.В., Скепьян Н.А., Першай Л.К., Тепляков А.И., Коваленко С.Д.</b> ИНФОРМАТИЗАЦИЯ СЛУЖБЫ ПРОПАТОЛОГИИ: КОНЦЕПЦИЯ, ЦЕЛИ, ЗАДАЧИ И ПОДХОДЫ К РЕАЛИЗАЦИИ ГОСУДАРСТВЕННОГО РЕГИСТРА "ПРОФПАТОЛОГИЯ" .....	110
<b>Прокопович А.С., Чегерова Т.И., Гольдинберг Б.М., Столин А.Р., Жесткова Е.С., Кручинский Н.Г.</b> ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ ГЕМОГЛОБИНООБРАЗОВАНИЯ В ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ – АЛГОРИТМ ПРИМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ .....	113
<b>Ракевич А.В.</b> РАССЛЕДОВАНИЕ, УЧЕТ, РЕГИСТРАЦИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ .....	116
<b>Суслов В.С., Чегерова Т.И., Косинский Ю.В., Кручинский Н.Г.</b> АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ НЕТРУДОСПОСОБНОСТЬЮ НА ОАО "БЕЛАРУСЬРЕЗИНОТЕХНИКА" В ХОДЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ДЕМОНСТРАЦИОННОГО ПРОЕКТА ПРОГРАММЫ "СИНДИ" .....	118
<b>Тепляков А.И., Прищепова Е.В.</b> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНО- ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ИНТЕРФАЗНОГО ХРОМАТИНА ЛИМФОЦИТОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСЛОЖНЕННОГО ТЕЧЕНИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА ПРИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОМ И ЭКОЛОГИЧЕСКОМ НИЗКОУРОВНЕВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ .....	121
<b>Тепляков А.И., Кручинский Н.Г.</b> АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ И МЕЖСИСТЕМНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА ПРИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОМ И ЭКОЛОГИЧЕСКОМ НИЗКОУРОВНЕВОМ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ: ОБЩИЕ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ....	123
<b>Федорович С.В., Арсентьева Н.Л.</b> ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И ПРОФИЛАКТИКА ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ АЛЛЕРГОЗОВ В СТОМАТОЛОГИИ .....	126
<b>Федорович С.В., Арсентьева Н.Л., Пилькевич Р.Н., Максименко А.А., Яковлева Л.Ф., Арсентьева Н.Л., Дойлидо И.Л., Позняк И.С., Кистень И.В.</b> ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ АЛЛЕРГОПАТОЛОГИИ ОТ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ .....	128
<b>Федорович С.В., Богдан Т.В., Яковлева Л.Ф., Пилькевич Р.Н., Максименко А.А., Арсентьева Н.Л., Дойлидо И.Л., Потяк И.С., Кистень И.В.</b> КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РИСКА ИНФЕКЦИОННОГО ФАКТОРА НА ЗДОРОВЬЕ МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА .....	130
<b>Федорович С.В., Скепьян Н.А., Соколов С.М., Арсентьева Н.Л., Валькевич В.П., Яковлева Л.Ф., Пилькевич Р.Н., Застеяская И.А., Салук Ю.В., Максименко А.А., Дойлидо И.Л., Ивко Н.А., Тартачник Ю.В.</b> ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА .....	132

<b>Шевляков В.В.</b> ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ У РАБОТАЮЩИХ В АЛЛЕРГООПАСНЫХ УСЛОВИЯХ ТРУДА .....	139
<b>Шевляков В.В., Ивко Н.А.</b> ПРЕСКРИПТИВНО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ РАБОТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКОГО ФАКТОРА РАЗНОЙ ВЫРАЖЕННОСТИ .....	141
<b>Янушкявичюс ВИДМАНТАС, Обелянис ВИТАУТАС.</b> ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РАБОЧИХ МЕСТ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ НА ПРИМЕРЕ ОДНОЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКИХ БОЛЬНИЦ ЛИТВЫ .....	145
<b>Янушкявичюс ВИДМАНТАС, Телксене РУТА , Лукаускас АЛГИРДАС</b> СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ (СТУДИЙ) В ПОДГОТОВКЕ ВРАЧЕЙ И СПЕЦИАЛИСТОВ ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ .....	147

