

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

© Трахтенберг І.М., Дмитруха Н.М., Моложава О.С., Миронюк Ю.М., 2008
УДК 615.9-06:616-097

І.М. Трахтенберг, Н.М. Дмитруха, О.С. Моложава, Ю.М. Миронюк

ПОРУШЕННЯ ІМУННОГО СТАТУСУ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ ЗА ДІЇ ХІМІЧНИХ ЧИННИКІВ ТА МЕТОДИ ЇХ ВИЗНАЧЕННЯ*

Інститут медицини праці АМН України (м. Київ)

Запропоновані підходи та сучасні методи оцінки імунно-го статусу: індивідуальних адаптаційних можливостей організму, неспецифічної резистентності, клітинного і гуморального імунітету, виявлення алергічних та аутоімунних реакцій – можуть бути рекомендовані як критерії донозологічної характеристики стану здоров'я людини. Результати дослідження імунної системи працюючих разом з експериментальними даними визначення імунотоксичності ксенобіотиків можуть бути використані в системі токсикологічної оцінки, прогнозування, гігієнічного нормування та відвернення шкідливого впливу на організм як вже існуючих, так і нових хімічних сполук.

Ключові слова: імунний статус, хімічні чинники, ксенобіотики, методи імунологічного дослідження.

Інтенсивний розвиток науки, промисловості і сільського господарства сприяв застосуванню хімічних сполук майже у всіх сферах діяльності людини. Така суцільна хімізація призвела до значного забруднення довкілля токсичними речовинами, які негативно впливають на здоров'я населення. Однією з важливих причин погіршення стану здоров'я вважається зниження адаптаційної і гомеостатичної ролі імунної системи.

Численними дослідженнями показано, що зміни імунологічної реактивності, такі як адаптаційне напруження імунорегуляторних механізмів, розвиток вторинного імунодефіциту, безпосередньо пов'язані з впливом на організм людини токсичних хімічних речовин. Наслідком їх негативної дії є пригнічення опірності організму до інфекцій, виникнення злоякісних новоутворень, алергічних та аутоімунних захворювань.

Враховуючи високу чутливість імунної системи організму до дії несприятливих хімічних чинників навколишнього середовища, проведення імунологічного моніторингу серед працюючих і населення промислових регіонів є актуальною проблемою сучасної профі-

лактичної медицини, мета якої – запобігання професійним та екологічно обумовленим захворюванням.

Методичні рекомендації призначені для лікарів-гігієністів, токсикологів, студентів вищих навчальних закладів.

1. СКЛАДОВІ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ТА ФОРМУВАННЯ ІМУНІТЕТУ

Імунна система організму – багатокомпонентна гомеостатична система, до складу якої входять імунні органи – центральні (тимус, кістковий мозок), периферичні (селезінка, лімфатичні вузли, дифузна лімфоїдна тканина травного каналу та дихальної системи), імунокомпетентні клітини та гуморальні фактори.

Основною функцією імунної системи є імунний нагляд, захист організму від екзо- або ендогенних речовин, що несуть ознаки генетично чужорідної інформації. За допомогою імунної системи організм виявляє не властиві йому високомолекулярні субклітинні і клітинні елементи (антигени) і формує реакції, спрямовані на їх зв'язування та елімінацію.

Відповідь імунної системи на антигенний подразник поділяють на природний імунітет (неспецифічна резистентність), який успадковується організмом з народження, та адаптивний (специфічний) імунітет, який формується протягом життя в результаті імунізації до різних інфекцій. Імунна відповідь організму забезпечується злагодженою участю клітинних і гуморальних компонентів неспецифічної резистентності та специфічної імунної реактивності (мал. 1).

До факторів неспецифічної резистентності організму (НРО) належать біологічні бар'єри (шкіра і слизові оболонки), бактерицидні субстанції клітин, гідролітичні ферменти та ін. НРО забезпечує первинний захист організму від широкого спектру різноманітних несприятливих чинників і тісно пов'язана зі специфічною імунною відповіддю.

* – Порушення імунного статусу організму людини за дії хімічних чинників та методи їх визначення: Метод. реком. Трахтенберг І.М., Дмитруха Н.М., Моложава О.С., Миронюк Ю.М. – Київ, 2007. – 48 с. Публікується скорочений варіант.

