

Корисна модель відноситься до експериментальної медицини, а саме, до патофізіології, може бути використана у профілактичній медицині та клінічній фізіології.

Організм людини щоденно зазнає дії численних факторів навколишнього середовища, у тому числі - хімічних, що здатні впливати на стан метаболічних процесів, які забезпечують адаптаційний процес пристосування функцій організму до змін умов існування. Імунна система, як здатна розрізнити "своє" та "чуже" відіграє важливу регуляторну роль у процесах адаптації. Відомо, що не усі хімічні речовини під час надходження до організму викликають алергізацію, так названі гаптени не активують імунологічні механізми, а можуть обумовлювати виникнення сенсibilізації тільки поєднуючись із білками тканин. У той же час, специфічність комплексу "гаптен-білок" визначається специфічністю ксенобіотика. У цьому аспекті є актуальною розробка чутливих способів діагностики здатності хімічних патогенів сенсibilізувати організм, які не потребують великих матеріальних витрат, є специфічними та можуть використовуватися для обстеження великих контингентів населення, що зазнає навантаження ксенобіотиками.

Відомим є спосіб визначення алергену шляхом постановки провокаційних наскірних та інгаляційних проб [Ожиганова В.Н., Дюева Л.А., Попова Н.Г. Клиника и диагностика профессиональной бронхиальной астмы от формальдегидсодержащих полимеров // Гигиена труда, 1984, №11. - С.39-43] у розведеннях, що виключають подразнюючу та цитотоксичну дію. Недоліком способу є те, що він має високу діагностичну значущість тільки при алергодерматозах, а у випадках дії промислових гаптенів його інформативність складає 20-70%.

Найбільш близьким та обраним за прототип є спосіб визначення алергенних властивостей ксенобіотиків [Алексеева О.Г. Иммунология профессиональных хронических бронхолегочных заболеваний / Москва: Медицина, 1987. - С.194-224с], заснований на використанні реакцій специфічного лізису, агломерації лейкоцитів (РСЛЛ, РСАЛ), реакції пошкодження базифілів (РСПБ) після постановки внутрішньо шкірних, наскірних та кон'юнктивальних тестів з хімічними речовинами. Метод відноситься до клітинно-опосереднених тестів і заснований на змінах функції клітин крові під впливом ксенобіотика, що потрапляє у систему. Загальним із способом, що пропонується, є біоматеріал (цільна кров, сироватка крові).

Недоліком цього способу є його відносна специфічність при обстеженні контингентів, що контактують з різними хімічними алергенами, обумовлена наявністю індивідуальної імунологічної реактивності на одні й ті ж речовини. Крім того, існує можливість отримати позитивні результати при наявності у обстеженого гіперчутливості уповільненого типу у відповідь на велику кількість ксенобіотиків. Цим фактом обумовлено, що якщо відсоток позитивних реакцій РСАЛ, РСЛЛ та РСПБ у обстежених не перевищує 10%, реакцію на ксенобіотики вважають негативною.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу визначення алергенних властивостей ксенобіотиків, в якому за рахунок зміни характеру дослідження, досягається визначення мінімальних змін імунного гомеостазу у відповідь на вплив ксенобіотика, що дозволяє виявити наявність у речовині алергенних властивостей.

Поставлена задача вирішується в способі визначення алергенних властивостей ксенобіотиків, який здійснюють шляхом дослідження біологічного матеріалу, згідно з корисною моделлю, проводять біохемілюмінесцентне дослідження сироватки крові, для чого її термостатують у темновій камері при 37°C, після чого вимірюють власну інтенсивність світіння сироватки крові та індуковану перекисом водню, реєструють спалахи світіння та кінетику реакції протягом 1,5-3 хвилин, і при виявленні різниці між власною інтенсивністю спалаху та індукованою, визначають наявність або відсутність алергенних властивостей ксенобіотика.

Спосіб біохемілюмінесценції засновано на здатності тканин та біологічних рідин організму до спонтанного надслабкого світіння, обумовленого наявністю електромагнітного випромінювання оптичного діапазону, яке виникає внаслідок біохімічних реакцій. Для кожної тканини існують постійні рівні спонтанного світіння, які приймаються за контрольні значення. Індукція  $H_2O_2$ ,  $FeCl_3$  призводить до активації електронів у збуджених станах, рівні яких віддзеркалюють інтенсивність вільно радикальних процесів, що виникають внаслідок пошкоджуючої дії ксенобіотика [Губский Ю.И., Левицкий Е.Л. Молекулярно-биологические механизмы токсической гибели клеток // Тези допов. І з'їзду токсикологів України / Під ред. Проданчука М.Г. - Київ, 2001. - С.9]. Ступінь сенсibilізуючої дії ксенобіотиків визначається як різниця між спонтанним та індукованим світінням біологічного матеріалу.