**А. М. Горчаков, Ф.Т. Горчакова, Н.Г. Кручинский**  
НИИ экологической и профессиональной патологии, г. Могилев

## **КЛИНИЧЕСКИЙ И АНТРОПОЭКОЛОГИЧЕСКИЙ БИОМОНИТОРИНГ НА ОСНОВЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА ФАГОЦИТАРНОЙ И СЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ**

Актуальной проблемой практической иммунологии всегда была и остается необходимость интенсивного исследования иммунного статуса человека в различных ситуациях. Например, известно, что значительная часть болезней человека имеет экологическую и/или производственную (в неблагоприятных условиях труда) обусловленность. Это связано с хроническим воздействием на человеческий организм химически загрязненной воды и воздуха, акустического шума, вибрации, электромагнитных излучений и т.п. [13]. Концептуально все это сформулировано в виде экологической модели медицины, в которой отражена роль иммунологических исследований при данном виде патологии [5]. При этом подразумевается, что производство является замкнутой на себя (закрытой) моделью естественной открытой экосистемы с неблагоприятными для жизнеобеспечения обитающих там живых организмов условиями.

В настоящее время в центре внимания иммунологов оказались нейтрофильные лейкоциты, роль которых в сохранении целостности организма, на наш взгляд, ранее несколько принижалась. Между тем, функции нейтрофилов весьма многообразны - от фагоцитоза до прямого или косвенного участия в воспалительных процессах и регуляции пролиферации клеток различных типов [14].

Фагоцитоз сегодня считают одним из основных критериев иммунного статуса. Он является фундаментальной составляющей иммунной защиты организма. Расстройство фагоцитарных функций существенно ослабляет в организме всю систему его защитных механизмов. Очевидно, это обусловлено тем, что филогенетически фагоцитоз является наиболее древним защитным приспособлением организма, на основе которого эволюционно сформировалась уже вся система иммунной защиты. Возможно по этой же причине нарушение фагоцитарной реакции лейкоцитов происходит раньше других функциональных сдвигов при действии на организм неблагоприятных факторов, особенно эволюционно ему чуждых [6, 10].

Помимо фагоцитоза - одного из проявлений эндоцитоза, - нейтрофильные лейкоциты осуществляют активную секреторную деятельность, которая физиологически протекает в очаге воспаления в виде экзоцитоза [1]. Патологическое проявление секреторной активности тех же нейтрофилов непосредственно в кровяном русле может иметь серьезные негативные последствия для организма. Показано, например, что трансмембранный выброс содержимого гранул, включая лизосомы, нейтрофилов в кровь может инициировать развитие аллергического воспаления [11]. При различных проявлениях патологии в виде ишемии, гипоксии, ацидозе, сепсисе и т.п. в крови повышается содержание лизосомальных гидролитических ферментов ( $\beta$  - глюкоксидазы, кислой фосфатазы, пептидазы, нуклеаз), главным источником которых являются лизосомы нейтрофилов, вызываю-

щих нарушение поверхностных и субклеточных мембран контактирующих клеток. Подобный феномен может запустить целый каскад патологических реакций, протекающих на молекулярно-клеточном уровне [11, 17, 18].

Таким образом, оценка фагоцитарной и секреторной активности нейтрофилов крови может служить ценным диагностическим критерием при лабораторно-клиническом мониторинге состояния здоровья и при массовом иммунологическом скрининге, особенно экологической направленности. Однако, применяющиеся на практике методы оценки функциональной активности нейтрофилов либо чрезмерно громоздки, что не позволяет их эффективно применять при массовых иммунологических исследованиях, либо не дают полноценной информации о функциональном состоянии лейкоцитов. Например, широко распространенный в клинической иммунологии латексный тест оценки фагоцитоза не позволяет анализировать наиболее важную функцию фагоцитов – их переваривающую (бактерицидную) активность. В то же время нельзя не отметить, что некоторые наиболее патогенные микроорганизмы способны персистировать в функционально дефектных фагоцитирующих клетках, разрушать их и входить в новый жизненный цикл с соответствующими последствиями для организма-носителя.

Оценка секреторной активности лейкоцитов в лабораторной практике в основном базируется на достаточно трудоемких биохимических и иммунохимических методах.