ІМУНІТЕТ



Мал. 1. Складові природного і адаптивного імунітету.

Механізми специфічного імунітету включаються після дії антигену. Вони обумовлені функціональною активністю антиген-специфічних лімфоцитів (клітинна відповідь) і специфічних антитіл (гуморальна відповідь). Клітинний імунітет представлений популяцією Т-лімфоцитів, серед яких виділяють кілери, супресори, хелпери. Гуморальний імунітет пов'язаний із синтезом плазматичними клітинами (В-лімфоцити) антитіл та їх взаємодією з антигеном. Сила і швидкість специфічного імунітету суттєво змінюються при повторному контакті з антигеном. Для повноцінної імунної відповіді та підтримки імунного гомеостазу організму необхідна інтеграція неспецифічних і специфічних механізмів. Функціонування імунної системи забезпечується різноманітними рівнями регуляції (молекулярним, клітинним, органним, системним).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНОТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ КСЕНОБІОТИКІВ

На сьогодні доведений той факт, що несприятливі чинники виробничого і навколишнього середовища, особливо хімічної природи, негативно впливають на стан здоров'я людини, в першу чергу – на імунну систему.

За даними літератури, більшість хімічних речовин (ХР), які використовуються на виробництвах і в побуті, здатні змінювати імунну реактивність організму людини, викликати такі порушення імунного статусу, як адапційне напруження імунорегуляторних механізмів, розвиток вторинного імунодефіциту, зниження антиінфекційного і протипухлинного імунітету, формування алергічних та аутоімунних реакцій.

Хімічні сполуки належать до ксенобіотиків – речовин, які не беруть участі в обмінних процесах організму. При дії на організм вони можуть виступати як пов-

ноцінні антигени; як гаптени (взаємодіють з білками організму з утворенням комплексу, що діє як антиген); як толероген (відмінюють чи знижують реалізацію гуморальних і клітинних імунних реакцій). Зміни показників імунного статусу є результатом дії самої хімічної речовини, її метаболітів, а також комплексних антигенів, що утворюються в організмі при інтоксикаціях. В основі імунних зрушень лежать різні механізми: пошкодження стовбурових клітин кісткового мозку, порушення їх проліферації і диференціювання; зміни в продукції цитокінів і модуляції рецепторів на мембранах імунокомпетентних клітин.

Встановлено, що несприятлива дія ксенобіотиків на імунну систему може проявлятися пригніченням (імуносупресія) або підсиленням (імуностимуляція) функції імунної системи.

Імуносупресивний ефект ХР полягає у пригніченні імунної відповіді організму. Властивостями імуносупресорів володіє більшість хімічних речовин, які порушують процеси клітинного поділу, розвитку, диференціювання та синтезу білка. До них, зокрема, належать: алкілюючі агенти, аналоги пуринових і піримідинових основ, важкі метали, пестициди, антибіотики та ін. Наслідком імуносупресії є зниження резистентності організму до інфекційних агентів (віруси, бактерії, гриби), підвищення можливості новоутворень. Клінічно імуносупресія проявляється тривалою інфекцією або розвитком онкопатології.

Імуностимуляція характеризується підсиленням імунної відповіді (гіперактивність) організму і виявляється в осіб, які наражаються на дію хімічних речовин у малих концентраціях. Результатом імуностимуляції може бути формування алергічних та аутоімунних реакцій. Клінічна маніфестація імуностимуляції проявляється різноманіт-

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

ними симптомами: від висипання на шкірі, риніту, кон'юнктивіту до більш серйозних захворювань, таких як астма та алергичний альвеоліт, контактна екзема, анафілактичний шок. Алергенні (сенсibiliзувальні) властивості хімічних речовин виявляються в концентраціях на декілька порядків нижче за ті, що спричиняють токсичну дію. До речовин з вираженими алергенними властивостями належать біологічно активні речовини (ферменти, білково-вітамінні концентрати, кормові домішки та ін.). Хімічні алергени, як відомо, є гаптенами, які набувають властивостей антигенів після їх кон'югації з тканинними або сироватковими білками – носіями антигенного комплексу. Як носій гаптену можуть також виступати інші макромолекули – поліпептиди, полісахариди, ліпопротеїди. Особливою реакційною активністю при утворенні зв'язків з носієм володіють сполуки, що мають у структурі аміно-, нітро-, азо-, карбамінові групи. У взаємодію з носієм може вступати як сам ксенобіотик, так і продукти його метаболізму. До ксенобіотиків, що викликають алергичні реакції, віднесені: ізоціанати, триметили, інші ангідриди, метали – золото, ртуть, нікель, солі платини, реактивні фарби, етильовані аміни.

