

Способ ранней диагностики поражений паренхиматозных органов относится к медицине, в частности, к исследованию биологических материалов иммунологическим путем и может быть использован при проведении периодических медицинских осмотров людей, контактирующих в условиях производства с эпоксидными соединениями.

Разработка способа ранней диагностики специфических поражений паренхиматозных органов диктуется необходимостью выявления аутоиммунных процессов на начальных этапах развития заболевания, связанного с нарушением гомеостаза и, в первую очередь, с развитием иммунокомплексного заболевания на фоне снижения функции систем детоксикации и выделения.

Известен способ выявления повышенной чувствительности человека к химическим агентам [1] путем кожных проб. Способ основан на выявлении повышенной чувствительности кожи человека к химическим агентам и осуществляется путем нанесения предполагаемого раздражителя, приготовленного в разных разведениях, на неповрежденную кожу верхней половины живота или на гибательную поверхность кожи плеч или предплечий. Реактивные явления на месте нанесения возникают через несколько часов (6 - 8 часов, иногда несколько минут). Результат реакции оценивается спустя сутки от момента нанесения. Изменения на коже выражаются эритемой, отеком, папулами и везикулами на месте нанесенной капли.

Недостатком данного метода является то, что:

1. С его помощью невозможно установить наличие аутоиммунных процессов, приводящих к поражению паренхиматозных органов, а следовательно и выявить на начальных стадиях эти поражения.

3. Зачастую, как результат нарушения целостности кожи и инфицирования, наблюдается воспалительный процесс в месте нанесения химического агента, который отягощает состояние больного и не дает возможность составить представление о степени чувствительности человека к испытываемому веществу.

3. При выполнении способа имеется дополнительная опасность заражения кровяными инфекциями.

Наиболее близким по технической сущности заявляемому изобретению является способ выявления сенсibilизации у рабочих промышленных предприятий [2]. Способ включает исследование крови на наличие сенсibilизации и ЭХГ.

Недостатком известного способа является то, что он:

1. Отражает суммарную гиперсенсibilизацию организма к химическому антигену не выявляя избирательного характера его воздействия на организм работающих;
2. Не дает возможность выявить наличие аутоиммунных поражений паренхиматозных органов у людей, контактирующих с эпоксидными соединениями на ранних стадиях развития заболевания, связанного с нарушением гомеостаза и, в первую очередь, с развитием иммунокомплексного заболевания на фоне снижения функции систем детоксикации и выделения.

В основу изобретения поставлена задача ранней диагностики аутоиммунных поражений паренхиматозных органов у людей, контактирующих с эпоксидными соединениями путем одномоментного исследования периферической крови, в сыворотке которой определяют количество ЦИК путем осаждения их с помощью полиэтиленгликоля-6000 (ПЭГ-6000), а в цельной крови выявляют сенсibilизацию иммунокомпетентных клеток организма к ЭХГ и к антигенам, приготовленным из тканей паренхиматозных органов в реакции иммунолейколиза и при повышении количества ЦИК больше 51,24ед. опт. плотности, а также наличии сенсibilизации иммунокомпетентных клеток организма к тканям паренхиматозных органов выше 0,11 усл. ед. (11%) диагностируют наличие аутоиммунного поражения паренхиматозных органов, что дает возможность дифференцированного выявления аутоиммунных поражений паренхиматозных органов у людей, контактирующих с эпоксидными соединениями.

Новым в заявляемом способе является то, что одномоментно определяют количество ЦИК и выявляют сенсibilизацию иммунокомпетентных клеток организма к ЭХГ и тканям паренхиматозных органов и при повышении ЦИК больше 51,24ед. опт. плотности, а также при наличии сенсibilизации иммунокомпетентных клеток организма к антигенам, приготовленным из тканей паренхиматозных органов диагностируют аутоиммунные поражения паренхиматозных органов.

У лиц, работающих с эпоксидными соединениями постепенно происходит нарушение функции печени и почек [3, 4, 5].