В последние годы в медико-биологических и экологических исследованиях стали широко применяться разнообразные методы и техника люминесцентного анализа клеток. Это, прежде всего, разные виды микрофлуориметрии, люминесцентный микроспектральный анализ и люминесцентный анализ видеоизображения клетки (цифровая микроскопия). Люминесцентный анализ не имеет аналогов по чувствительности, поэтому именно этот подход наиболее отвечает целям и задачам биомониторинга, тем более, что принципы метода были уже разработаны нами ранее и апробированы на практике [7, 2, 8, 15].

Основополагающие данные были получены нами при обследовании рабочих завода железобетонных изделий (г. Новополюцк), работающих в условиях сильного (превышающего ПДК) силикатного запыления рабочей зоны. Контрольными группами являлись лица из администрации завода и здоровые добровольцы, не связанные ни с каким производством. Дополнительно были получены данные при мониторинге состояния фагоцитарной системы у некоторых из этих же рабочих, госпитализированных в связи с выявлением у них заболеваний бронхо-легочного аппарата, при проведении курсовой гемосорбции [4, 12]. Для диагностики были применены также и методы люминесцентного анализа иммунокомпетентных клеток крови [3].

В качестве объекта фагоцитоза наиболее удобны обычные живые пекарские дрожжи *S. cerevisiae*. Во-первых, они хорошо дифференцируются под люминесцентным микроскопом при флуорохромировании акридиновым оранжевым (АО) как поглощенные и неоплощенные фагоцитами. Во-вторых, сахаромицеты – одноклеточные грибы, а в мире нарастает число системных микозов, поэтому, помимо оценки фагоцитоза, можно одновременно вывить и потенциальную уязвимость тестируемого лица в отношении микозов. В-третьих, в клеточной стенке сахаромицетов содержится зимозан, что не требует дополнительной опсонизации при выполнении тестов и значительно упрощает постановку фагоцитарной реакции.

Реакцию фагоцитоза проводили следующим образом: 2,0 г сухих дрожжей растворяли в 100,0 мл физиологического раствора в течение 1 часа с помощью магнитной мешалки. Затем раствор выдерживали 30 мин на водяной бане при 25°C и фильтровали через 3-4 слоя марли. После этого разливали по 1,0 мл и замораживали для длительного хранения.

Непосредственно перед постановкой реакции 1,0 мл суспензии размораживали и 3 раза отмывали физиологическим раствором путем центрифугирования при 1000 об/мин по 5 мин. Для приготовления рабочей концентрации дрожжей к 0,1 мл осадка добавляли 9,9 мл физиологического раствора. Затем, после естественной седиментации эритроцитарной массы в пробирке с венозной кровью, у границы раздела эритроцитарной массы и плазмы забирали 0,5 мл плазмы, содержащей все фракции клеток белой крови, и до-

бавляли 0,5 мл 1% суспензии дрожжей. Пробирку встряхивали и центрифугировали 5 мин при 1000 об/мин. После этого инкубировали 40 мин при 37°C.

Для последующего анализа на предметное стекло наносили 50,0 мкл осадка, добавляли к нему 50,0 мкл раствора АО на буфере с pH 7,2-7,4 в концентрации  $2,5 \times 10^{-5}$  М и накрывали покровным стеклом.

Основное исследование проводили на двухканальном мультиволновом микрофлуориметре "Радикал ДМФ – 2М" в двух вариантах. В первом варианте регистрировали интегральную люминесценцию сразу всех поглощенных нейтрофилом дрожжей при приборном зонде размером 0,8 мм и рабочем напряжении на обоих ФЭУ – 1100 В. Оценивали фагоцитарную активность 100 нейтрофилов. Во втором варианте регистрировали люминесценцию каждой отдельной поглощенной дрожжевой частицы также в 100 нейтрофилах, но при зонде 0,4 мм (соответствующем размерам дрожжевой клетки) и напряжении на ФЭУ – 1300 В.

Для контроля регистрировали спектры люминесценции живых нейтрофилов и поглощенных ими дрожжей на микроспектрофлуориметре МСФ – 2М и на этом же приборе проводили анализ их люминесцентного видеоизображения.

