

## ВЛИЯНИЕ НА УСЛОВИЯТА НА ТРУД ВЪРХУ ЛИМФОЦИТНИТЕ ПОПУЛАЦИИ НА РАБОТЕЩИ ЖЕНИ

Емил Славов<sup>1</sup>, Деяна Иванова-Бинева<sup>2</sup>, Красимира Халачева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Катедра по Молекулярна биология, Имунология и Медицинска генетика,  
Медицински Факултет, Тракийски Университет, 6000, Стара Загора

<sup>2</sup> Служба по трудова медицина "СТМ-ЕКСПЕРТ" ООД  
e-mail: [e\\_slav67@mf.uni-sz.bg](mailto:e_slav67@mf.uni-sz.bg)

## EFFECT OF WORKING CONDITIONS UPON THE LYMPHOCYTE SUBSETS OF WORKING WOMEN

Emil Slavov<sup>1</sup>, Deiana Ivanova – Bineva<sup>2</sup>, Krasimira Halacheva<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Department of Molecular Biology, Immunology and Medical Genetics, Faculty of Medicine,  
Trakia University, 6000 Stara Zagora, Bulgaria.

<sup>2</sup>Labour Medicine Service "STM-EXPERT" Ltd.

e-mail: [e\\_slav67@mf.uni-sz.bg](mailto:e_slav67@mf.uni-sz.bg)

### ABSTRACT

A number of factors of working environment affect the normal function of the immune system. We studied the effect of working conditions upon the cellular immunity of 27 working women from the region of Stara Zagora as follow: 9 office workers, 10-working in the chemical industry and 9-working in the food industry. We found no impact of working conditions upon the percentage of B-, T-lymphocytes, NK-cells and NKT-cells. Significantly higher percentage of suppressor T cells(CD8+CD11b+) and lower of cytotoxic T cells (CD8+CD11b-) were detected in workers from chemical and food industries, compared to office workers. These data allow to discuss relationship between shift and night work time organization and the balance of lymphocyte populations studied.

*Key words:* work conditions, lymphocyte populations, suppressor-cytotoxic lymphocytes

За нормалното функциониране на имунната система е необходима специфична регулация и баланс между невроендокринни и хуморални фактори. Нарушението на този дискретен механизъм води до промяна в количеството и функционалната активност на клетките на имунната система и може да бъде предпоставка за развитие на заболявания (5). Развитието на съвременните технологии и въвеждането на нови интензивни форми на организация на производствения процес поставят въпроса за влиянието на условията на труд върху регулацията на имунния отговор.

В литературата съществуват редица данни, разкриващи влиянието на организацията на работния процес върху динамиката на клетките на имунната система (9). Установено е, че прекомерното нервно психическо напрежение, работата в условия на стрес и несигурност водят до понижаване нивото на НК клетките (2), докато позитивните нагласи и наличието на удоволствие от работата се свързва с повишение на НК клетките (8). Стресът като рисков фактор повлиява и други клетъчни популации. Установена е ролята на стреса, като фактор, свързан с понижаване на съотношението CD4/CD8 сред работещи (3). Проучена е и ролята на стреса като фактор, повлияващ понижението на броя на паметовите (CD4+CD45RO+) и супресорно-индусерните (CD4+CD45RA) Т-лимфоцити сред работещи в японски атомни електроцентрали. (6,7). Напоследък все повече се обръща внимание на влиянието на специфичната организация на работния процес, свързана с прекомерно нервно-психическо натоварване и полагане на значителен по обем извънреден труд върху функционалната активност на имунната система (9). Установените промени са обратими и бързо след отпадането на нервно психическото напрежение и стреса се установява възстановяване

нивата на лимфоцитните популации в референтни граници (4). Динамиката в лимфоцитните популации от друга страна е полово и възрастово зависима (3,8,10). Описани са дори промени в клетъчните популации в зависимост от месечния овариален цикъл при жени в репродуктивна възраст.

Така възниква въпроса за влиянието на организацията на работния процес върху регулацията на имунния отговор на работещи жени в репродуктивна възраст и предполага проучване на промените в клетъчните и хуморални имунни механизми. Към момента на проучването не открихме в достъпната литература данни за влиянието на условията на труд върху лимфоцитните популации на работещи жени от Република България. Непрекъснато увеличаващите се репродуктивни проблеми сред работещите жени ни насочи да проучим влиянието на условията на труд и организацията на работния процес върху баланса на основните лимфоцитни популации на работещи жени от региона на Стара Загора.