При постоянном поступлении токсических веществ из окружающей среды в организм, функция напряженно работающих систем детоксикации становится явно недостаточной и истощается. При этом, с одной стороны, токсические вещества не полностью перерабатываются и выводятся, а с другой - возникает токсическое повреждение тканей, с нарушением их функции и появлением и накоплением продуктов патологического метаболизма, постепенно нарастает синдром эндогенной интоксикации [6]. В результате синдрома эндогенной интоксикации, вызванного воздействием эпоксидных соединений, возникают нарушения в иммунной системе, являющейся основным звеном системы контроля генетического гомеостаза организма. Это проявляется сбоями в системе кооперации иммунокомпетентных клеток, что отражается как на клеточном, так и на гуморальном звене и приводит к аутоиммунным реакциям, проявляющимся, в конечном счете, в повышенной нагрузке ЦИК и повреждении собственных органов и тканей и нарушении их функции, в частности, поражении в первую очередь почек, печени, что уже на ранних этапах проявляется сенсibilизацией иммунокомпетентных клеток организма к почечной, печеночной тканям и ЭХГ, ростом числа ЦИК и гистологически подтверждается наличием пролиферативного гломерулонефрита у 70% экспериментальных животных. Аутоиммунные процессы также наблюдаются в селезенке, поджелудочной железе, но регистрируются в более поздние сроки воздействия эпоксидных

соединений. Следовательно, совокупность признаков формулы изобретения дает возможность дифференцированного выявления аутоиммунных поражений паренхиматозных органов у людей, контактирующих с эпоксидными соединениями.

Способ диагностики может быть осуществлен следующим образом. У людей, контактирующих с эпоксидными соединениями (работники химической промышленности, сотрудники НИИ) во время периодических медицинских осмотров осуществляют забор пальцевой крови (500мкл) и делят на две порции. В сыворотке крови определяют количество ЦИК, путем осаждения их ПЭГ-600. Для этого готовят три пробирки. 150мкл сыворотки вносят в первую, содержащую 300мкл боратного буфера, тщательно перемешивают и полученную смесь, по 200мкл переносят во вторую пробирку, содержащую 2000мкл боратного буфера и являющуюся контролем, и в третью, в которой находится 2000мкл 4% раствора ПЭГ-6000. Это опытная пробирка. Затем определяют оптическую плотность содержимого опытной и контрольной пробирок и высчитывают содержание ЦИК по формуле:

$$\text{Количество ЦИК} = \frac{\text{Оптическая плотность опыта} - \text{Оптическая плотность контроля}}{x} \times 1000$$

Содержание иммунных комплексов в человеческой сыворотке составляет 25,0 - 54,24ед. оптической плотности [7].

В цельной крови выявляют сенсibilизацию иммунокомпетентных клеток организма к ЭХГ и антигенам, приготовленным из тканей паренхиматозных органов в реакции иммунолейколиза (РИЛ). Для этого берут 3 пробирки: одна контрольная и две опытные. В контрольную приливают 10мкл физиологического раствора, в первую опытную - 5мкл антигена, во вторую - 5мкл 0,05% раствора ЭХГ. Добавляют 20мкл крови, перемешивают, а затем термостатируют 30 минут при 37°С. По истечении этого срока пробирки вынимают из термостата, отбирают по 20мкл смеси и приливают 400мкл 3% раствора уксусной кислоты, подкрашенного красителем Романовского - Гимзе. Подсчитывают в камере Горяева количество лейкоцитов по общепринятой методике и рассчитывают уровень сенсibilизации согласно формуле:

$$K = \frac{K_1 - K_2}{K_1} \text{ (усл. ед.)},$$

где K - коэффициент лизиса лейкоцитов, K₁ - абсолютное количество лейкоцитов в контроле, а K₂ - абсолютное количество лейкоцитов в опыте [8].

При повышении ЦИК больше 54,24ед. оптической плотности и при наличии сенсibilизации иммунокомпетентных клеток организма к ЭХГ и антигенам, приготовленным из тканей паренхиматозных органов выше 0,11усл. ед. (11%) устанавливают диагноз аутоиммунного поражения паренхиматозных органов.