Дослідження останніх років показали, що імуностимуляція за дії ксенобіотиків, крім алергичних реакцій може стати причиною формування в організмі автоімунного процесу. Так, серед населення екологічно небезпечних регіонів відмічено зростання автоімунних захворювань, таких як системний червоний вовчак, гемолітична анемія, тиреоїдит Хашімото, ревматоїдний артрит, розсіяний множинний склероз, гломерулонефрит та ін. Показано, що як ініціатори автоімунних реакцій хімічні речовини можуть: а) безпосередньо впливати на процеси активації лімфоцитів, синтез антитіл, продукцію цитокінів; б) порушувати цілісність біологічних структур і сприяти надходженню у кров тканинних антигенів; в) вступати у взаємодію з макромолекулами організму та змінювати їх антигенні властивості. До відомих стимуляторів автоімунних реакцій віднесені ртуть, диелдрин, метилхолантрен.

З літератури відомо, що суттєві зрушення у функціонуванні імунної системи здатні спричинити забруднювачі виробничого і навколишнього середовищ, такі як важкі метали, пестициди та інші токсиканти.

За даними проведеного імунологічного обстеження працівників, що наражаються на експозицію важкими металами (свинець, кадмій) в умовах виробництва, встановлені: зниження адаптаційних можливостей організму, пригнічення фагоцитарної здатності, активація метаболічної активності (окисно-відновних реакцій) у нейтрофілах крові, зменшення титру комплементу, порушення механізмів імунорегуляції (зменшення кількості Т-хелперів і збільшення Т-супресорів), зрос-

тання рівня циркулюючих імунних комплексів. Виявлені імунологічні зрушення є свідченням негативного впливу важких металів на імунну систему, які можуть сприяти розвитку імунопатологій, у тому числі алергичних і автоімунних.

Результати досліджень імунної системи у робітників заводу з виробництва азотної кислоти свідчать про пригнічення фагоцитарної функції нейтрофілів, внутрішньоклітинних ферментів у них, стимуляцію окисно-відновних реакцій у фагоцитах, зниження відносної кількості Т- і В-лімфоцитів, а також Т-клітин із супресорною функцією, підвищення рівня IgM і циркулюючих імунних комплексів у крові. Отримані дані дозволили зробити висновок про формування в обстежених осіб вторинного комбінованого імунодефіциту.

Під час обстеження робітників мікробіологічного виробництва з випуску ферментних препаратів, які контактували з мікроорганізмами та продуктами їхнього синтезу – ферментами, було виявлено зниження відносної кількості Т- і В-лімфоцитів, Т-супресорів, підвищені концентрації сироваткових імуноглобулінів IgG, IgM та специфічних до мікробних ферментів IgG і IgE і сенсibiliзованих лімфоцитів. Такі зрушення імунного статусу є характерними для формування вторинного імунодефіциту з ознаками розвитку алергичного процесу.

Таким чином, згідно з даними літератури, а також результатами власних досліджень, можна дійти висновку, що виявлення змін в імунній системі, які обумовлені дією на людину факторів виробничого та навколишнього середовищ є своєрідними індикаторами впливу на організм несприятливих чинників і мають важливе значення для ранньої діагностики професійно та екологічно зумовлених захворювань, розробки та впровадження профілактичних і лікувальних заходів.