У поглощенных дрожжей производили измерение отношения интенсивностей красной и зеленой люминесценции (Y/X) с максимумом полос, соответственно,  $\lambda = 640$  нм и  $\lambda = 530$  нм. Этот параметр (в иной терминологии безразмерный параметр  $\alpha$ ) количественно характеризует, как будет показано ниже, уровень их переваривания. По окончании анализа с помощью компьютерной программы "MICROFLUOR" выстраивали гистограмму распределения значений Y/X. Параллельно рассчитывали еще несколько параметров фазотоза:

- Фагоцитарный индекс (ФИ) – число (%) нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе;
- Фагоцитарное число (ФЧ) – среднее число дрожжей, поглощенных 1 фагоцитом;
- Число активных фагоцитов (АФ) – число (%) фагоцитов, содержащих хотя бы одну активно перевариваемую дрожжевую клетку;
- Индекс переваривания (ИП) – процентное отношение числа активно перевариваемых дрожжевых клеток ко всем поглощенным 100 нейтрофилами.

Для исследования секреторной активности нейтрофилов мазки крови фиксировали в смеси спирт – ацетон (1:1), доводили в спиртовой батарее с понижающейся концентрацией до воды и проводили двойное флуорохромирование водными растворами этидиум бромид ( $10^{-4}$  М) и флуоресцеин изотиоцианата ( $10^{-4}$  М). Популяционному анализу состояния нейтрофилов с помощью двухволновой микрофлуориметрии также предшествовало получение их спектров люминесценции. Измерения проводили при приборном зонде диаметром 0,8 мм и рабочем напряжении на ФЭУ – 1300 В.

Для количественной оценки секреторной активности нейтрофилов нами был введен безразмерный параметр  $\beta$ , характеризующий содержание белковых субстанций в клетке согласно уравнению:

$$\beta = X/Y = I_{540}/I_{610} \approx B \text{ белок}/\text{НК}_2,$$

где B – коэффициент пропорциональности, связанный с доступностью субстрата для флуорохрома, а НК<sub>2</sub> – двухспиральная нуклеиновая кислота (в данном случае – ДНК).

Для практического же использования оказалось более удобным применение обратной величины этого параметра, т.е.  $1/\beta$ . Гистограммы распределения значений этого параметра характеризуют именно секреторную активность популяции нейтрофилов.

Пояснения относительно физико-химической природы использованных параметров приведены ниже.

Первые видимые изменения у поглощенных нейтрофилами дрожжей начинают проявляться через 15 минут после начала инкубации в виде повышения яркости зеленого свечения при флуорохромировании АО. При дальнейшей инкубации зеленая люминесценция поглощенных дрожжей меняется на желтую, а затем на ярко-оранжевую. Эта стадия переваривания протекает в течение 40-45 минут. Весь процесс активного перева-

ривания завершается через 1-1,5 часа полным лизисом поглощенных дрожжей и визуально наблюдается в виде пустых вакуолей. У непоглощенных дрожжевых клеток, включая аттрактированные, и у поглощенных, но неактивными фагоцитами, люминесценция так и остается зеленой. Но, и в активных фагоцитах обычно встречаются дрожжи, находящиеся на разных стадиях переваривания. Это хорошо видно из их спектров люминесценции. Очевидно, это связано с различиями в функциональном состоянии лизосомного аппарата нейтрофилов.

Прежде чем продолжить анализ фагоцитарной активности нейтрофилов в различных ситуациях, необходимо разобраться с вопросом, с чем связано изменение люминесценции у перевариваемых дрожжей. Из модельных экспериментов и исследований различных клеток *in situ* известно, что АО обладает ярко выраженной способностью к метахромазии, т.е. в данном случае давать интенсивную зеленую и красную люминесценцию [7, 9]. Эта особенность АО связана с тем, что этот флуорохром способен существовать в растворе или взаимодействовать с субстратом (в первую очередь с нуклеиновыми кислотами) в форме мономеров, димеров или агрегатов более высокого порядка. Излучение в зеленой области спектра ( $\lambda_{\text{max}} = 530$  нм) характерно для мономеров АО, тогда как его димеры и агрегаты обладают люминесценцией в красной ( $\lambda_{\text{max}} = 640$  нм) области спектра.