### **МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**

В проучването бяха включени 27 работещи жени на възраст  $35 \pm 5,4$  години, разпределени в зависимост от работното си място както следва: работа в офис – 9 работещи; работа в предприятия от химическата промишленост – 10 работещи, работа в предприятия от хранително-вкусовата промишленост – 9 работещи. Всички включени в проучването са без анамнестични данни за хронични възпалителни, инфекциозни и автоимунни заболявания и след медицински преглед са установени като клинично здрави, с нормални: кръвна картина, липиден профил и стойности на кръвна захар.

От всички включени в проучването беше взета по 2 мл. периферна венозна кръв с  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ .

До 6 часа след венепункцията кръвта беше имунофенотипизирана на поточен цитометър Beckman Coulter FC500. Чрез петцветен анализ беше изследвана експресията на повърхностно клетъчните молекули CD3, CD4, CD8, CD11b, CD19, CD56 по лимфоцитните популации. Подготовката на пробите беше извършена чрез метода “лизирание без промиване”. Съгласно протокола на производителя към 100  $\mu\text{l}$  периферна венозна кръв бяха прибавени по 10  $\mu\text{l}$  от съответно маркираните моноклонални антители. След 15 мин. инкубация на тъмно пробите бяха лизирани, фиксирани и стабилизиращи на автоматичната станция Coulter TQ-prep, Beckman Coulter.

Статистическият анализ на данните беше извършен на STATISTICA 6. Използван беше Т-тест на Student за независими проби. Установените статистически различия бяха приемани за значими при  $p < 0,05$ .

### **РЕЗУЛТАТИ**

В проучването са включени работещи жени в репродуктивна възраст от три сфери на стопанството. Работещи в офис, работещи в производство от отрасъл химическа промишленост, свързано с производство на полиетилен и работещи в производство от отрасъл хранително-вкусова промишленост, свързано с производство на сладкарски изделия. При работещите в офис се установява повишено зрително напрежение от работа с видеодисплей, а в другите две производства - от зрителното напрежение, свързано с наблюдаваната продукция на производствените линии. Единствено в отрасъл химическо производство се установява контакт с химична агенти, които обаче са в гранични стойности. Прах се наблюдава и в двете производства, но отново в гранични стойности за съответния източник (общ и прах от брашно). Шум в гранични стойности и неблагоприятен, прегряващ микроклимат се откриват в двете производства. Физическо натоварване от пренасяне на суровини и готови изделия се установява в производствените предприятия, докато при работещите в офис се установява предимно седяща работна поза. Организацията на работното място се свързва със седяща работна поза и осем часов работен ден на редовна

смяна за работещите в офис и правостояща работна поза, съчетана с работа на смени и полагане на нощен труд при работещите в двете наблюдавани производства.

На фиг. 1 е представено разпределението на основните лимфоцитни популации в трите изследвани групи. Резултатите на всички изследвани попадат в национално приетите референтни граници. Не се установяват статистически значими различия в процента на В-лимфоцитите (CD19+), Т-лимфоцитите (CD3+), хелперно-индусерните (CD3+CD4+) и супресорно-цитотоксичните Т-лимфоцити (CD3+CD8+) в периферната венозна кръв на изследваните жени, от трите проучвани сфери на работа.

НК клетките и НКТ клетките на работещите от трите изследвани групи също попадат в национално приетите референтни граници. Установяват се съизмерими стойности за работещите в офис и в анализираното производство от отрасъл „химия” (фиг.2). Същевременно стойностите на НК клетките сред работещите в предприятието от хранително-вкусовата промишленост са незначимо повишени спрямо тези на работещите от другите две изследвани групи. В обратна посока са данните за НКТ клетките, които показват статистически незначимо понижени в процента на тази клетъчна популация при работещите в хранително-вкусовата промишленост, спрямо другите две изследвани групи работещи.

По съществени различия се установяват за цитотоксичните лимфоцити, които са статистически значимо понижени сред изследваните жени от производствените предприятия спрямо работещите в офис (фиг.2). Наред с това в същите две групи се установява повишение на супресорните Т-лимфоцити (CD8+CD11b+), спрямо данните за работещите в офис, като при работещите в химическото производство различията са статистически значими.

## ОБСЪЖДАНЕ

Непрекъснатият баланс между про- и антиинфламаторните регулаторни механизми осигурява нормалното функциониране на имунната система. Върху това прецизно равновесие оказват непрекъснато въздействие редица външни за организма стимули като вируси, бактерии, гъби, токсини и др. развитието на промишлеността става причина за поява на нови фактори, въздействащи върху имунната система. Добре известни са фиброзогенното въздействие на праховите аерозоли, съдържащи свободен кристален силициев диоксид, различните органични прахове в качеството им на алергени, въздействието на органичните разтворители и бои като индуктори на алергични реакции. Въпреки, че тези фактори на работната среда са с доказана роля в развитието на редица професионални болести, голяма част от патогенетичните механизми, водещи до развитието им остават неясни. Все повече се обръща внимание на ролята на нарушената имунна регулация и дисбаланса на клетките на имунната система като пусков фактор в развитието на тези професионални болести.