3. ПОКАЗНИКИ ІМУННОГО СТАТУСУ ТА МЕТОДИ ЇХ ОЦІНКИ В УМОВАХ ВПЛИВУ ХІМІЧНИХ ЧИННИКІВ

За рекомендаціями ВООЗ, Міжнародної організації з хімічної безпеки, російського інституту імунології, провідних українських вчених імунологів, в осіб, які працюють у шкідливих умовах або проживають в екологічно небезпечних регіонах, необхідно проводити імунологічне обстеження. Метою є виявлення порушень імунітету на ранніх стадіях формування патологічного процесу, своєчасна їх корекція, профілактика професійно та екологічно зумовлених захворювань. При цьому дослідження імунного статусу повинні включати визначення гематологічних параметрів, які є інтегральною характеристикою адаптаційних можливостей організму; оцінку гуморальних і клітинних компонентів неспецифічної резистентності і специфічної імунологічної реактивності, а також методи виявлення алергичних та автоімунних реакцій.

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

3.1. Аналіз крові з визначенням індивідуальних адаптаційних реакцій організму

За даними літератури, більшість хімічних речовин здатна викликати порушення гемопоезу, змінювати загальну кількість лейкоцитів периферичної крові. Враховуючи цей факт, імунологічне обстеження осіб, що контактують з хімічними сполуками, повинне починатися з визначення клітинного складу периферичної крові за стандартними гематологічними методами.

На основі лейкоцитарної формули за методикою А.Я. Осіна проводять підрахунок співвідношень окремих популяцій лейкоцитів, що може використовуватися з метою характеристики клітинних реакцій неспецифічного і специфічного захисту організму. Визначають індекс співвідношення нейтрофілів та лімфоцитів (ІСНЛ), який відображає клітинний баланс показників неспецифічного та специфічного захисту; індекси співвідношення нейтрофілів і моноцитів (ІСНМ), нейтрофілів та еозинофілів (ІСНЕ), моноцитів та еозинофілів (ІСМЕ), що дають певне уявлення про роль кожного компонента мікрофагальної та макрофагальної системи захисту організму; індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ), який вказує на можливу взаємодію ефекторної та афекторної ланок імунної відповіді; індекс співвідношення лімфоцитів та еозинофілів (ІСЛЕ), який дозволяє судити про кількісну рівновагу клітин, що беруть участь у реакціях гіперчутливості сповільненого та негайного типів.

На основі лейкоцитарної формули та загальної кількості лейкоцитів крові за методом Л.Х. Гаркаві і співавт. можуть бути охарактеризовані адаптаційні можливості організму з виділенням наступних типів індивідуальних адаптаційних реакцій:

реакція тренування (РТ) – число лімфоцитів у межах 21-27 %, нейтрофілів, еозинофілів, моноцитів і лейкоцитів – у межах норми;

реакція активації: *реакція спокійної активації* (РСА), коли кількість лімфоцитів 28-33 %, лейкоцитів – 4,0-8,0 Г/л та *реакція підвищеної активації* (РПА) з числом лімфоцитів більше 33 % та до 40-45 % індивідуально, лейкоцитів – більше 8,0 Г/л, інші показники лейкограми у межах норми;

гострий стрес (ГС) – число лімфоцитів менше 20 %, паличко- і сегментоядерних нейтрофілів – вище норми, еозинофілів – 0, моноцитів – норма і вище, лейкоцитів – більше 8,0 Г/л;

хронічний стрес (ХС) – число лімфоцитів менше 20 %, сегментоядерних нейтрофілів – вище норми, паличкоядерних – норма і вище, еозинофілів – 0, норма і вище, моноцитів – у межах норми і вище, лейкоцитів – менше, більше і норма;

реакція переактивації (РП) – число лімфоцитів більше 40 % або 45 %, сегментоядерних нейтрофілів нижче норми, інші форменні елементи в межах норми.

Вище зазначені реакції РТ, РСА, РПА, за даними авторів, належать до фізіологічних з достатніми резервними можливостями для їх відновлення.

Відхилення від параметрів, вказаних для реакцій тренування й активації, є свідченням напруження гомеостазу. Реакції ГС і ХС, РП вважаються нефізіологічними, характерними для розвитку патологічного процесу.

Визначення індивідуальних адаптаційних реакцій може бути використано для характеристики загально-біологічної реактивності організму та його резервних можливостей в осіб, які зазнають впливу різних хімічних сполук.