Обычно изучаемые клетки содержат 2-спиральные (преимущественно ДНК) и 1-спиральные (РНК, одноплетневые участки ДНК) нуклеиновые кислоты. В низких концентрациях АО будет преимущественно связываться с 2-спиральными нуклеиновыми кислотами, поскольку константа связывания красителя с ними значительно выше таковой с 1-спиральными нуклеиновыми кислотами ( $2,6 \times 10^5$  и  $0,29 \times 10^5$  л/моль<sup>-1</sup> соответственно). Молекулы АО в этих условиях интеркалируют между парами оснований 2-спиральных нуклеиновых кислот, находясь на значительном расстоянии друг от друга (в форме мономеров), и поэтому не способны взаимодействовать между собой. При возбуждении таких молекул они и люминесцируют в зеленой области спектра.

Соотношение интенсивностей красной и зеленой полос излучения окрашенных АО клеток  $\alpha = I_{640} / I_{530}$  может характеризовать разнообразие стороны их жизнедеятельности. В частности, параметр  $\alpha$  может характеризовать жизнеспособность клеток, их биосинтетическую активность или состояние лизосомного аппарата клеток, если флуорохромированию подвергались живые клетки в определенных условиях.

Если исследуемые клетки были предварительно фиксированы (убиты) или специальным образом предварительно обработаны, то параметр  $\alpha$  может характеризовать отношение содержащихся в клетке 1-спиральных нуклеиновых кислот (НК<sub>1</sub>) к 2-спиральным (НК<sub>2</sub>):  $\alpha = I_{640} / I_{530} = A \cdot \text{НК}_1 / \text{НК}_2$ , где  $A$  – коэффициент пропорциональности, связанный с доступностью для красителя нуклеиновых кислот.

Известно, что сам АО в определенных условиях может денатурировать ДНК *in situ*, переводя ее из 2-спиральной в 1-спиральную форму [16]. Очевидно, нарастающее переваривание дрожжевых клеток лизосомными ферментами нейтрофилов дестабилизирует содержащуюся в них ДНК и облегчает ее денатурацию с соответствующим изменением спектра люминесценции таких дрожжей. Не подвергающиеся перевариванию дрожжи сохраняют нативную форму ДНК и, соответственно, зеленую люминесценцию. Поскольку все исследования проводились при одной и той же концентрации АО и никаких признаков биосинтеза РНК мы не наблюдали, то остается полагать, что именно с изменением конформации ДНК связано изменение спектра люминесценции перевариваемых дрожжей.

Одиночные спектры люминесценции поглощенных дрожжей мало что дают для популяционного анализа функционального состояния нейтрофилов. Для этих целей целесообразнее применять двухволновую микрофлуориметрию. Этот вид люминесцентного анализа позволяет выводить на фазовую плоскость в координатах интенсивностей зеленой и красной люминесценции объекта на выбранных диапазонах частот (длинах волн) в виде точки сигналы любого количества клеток различного типа и видовой биологической принадлежности.

Полученные данные показывают, что любое агрессивное воздействие на организм активизирует его фагоцитарную систему, что выражается в любом случае, прежде всего, в повышении поглотительной активности фагоцитов. Однако мы заметили, что всегда повышение поглотительной активности фагоцитов негативным образом отражается на их переваривающей способности (рис. 1).

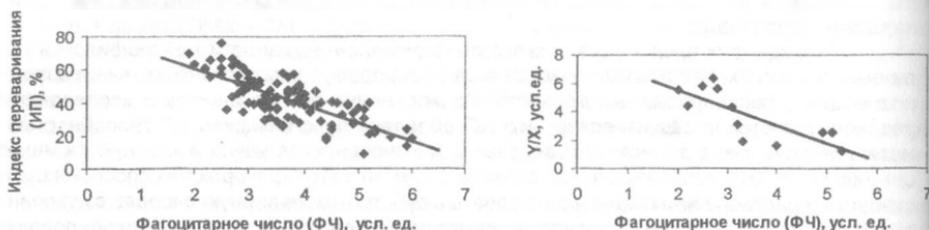


Рис 1. Зависимость переваривающей активности нейтрофилов крови от числа поглощенных дрожжевых частиц *S. cerevisiae*:  
 а) – люминесцентный микроскопический способ анализа;  
 б) – люминесцентный микроспектральный вид анализа.

Такая же тенденция наблюдается и при переходе патологического процесса в хронический. Установлена отрицательная обратная связь между функциональным состоянием лизосомного аппарата (секреторной активностью) и их переваривающей способностью. Курс эфферентной терапии [12] восстанавливает в какой-то степени переваривающую активность фагоцитов.