Інтенсивність спонтанного світіння відображує специфіку обміну речовин в тканинах, у тому числі, імунокомпетентних клітинах. Загальним для способу, що пропонується, є практичне використання - обстеження контингентів, які працюють з потенційно небезпечними речовинами, алергізуюча дія яких невідома або потребує поточення.

Дослідження біохемілюмінесценції (БХЛ) дає можливість автоматично реєструвати специфічні реакції організму у відповідь на вплив хімічних факторів без використання складних імунологічних та біохімічних методів. Посилення БХЛ відзначається при активації імунної системи або виникненні алергічного запалення [Казначеев В.П., Михайлов Л.П. Сверхслабые излучения в межклеточных взаимодействиях / Новосибирск: Наука, 1981. - 144с].

За даними літератури [Журавлев А.И., Журавлева А.И. Сверхслабое свечение сыворотки крови и его значение в комплексной диагностике / Москва: Медицина, 1975. - 128с.] відомо, що спонтанне світіння тканин та рідин є одним з показників стану гомеостазу організму.

Перевагою способу, що пропонується, є можливість використовувати для аналізу цільну кров, сироватку та сечу, що має значення при обстеженні великих контингентів, спосіб значно простіший у виконанні та може використовуватися для швидкого отримання результатів. Важливим є те, що використання біохемілюмінесценції дає змогу реєструвати мінімальні зміни імунного гомеостазу у відповідь на вплив ксенобіотика, таким чином, наявність у речовин алергенних властивостей дає 100% позитивних результатів БХЛ.

Спосіб визначення алергенних властивостей ксенобіотиків дозволяє перед експериментом здійснювати уведення досліджуваних хімічних речовин, а можна урахувати контакт обстежуваних з досліджуваним ксенобіотиком.

Спосіб, що заявляється, здійснюють таким чином.

Забір венозної крові проводять вранці натще, після чого отримують сироватку крові. Зразки біологічного матеріалу термостатують у темновій камері при 37°C, після чого вимірюють власну інтенсивність світіння сироватки крові та індуковану перекисом водню у автоматичному режимі за допомогою автоматичного хемілюмінометра БХЛМЦ 10-1, реєструють спалахи світіння та кінетику реакції протягом 1,5-3 хвилин. При перевищенні контрольних показників визначають алергенні властивості ксенобіотиків.

Приклад. Досліджували інтенсивність БХЛ сироватки крові різних професійних груп (апаратники перегонки, синтезу, окиснення, гідратації, майстри електрики та слюсарі по ремонту обладнання, лаборанти, ІТР) ВО «ХЕМЗ», м.Харків, загальна кількість обстежених - 219ч. Загальним компонентом усіх досліджуваних органічних сумішей був поліетіленгліколь (ПЕГ), який у чистому виді не має алергенних властивостей, але у комплексі з іншими хімічними речовинами, що додаються під час синтезу нових марок органічних сумішей, може набувати здатності до сенсibilізації. У склад речовин марки Лапроксиди входили епоксидні компоненти, сенсibilізуючі властивості яких відомі. Усі працівники виробництва у різній мірі контактували з досліджуваними ксенобіотиками, контролем була група ІТР, що розташована окремо від виробничих приміщень і не мала безпосереднього зв'язку з виробництвом. Оцінку напруження імунного гомеостазу працівників виробництва органічних речовин виконували шляхом реєстрації інтенсивності світіння сироватки крові у автоматичному режимі за допомогою автоматичного хемілюмінометра БХЛМЦ 10-1. Забір венозної крові проводили вранці натще, після чого отримували сироватку крові. Зразки біологічного матеріалу термостатували у темновій камері при 37°C, після чого виміряли власну інтенсивність світіння сироватки крові та індуковану перекисом водню, реєструючи спалахи світіння та кінетику реакції протягом 1,5-3 хвилин.

Встановлено, що інтенсивність спалаху індукованої хемілюмінесценції сироватки крові усіх професійних груп перевищувала контрольні показники у середньому на 250імп/хв. (таблиця 1).

Таблиця 1

Динаміка індукованої БХЛ сироватки крові робітників виробництва органічних сумішей, ( $I^0$  - імп/с), ( $M \pm m$ ).

Професійні групи	Кількість обстежених (219)	Стаж роботи (років)			
		2-12	12-22	22-32	32 та більше
Контроль	23	748±33	963±47	869±36	902±20
Апаратники: перегонки	35	915±31*	1207±34*	1307±25*	1154±20*
- синтезу	34	959±34*	1259±18*	1379±34*	1135±36*
- окиснення	38	812±27	1184±37	1253±17*	1269±34*
- гідратації	34	724±35	1238±24*	1268±35*	1274±35*
Майстри: - електрики	15	563±23	969±22	957±33	863±16
- слюсарі	18	689±28	965±35	922±28	839±20
Лаборанти	22	546±21	908±23	835±22	876±22

Нотатка: різниця показників вірогідна, ( $p < 0,05$ ).