3.2. Показники неспецифічної резистентності

Захист організму від несприятливих чинників доквілля передусім забезпечує неспецифічна резистентність. До факторів неспецифічної або природної резистентності належать нормальна мікрофлора, механічні бар'єри шкіри і слизових оболонок, гуморальні (лізоцим, пропердин, комплемент, інтерферони, лізини та ін.), клітинні (макрофаги, лейкоцити, природні кілерні клітини) компоненти захисту.

За даними літератури, хронічний вплив хімічних сполук на організм викликає зниження активності лізоциму, комплементу, бактерицидної активності сироватки крові, пригнічує процес фагоцитозу, наслідком чого є зниження опірності до інфекцій та ризик новоутворень.

Лізоцим – антибактерійний фермент, міститься в крові, секретатах і тканинах. Найбільш висока концентрація його в слині, сльозах, секреті бронхів. У сечі в нормі лізоциму немає або виявляється в незначній кількості. Активність лізоциму можна оцінювати візуальним (метод серійних розведень у рідкому середовищі або дифузії в агарі), а також турбодиметричними (спектрофотометрія, фотоколориметрія, нефелометрія) методами.

Система комплементу – одна з провідних складових неспецифічної резистентності організму, відіграє суттєву роль у розвитку імунних і запальних реакцій. Вона представлена більш ніж 20 білками плазми крові, основна маса яких циркулює у вигляді проферментів. Характерною особливістю її є послідовна активація компонентів комплементу та виражена біологічна активність продуктів активації. Активація комплементу призводить до лізису клітин, на яких фіксований комплемент, підсилення фагоцитозу імунних комплексів і бактерій; збільшення виходу ферментів із лізосом; стимуляції гістаміноутворення з підвищенням проникності судин; підсилення хемотаксису та ін. Існує декілька методів оцінки активності системи комплементу. Найбільш відомим є визначення загальної гемолітичної активності за титром комплементу (50 % або 100 % гемоліз). Для повної характеристики системи комплементу визначають його окремі компоненти (С3, С4, С5 та ін.) методом РІД, ІФА та турбодиметрії.

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Здатність сироватки пригнічувати ріст мікроорганізмів розглядається як її бактерицидна активність. Бактерицидність залежить від рівня природних антитіл, неспецифічних гуморальних факторів сироватки, комплекменту та ін.

Основним клітинним механізмом неспецифічної резистентності є фагоцитоз. Фагоцитоз – загально-біологічний процес поглинання та перетравлення клітиною різних субстанцій (мікроорганізмів, вірусів, фрагментів клітин тощо). Фагоцитоз здійснюється в основному нейтрофілами та макрофагами. Це явище відіграє важливу роль у формуванні протимікробного, противірусного, протипухлинного, трансплантаційного імунітету, формуванні імунної толерантності. Фагоцитоз – це не тільки знищення патогенних агентів, але й головний механізм елімінації з організму імунних комплексів, тому його ефективність тісно пов'язана з активністю системи комплекменту, концентрацією опсонізуючих факторів.

Визначення показників фагоцитозу має значення для оцінки стану імунореактивності та прогнозування розвитку інфекційно-запальних процесів в організмі. Для визначення показників фагоцитозу використовують такі цитохімічні методи: визначення фагоцитарної активності нейтрофільних лейкоцитів, лізосомально-катіонний тест, НСТ-тест, визначення активності мієлопероксидази.

Натуральні (природні) кілери (НК) – популяція клітин, яка здатна лізувати пухлинні та інфіковані вірусом клітини (проявляти цитотоксичну активність) без попередньої сенсibilізації. НК відводиться провідна роль у забезпеченні клітинних механізмів природної резистентності організму. Вони утворюють «першу лінію захисту» протипухлинного та противірусного імунітету. Ця клітинна популяція має важливе значення в забезпеченні контролю за процесами диференціювання та проліферації в системі гемо- та лімфоцитопоезу. Методи визначення активності природних цитотоксичних клітин поділяють на 2 групи: радіометричні та нерадіометричні. Радіометричні методи базуються на тому, що в клітині-мішені вводиться радіоактивна мітка, а облік реакції проводиться за кількістю ізотопу, який вийшов з пошкоджених природними кілерами мішеней. З відомих методів визначення цитотоксичної активності клітин найбільш простим і доступним у дослідженнях є мікроскопічний метод.