Таким образом, можно констатировать, что люминесцентный анализ фагоцитарного звена иммунной системы организма может служить надежным критерием его общего состояния при практически любом экстремальном воздействии, включая ползучие или явные экологические катастрофы и любые клинические ситуации.

### Литература

1. Глебов Р.Н. Эндцитоз и экзоцитоз // Биохимия мембран / Под ред. А.А. Болдырева. - М.: Высш. Шк., 1987. - 95 с.
2. Горчаков А.М., Карнаухов В.Н., Меленеч Ю.В., Горчакова Ф.Т. Идентификация патологических состояний на основе люминесцентного анализа иммунокомпетентных клеток крови // Биофизика. - 1999. - Т. 44. - № 3. - С. 550-555.
3. Горчаков А.М., Горчакова Ф.Т. Люминесцентный микроспектральный анализ иммунокомпетентных клеток крови как метод иммунологического скрининга при экологических катастрофах. // В сб.: Пятый республиканский съезд специалистов клинической лабораторной диагностики Беларуси. - Минск, 1997. - С. 167.
4. Горчаков А.М., Остапенко В.А., Горчакова Ф.Т. Дифференциальная диагностика неспецифических заболеваний легких на основе люминесцентного микроспектрального анализа иммунокомпетентных клеток крови. // В кн.: Актуальные проблемы пульмонологии. / Минск, 1995. - С. 147-149.
5. Дильман В.М. Четыре модели медицины. - Л.: Медицина, 1987. - 288 с.
6. Довжанский И.С. Прогнозирование иммунологической недостаточности у рабочих в условиях производства химических волокон. // Деп. ВИНТИ СССР. - 1990. - № 2005-90. - 10 с.
7. Карнаухов В.Н. Спектральный анализ клеток в экологии и охране окружающей среды. - Пуццино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1988. - 124 с.
8. Карнаухова Н.А., Сергиевич Л.А., Татарюнас А.Б., Карнаухов В.Н. Флюоресцентная оценка ядерных клеток крови при экспериментальном инфаркте миокарда // Клини. лаб. диагностика. - 2001. - № 5. - С. 20 - 23.
9. Матвеева Н.П., Ермаков И.П. Использование акридинового оранжевого для микрофлуориметрического изучения хроматина in situ. // Вестник МГУ. - Серия 16: биология. - № 2. - 1982. - С. 29 - 43.

10. Сиденко А.Т. Неспецифическое проявление действия факторов производственной среды на организм работающих // Предпатология: проблемы и решения / Под ред. Соколова С.М и др. – Мн: Бел. Наука, 2000. - С. 484-495.
11. Славинский А.А. и др. Энергопроизводящие системы фагоцитов крови при ревматоидном артрите. // В кн.: Молекулярно-клеточные механизмы иммунной регуляции гомеостаза и проблемы математического моделирования. Красноярск, 1990. – С. 42.
12. Толстая Е.В., Рожков А.П., Горчаков А.М. Влияние гемосорбции на фагоцитарную и бактерицидную активность фагоцитов крови больных с поражениями органов дыхания. // В кн.: Современные вопросы детоксикации. - Андижан, 1988. - С. Ч. 1. – 25 - 26.
13. Филонов В.П. Современное состояние проблемы охраны окружающей среды и здоровья населения в Республике Беларусь // Предпатология: проблемы и решения / Под ред. Соколова С.М и др. – Мн: Бел. наука, 2000. - С. 3-12.
14. Anderson D.C. The role of Phagocytic cells in host defence and Inflammatory Disease // Nutrition. - 1990. - V. 6. - № 16. - P. 5715.
15. Bhaud Y., Salmon J.-M., Vigo J. Analyse d images et cytometrie en flux. // Biol. Cell. – 1990. - V. 70. - P. 1-2.
16. Darzynkiewicz Z., Evenson D., Kapuscinski J., Melamed M.R. Denaturation of RNA and DNA in Situ Induced by Acridine Orange // Exp. Cell Res. – 1983. - V.148. - № 1. - P. 31-46.
17. Doherty P.C. // Cell. - 1993 - V.75. - P. 607 - 612.
18. Weiss S.J. // N. Engl. J. Med. - 1989. - V. 320. - № 6. - P. 365 - 376.