Способ апробирован на лабораторных животных (морских свинках), подвергавшихся ингаляционной заправке летучими компонентами эпоксидной смолы УП-666 - 4 (летучим компонентом является ЭХГ) в течение 30 дней в концентрациях, приближающихся к таковым в

производственных условиях на различных этапах технологического процесса (табл.), создаваемых в специальных затравочных камерах. Контролем служили животные, находящиеся в аналогичных условиях, но в камеру которых подавали чистый воздух.

По окончании затравки у животных из бедренной вены забирали кровь. В сыворотке определяли количество ЦИК, путем осаждения их ПЭГ-6000, а в цельной крови, в реакции иммунолейколиза, выявляли сенсibilизацию иммунокомпетентных клеток организма к ЭХГ и антигенам, приготовленным из тканей паренхиматозных органов. Было установлено, что после затравки эпоксидной смолой, количество ЦИК возросло в 2,2 раза по сравнению с контролем, степень сенсibilизации к ЭХГ в 3,1 раза, а к почечному антигену в 2,7 раза (см. табл.), что позволило установить наличие аутоиммунного поражения почек. Степень сенсibilизации иммунокомпетентных клеток организма к печеночной ткани в опытной группе превышала аналогичные показатели в контроле в 2,4 раза.

Результаты иммунологического исследования были подтверждены патоморфологически. Во внутренних органах забитых животных обнаружено: в легких - бронхоспазм, васкулиты с лимфоидными муфтами, вокруг сосудов гиперплазия перибронхиальной ткани; в печени и селезенке - дистрофические изменения, наличие лимфогистиоцитарных инфильтратов, свидетельствующих о возможном развитии аутоиммунных процессов; в почках дистрофия клеток паренхимы, интракапиллярный пролиферативный гломерулонефрит, являющийся аутоиммунным заболеванием.

В контрольной группе животных описанные выше изменения отсутствовали.

Источники информации

1. Фрадкин В.А. Аллергодиагностика in vitro. - М.: Медицина, 1975. - 142с.
2. Алексеева О.Г., Диева Л.А. Аллергия к промышленным химическим соединениям. - М.: Медицина, 1978. - 272с.
3. Парпалей И.А. Поражение гепатобилиарной системы у рабочих, контактирующих с эпоксидными соединениями (экспериментально-клиническое исследование): Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - К., 1975. - 22с.
4. Витрищак В.Я. Гепатотоксические и иммунные нарушения у работающих с эпоксидными композициями, их раннее выявление, коррекция и первичная профилактика: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. - Ростов-на-Дону, 1990. - 22с.
5. Черных Л.В. Состояние иммунной системы у лиц, занятых в производстве эпоксидных смол. Методология, организация и итоги массовых иммунологических обследований // Тезисы докладов Всесоюзной конференции, г.Ангарск, 23 - 25 июня 1987г. - Москва - Ангарск, 1987. - С.111 - 112.
6. Уманский М., Пинчук Л., Пинчук В. Синдром эндогенной интоксикации. - К.: Наук. думка, 1976. - 120с.
7. Фролов А.Ф., Ракша Е.А., Нагорнова Т.Ф., Гаврилов С.В. Инфекционный и иммунный комплексы у больных вирусным гепатитом В // Врачебное дело. - 1985. - №4. - С.105 - 108.

8. Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в сыворотке крови // Лаб. дело. - 1981. - №8. - С.49 - 51.

Таблица

Показатели клеточного и гуморального иммунитета у животных, подвергавшихся ингаляционной заправке эпоксидной смолой УП-666-4

Группа животных	Концентрация смолы в камерах, мг/м ³ (по ЭХГ)	Исследуемые показатели			
		ЦИК	иммунолейколиз с антигенами, усл. ед.		
		ед. опт. плотности	почечный	печеночный	ЭХГ
1 (опытная)	25,0±1,9	160,0±8,3*	0,17±0,005*	0,19±0,008*	0,22±0,007*
2 (контрольная)	0	73,3±6,9	0,065±0,031	0,078±0,028	0,071±0,02

* Различия достоверны, $p < 0,05$ (по сравнению с контролем).