3.3. Стан гуморального імунітету

Гуморальну ланку адаптивної імунної відповіді опосередковують антитіла, які є головними захисними речовинами факторами організму. Антитіла здатні зв'язувати антиген, запобігати його поширенню в організмі, нейтралізувати біологічну активність токсинів і запобігати прикріпленню патогенів до рецепторів клітин-мішеней. Стан гуморальної ланки імунної системи визначається за

рівнем імуноглобулінів різних класів у сироватці крові, який відіграє важливу роль у діагностиці первинних і вторинних імунодефіцитів, визначенні ефективності вакцинації, діагностиці аутоімунних, лімфопроліферативних процесів та інфекційних захворювань різної етіології.

Визначення рівня секреторного імуноглобуліну А (sIgA) є важливим діагностичним критерієм при вивченні місцевого імунітету. Саме ці антитіла забезпечують антиінфекційний захист слизових оболонок організму, оскільки знаходяться в слизових секретах і рідинах.

Одним з механізмів елімінації антигену з організму, як відомо, є зв'язування антигену з антитілом з утворенням імунного комплексу. Циркулюючі імунні комплекси здатні приєднувати компоненти комплекменту й утворювати конгломерати, що можуть відкладатись в тканинах і на судинній стінці, викликаючи її пошкодження за рахунок активації комплекменту, та призводити до розвитку ускладнених запальних реакцій в судинах, нирках і суглобах. Відкладення комплексів АГ-АТ розцінюється як основний патогенетичний фактор органоспецифічних аутоімунних захворювань. Вважається, що виникнення таких захворювань пов'язане з порушенням імунорегуляторних механізмів внаслідок пригнічення супресивної активності Т-лімфоцитів, підвищеної функції Т-хелперів і В-клітин, що призводять до гіперпродукції аутоантитіл різної специфічності. Причини та механізми формування неконтрольованого імунокомплексного процесу досить різноманітні.

3.4. Оцінка клітинної ланки імунітету

Клітинний імунітет, як відомо, здійснюється сенсibilізованими (імунними) Т-лімфоцитами проти клітин, які містять на своїй поверхні вірусні або мікробні антигени, аллоантигени, специфічні пухлинні антигени. Унаслідок клітинних реакцій відбувається елімінація патогенних мікробів, що проникли в організм, деструкція пухлинних тканин, відторгнення трансплантату. Т-лімфоцити в рамках імунної відповіді виконують різні функції. Це пов'язано з існуванням різних субпопуляцій Т-лімфоцитів, «запрограмованих» на реалізацію конкретного завдання з метою підтримки імунного гомеостазу. За даними літератури, більшість хімічних речовин здатна змінювати кількість і функціональну активність Т- і В-лімфоцитів крові. Визначення числа Т- і В-лімфоцитів та Т-субпопуляцій відіграє важливу роль для діагностики імунодефіцитних станів, контролю за їх лікуванням, діагностики лімфопроліферативних захворювань, тяжкої інфекції, оцінки імуносупресивної терапії та ін.

Для визначення кількості Т- і В-лімфоцитів застосовують сучасні імунохімічні методи з використанням моноклональних антитіл (МкАт) та проточної цитометрії. Згідно з Міжнародною класифікацією, всі основні антигенні маркери лімфоцитів позначено як кластери ди-