Развитието на профилактичната медицина насочва вниманието на изследователите към ранно откриване на дискретни нарушения в регулацията на имунната система, получени след въздействие на различни фактори на работната среда. Проследяването на промените в лимфоцитните популации и специфичната им цитокинова продукция в здрави работещи позволява да се проучи ефекта на факторите на работната среда и трудовия процес върху клетките на имунната система и да се разработят мерки за ефективна профилактика на имунологичното здраве. В проведеното от нас проучване проследяваме влиянието на условията на труд върху лимфоцитните популации от периферна венозна кръв на жени в репродуктивна възраст. При определянето дизайна на проучването се ръководихме от факта, че референтните граници за отделните лимфоцитни популации се движат в доста широки граници, а доказани фактори, влияещи върху процента на лимфоцитните популации са възраст, телесно тегло, физическа активност (3,9,10). Ние си поставихме за цел да анализираме разпределението на лимфоцитните популации, независимо от горепосочените

фактори, като обърнахме внимание единствено на ефектите на основните идентифицирани опасности за всяка отделна сфера на професионална активност, обект на нашето проучване. Проведеният сравнителен анализ показва, че лимитиращите рискови фактори за работещите в офис - зрително напрежение от работа с видеодисплей, предимно седяща работна поза и умствено натоварване от административни задачи, съчетани с работа на осем часов работен ден на редовна смяна и микроклимат в границите на допустимите хигиенни норми не водят до значими различия в процента на изследваните лимфоцитните популации, спрямо референтните граници. Същото се отнася и за ефекта на основните лимитиращи фактори в двете производства (работа при прегряващ микроклимат, сменен режим на работа, правостояща работна поза и физическо натоварване от пренасяна на материали и изделия) върху В-, Т-лимфоцитите, НК-клетките и НКТ-клетките. Получените от нас данни се различават от данните на други автори (9), които установяват понижаване на НК-клетките при работещи на смени. Възможно обяснение на тези различия е по-ниското нервно психическо напрежение при изследваните от нас работещи. От друга страна ние установяваме статистически значими различия в супресорните и цитотоксичните лимфоцитни популации на работещите в сферата на промишленото производство, в сравнение с работещите в офис. Промените са еднопосочни и в двете производства, което ни дава основание да изключим ефекта на химичните агенти (установени в рамките на гранични стойности единствено в предприятието на химическата промишленост) и на производствения прах (от различен произход във всяко от двете производства, но установен в рамките на граничните стойности). Значително по-ниските от долни гранични стойности (80dB) нива на шум в двете производства също е основание да изключим влиянието на този фактор на работната среда върху промените в супресорните (CD8+CD11b+) и цитотоксичните (CD8+CD11b-) Т-лимфоцитни субпопулации. Следователно най-вероятния лимитиращ рисков фактор, от производствените предприятия, влияещ върху супресорните (CD8+CD11b+) и цитотоксичните (CD8+CD11b-) Т-лимфоцити е комбинация от прегряващ микроклимат и сменен режим на работа, съчетан с нощен труд. Тази комбинация от рискови фактори на условията на труд е с доказан стресогенен ефект върху работещите. За това получените от нас данни за повишени стойности на супресорните (CD8+CD11b+) са в съгласие с резултатите, получени от Amati и сътр. (1), които съобщават за понижаване на супресорните Т-лимфоцити в условия на ниско ниво на стрес и позитивно отношение към извършваната работа. Анализът на получените данни позволява да направим следните изводи:

Изследваните групи работещи жени не показват отклонения в основните лимфоцитни популации, спрямо национално приетите референтни граници за населението на Република България.

Установява се дискретен дисбаланс в супресорно-цитотоксичните Т-лимфоцити сред работещите в предприятията от химическата и хранително-вкусовата промишленост, предимно за сметка на понижаване на цитотоксичните Т-лимфоцити.