Походячи з отриманих даних, можна зробити висновок, що органічні речовини викликають найбільш виражену сенсibilізацію у робітників, безпосередньо контактуючих з органічними сумішами та із стажем роботи 12-32 роки. Показники БХЛ у професійних групах, які не мають постійного контакту з речовинами, майже не відрізнялися від контрольних. Така динаміка індукованої хемілюмінесценції віддзеркалює напруження імунного гомеостазу, що зростає відповідно з часом навантаження ксенобіотиками.

Наявність сенсibilізуючих властивостей у досліджуваних органічних сумішей також визначали експериментально на теплокровних тваринах. Отримані дані добре співвідносяться з результатами експерименту, проведеного на 8 групах білих щурів популяції Вістар (12-15 тварин обох статей), що отримували протягом 60 діб внутрішньошлунково у чистому виді 1,6г/кг; 0,16г/кг; та 0,016г/кг гальмівної рідини "Роса" (ГР), 1,17г/кг; 0,117г/кг та 0,0117г/кг гідралічної рідини для північного використання (ГдР); 1,84г/кг; 0,184г/кг та 0,0184г/кг охолоджуючої рідини (ОР-40); 1,81г/кг; 0,81г/кг та 0,081г/кг Лапроксида 703 (Л-703); 1,57г/кг; 0,157г/кг та 0,0157г/кг Лапроксида 303 (Л-503); 1,83г/кг; 0,183г/кг та 0,0183г/кг Лапроксида 503 (Л-503), що відповідає 1/10, 1/100 та 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> цих речовин. Попередньо проведені нашірні тести визначення резорбтивних та сенсibilізуючих властивостей речовин виявили, що вплив Лапроксидів усіх марок викликає виникнення зливних геморагій з ділянками некрозу, потовщення шкіри щурів, у той час, як ГР, ГдР та ОР-40, основою яких є ПЕГ, таких властивостей не мали.

Проведене дослідження динаміки БХЛ в експериментальній групі щурів визначило, що вже на 10-ту добу навантаження органічними сумішами реєстрували вірогідне збільшення інтенсивності БХЛ сироватки крові та цільної крові тварин в опитних групах (таблиця 2). Дослідження проведено по загальноприйнятій методиці [Шакиров Д.Ф., Фархутдинов Р.Р. Выявление групп повышенного риска при обследовании работников нефтеперерабатывающей промышленности // Гигиена и санитария. - М.: Медицина, 2000. - №1. - С.33-35] за допомогою медичного біо-хемілюмінометра БХЛМЦ 1-01.

Таблиця 2

Динаміка БХЛ сироватки крові та цільної крові

білих щурів, що отримували 1/100 ДЛ<sub>50</sub> ксенобіотиків (I<sup>0</sup> - імп/с), (M±m).

Біологічні рідини	Контроль	Речовини, показники БХЛ					
		Л-303	Л-503	Л-703	ГР	ГдР	ОР-40
Сироватка крові	865,7±25,3	1513,8±47,9*	1307,2±38,5*	1396,6±27,8*	1012,3±34,7	937,4±26,3	917,9±23,8
Цільна кров	984,2±31,6	1629,4±49,7*	1499,5±38,6*	1703,6±38,7*	1124,7±34,5	993,2±33,6	1086,6±35,4*

Нотатка: різниця показників вірогідна, (p<0,05).

Показники БХЛ у групах щурів, що отримували Лапроксида (Л-303, Л-503, Л-703), у склад яких входять епоксидні групи, перевищували контрольні у середньому на 515-719імп/с. У той же час, речовини, синтезовані на основі ПЕГ, такої інтенсифікації світіння не викликали. Результати оцінювали по інтенсивності спалаху світіння у момент індукції перекисом водню та кінетиці реакції. Біологічні рідини експериментальних тварин відзначалися крутою та високою амплітудою першого підйому хемілюмінесценції. Хемілюмінограми інтактних тварин мали більш повільне та незначне підвищення спалаху та наявність другого спалаху, чого не відзначали в опитній групі тварин. Виникнення другого спалаху обумовлене дією антиоксидантів або антитіл у відповідь на антиген, тому кінетика реакції під час напруження імунної системи ксенобіотиками відрізняється від нормальної.

Таким чином, БХЛ є інформативним, простим у виконанні та точним способом, що може бути застосований під час обстеження великих контингентів людей, які контактують із шкідливими речовинами.