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

ференціювання – «CD» (*cluster of differentiation*), які мають відповідний номер. Набір різних CD на поверхні окремої клітини формує її фенотип. Для загальних Т-лімфоцитів – це CD3+, Т-хелперів/індукторів – CD4+, Т-лімфоцитів кілерів (супресорів) – CD8+, В-лімфоцитів – CD19+, CD20+, CD22+, натуральних кілерів (NK) – CD16+, CD56+, CD57+. Для діагностики імунодефіцитних станів важливим є визначення клітин CD4+ (Т-хелперів/індукторів), які беруть активну участь у регуляторних процесах імунної системи, вони запускають реакції клітинного та гуморального імунітету і поділяються на дві субпопуляції – 1-го і 2-го типів, які виконують різні функції за рахунок продукції інтерлейкінів. Так, Т-хелпери 1-го типу (Th 1) продукують γ -ІФН, ІЛ-2 і ФНП-фактор некрозу пухлин, які активують макрофаги, НК, дозрівання цитотоксичних Т-лімфоцитів-кілерів і забезпечують розвиток клітинної імунної відповіді. Т-хелпери 2-го типу (Th 2) продукують ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10 і ІЛ-13, що відповідають за розвиток гуморальної імунної відповіді, у тому числі за продукцію ІgЕ. ІЛ-10 пригнічує Th 1. Таким чином, від функціонального балансу Th 1 і Th 2 залежить спрямованість імунної відповіді в нормі й особливості клінічних проявів у період розвитку імунопатології. Популяція CD8+ належить до Т-лімфоцитів-кілерів (супресорів), які можуть диференціюватись у Т-кілер (цитотоксичний лімфоцит) або Т-супресор і виконувати різні функції залежно від потреб організму. CD8+-цитотоксичні лімфоцити беруть участь у механізмі відторгнення алотрансплантатів, автоімунних реакціях, руйнують вірусифіковані та пухлинні клітини. Співвідношення Th/Ts є важливим імунорегуляторним індексом і відіграє значну роль у підтриманні нормальної імунної відповіді.

Функціональну активність лімфоцитів крові оцінюють у реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) з неспецифічними мітогенами. Феномен бластної трансформації полягає у здатності лімфоцитів під впливом мітогенів або специфічних антигенів переходити в бласти (недиференційовані клітини, здатні до інтенсивного поділу). Реакція бластної трансформації дозволяє *in vitro* оцінити функціональну активність лімфоцитів. Як Т-клітинні мітогени використовують фігогемаглютинін (ФГА) або конканавалін А (Кона), для оцінки активності В-лімфоцитів – мітоген лаконосу та інші ліпополісахариди (ЛПС). Спонтанна РБТЛ у здорових осіб перебуває в межах 1-6 % (за рахунок малих бластів). Середні показники РБТЛ на ФГА в межах 60-80 %, знижений рівень РБТЛ – 40-59 % і різко знижений – нижче 40 %. РБТЛ з Кона (неспецифічні Т-супресори), як правило, нижча ніж у культурах ФГА, на 20-30 %. Неспецифічним мітогеном для В-лімфоцитів є ЛПС, який трансформує в бласти 30 % лімфоцитів периферичної крові, в

той час як під впливом специфічних антигенів у бластній формі трансформується не більше 15-30 % малих лімфоцитів. Здатність до бласттрансформації відображає функціональну активність лімфоцитів, а РБТЛ є критерієм специфічної реактивності Т- і В-лімфоцитів, загальної імунної реактивності та застосовується для оцінки імунного статусу організму при різних патологічних станах. Є два методи оцінки РБТЛ – морфологічний і колориметричний.

4. ТИПИ ТА МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ АЛЕРГІЇ ДО ХІМІЧНИХ РЕЧОВИН

Алергія – це стан підвищеної чутливості (гіперчутливості) організму, пов'язаний із синтезом антитіл (реакції негайного типу) або сенсibilізованих лімфоцитів (реакції сповільненого типу) до речовин різної природи. За класифікацією Джела і Кумбса (1964), виділяють чотири типи гіперчутливості. За останні роки цю класифікацію доповнено V типом.

I тип – анафілактичний (негайний), пов'язаний із синтезом антитіл ІgЕ (реагіни), які мають високу спорідненість до базofilів тканин і периферичної крові. У разі повторного надходження алергену в організм при дегрануляції базofilів відбувається вивільнення тромбоцит-активуючого фактору, гістаміну, лейкотрієнів, простагландинів, які сприяють інактивації й елімінації алергену.

II тип – цитотоксичний, реалізується так, як і I тип, антитілами, але інших класів – ІgG, ІgM (преципітини й аглютиніни), які взаємодіють з антигенами, що знаходяться на поверхні клітин.