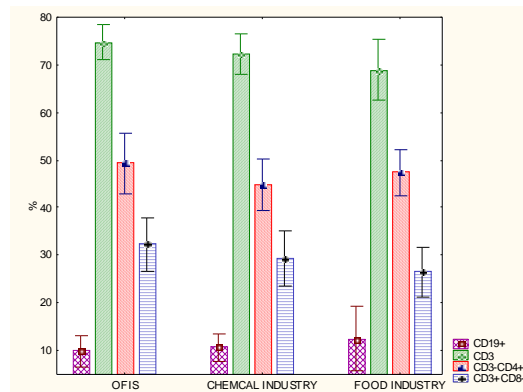
Може да се обсъжда връзка между сменния режим на работа и нощен труд и установените промени в баланса на изследваните лимфоцитни популации.

Необходими са допълнителни проучвания за изясняване причините за възникване на установените отклонения в клетъчния имунитет.

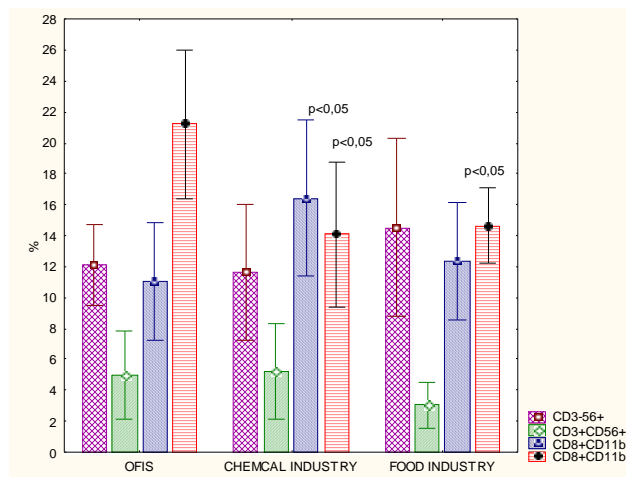
#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Amati, M., Tomasetti, M., Ciuccarelli, M. et al. 2010. Relationship of job satisfaction, psychological distress and stress-related biological parameters among healthy nurses: a longitudinal study. *J Occup Health*, 52(1):31-8.

2. Bellingrath, S., Rohleder, N., Kudielka B. 2010. Healthy working school teachers with high effort–reward-imbalance and overcommitment show increased pro-inflammatory immune activity and a dampened innate immune defence. *Brain, Behavior, and Immunity*, 24: 1332–1339
3. Bosch JA, Fischer JE, Fischer JC. 2009. Psychologically adverse work conditions are associated with CD8+ T cell differentiation indicative of immunosenescence. *Brain Behav Immun*, 23(4):527-34.
4. Cohen, F., Kemeny, M., Zegans, L. et al. 2007. Immune Function Declines With Unemployment and Recovers After Stressor Termination *Psychosomatic Medicine*, 69:225–234.
5. Levy, S.M., Herberman, R.B., Lee, J. et al. 1991. Persistently low natural killer cell activity, age, and environmental stress as predictors of infectious morbidity *Natural Immunity and Cell Growth Regulation*, 10(6):289-307.
6. Nakata, A., Araki, S., Tanigawa, T. Et al. 2000. Decrease of suppressor-inducer (CD4+CD45RA) T lymphocytes and increase of serum immunoglobulin G due to perceived job stress in Japanese nuclear electric power plant workers *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 42(2); 143-150.
7. Nakata, A., Tanigawa, T., Fujioka, Y. et al. 2002. Association of Low Job Control with a Decrease in Memory (CD4+CD45RO+) T Lymphocytes in Japanese Middle-Aged Male Workers in an Electric Power Plant *Industrial Health*, 40, 142–148.
8. Nakata, A., Takahashi, M., Irie, M., Swanson, N. 2010. Job satisfaction is associated with elevated natural killer cell immunity among healthy white-collar employees *Brain, Behavior, and Immunity*, 24,1268–1275.
9. Okamoto, H., Tsunoda, T., Teruya, K. et al. 2008. An occupational health study of emergency physicians in Japan: health assessment by immune variables (CD4, CD8, CD56, and NK cell activity) at the beginning of work. *J Occup Health*, 50(2),136-46.
10. Yan, J., Greer, J., Hull, R. et al. 2010. The effect of ageing on human lymphocyte subsets: comparison of males and females. *Immunity & Ageing*, 7:4



Фиг.1. Средна стойност и стандартно отклонение на В-лимфоцити (CD19+), Т-лимфоцити (CD3+), хелперно-индусерни и супресорно цитотоксични лимфоцити в жени, работещи в различни сфери на производството.



Фиг. 2. Средна стойност и стандартно отклонение на НК клетъчни и супресорно цитотоксични лимфоцити в здрави жени от региона на Стара Загора.  $p < 0,05$  – работещи в офис срещу работещи в производствени предприятия