III тип – імунокомплексний, також відбувається за участю ІgG та ІgM, які взаємодіють з розчинними антигенами (а не з АГ на поверхні клітин) з утворенням циркулюючих імунних комплексів, які у разі фіксації в мікроциркуляторному руслі призводять до активації комплементу, вивільнення лізосомних ферментів, утворення кінінів, вивільнення гістаміну, серотоніну, пошкодження ендотелію і до агрегації тромбоцитів з наступним пошкодженням тканин.

IV тип – клітинопосередкований (гіперчутливість сповільненого типу), в основі якого лежить взаємодія цитотоксичного (сенсibilізованого) Т-лімфоцита зі специфічним антигеном, що призводить до вивільнення Т-клітинами групи цитокінів, які опосередковують прояви сповільненої гіперчутливості.

V тип – стимулювальний, при реалізації якого відбувається не пошкодження клітин, а активація їх функцій. Особливістю цих реакцій є те, що в них беруть участь антитіла, які не приєднують комплемент. Слід відзначити, що у механізмах розвитку окремих нозологічних форм алергій беруть участь, як правило, не один, а декілька типів реакцій гіперчутливості, що також повинно бути враховано при діагностиці алергічних станів.

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

На сьогодні існують тисячі хімічних речовин, які в умовах виробництва можуть викликати алергічні реакції та захворювання. Сильні сенсibiliзувальні властивості мають ароматичні аміно- і нітросполуки – динітрохлорбензол, паранітрозодиметилаланін; проявники: гідроксінон та диетил-парафенілендіамінсульфат, пірокатехін, урсол; деякі синтетичні смоли – фенолформальдегідні, епоксидні та поліефірні. Часто алергічні професійні захворювання викликають скипідар, формалін, тіурам, каучуки, хлоровані вуглеводні та інші отрутохімікати. Алергенами є також метали та їх сполуки – хром, нікель, кобальт, платина, ртуть. Алергенність промислових хімічних сполук залежить від їхнього складу та структури білків-носіїв. Найбільш активними щодо зв'язку з білками організму є такі реакційно здатні групи, як галогенні, ізоціанатні й тіоізоціанатні, альдегідні, ртутьорганічні, меркаптанові тощо. Більшість з них не розчинні у воді та мають сильні токсичні та подразнювальні властивості. Ці особливості визначають необхідність дотримуватись умов при використанні їх для імунологічних (алергічних) реакцій з метою виключення цитотоксичної та денатуруючої дії досліджуваних речовин на клітини або сироватку крові.

Для лабораторної специфічної діагностики професійних алергій використовується комплекс методів, запропонований Л.А. Дуевою і співавт. (Москва, 1980), який дозволяє оцінити різні сторони і механізми імунної відповіді на дію хімічних алергенів. Колективом авторів Інституту медицини праці АМНУ під керівництвом Ю.І. Кундієва та І.М. Трахтенберга виданий «Перелік промислових алергенів» (Київ, 2007).

Методи визначення реакції клітин на хімічні алергени *in vitro*:

- реакція специфічної агрегації лейкоцитів крові (РСАЛ),
- тести пошкодження та альтерації нейтрофілів крові,
- реакція специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ).

Виявлення циркулюючих антитіл до хімічних алергенів:

- реакція специфічної мікропреципітації у рідкому середовищі,
- дослідження рівнів IgE за допомогою імуноферментних тест-систем.

IgE антитіла належать до реактивів і характерні для I типу (негайної) гіперчутливості. Синтез IgE відбувається переважно в лімфоїдній тканині шкіри, дихальних шляхів, кишок і в лімфатичних вузлах. Сьогодні для визначення IgE використовують комерційні тест-системи для імуноферментного аналізу (ІФА). Визначають загальні та специфічні IgE антитіла.

До неспецифічних методів діагностики алергії належить визначення за допомогою тест-систем для ІФА концентрації гістаміну, рівня триптази (специфічний протеолітичний фермент тканинних базофілів, що виділяється при їхній дегрануляції).

5. РОЗВИТОК АВТОІМУННОГО ПРОЦЕСУ ЯК НАСЛІДОК ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ТОКСИКАНТІВ

Автоімунний процес – це такий стан організму, за якого відбувається продукування антитіл або цитотоксичних сенсibiliзованих лімфоцитів до нормальних антигенів власного організму. Сьогодні існує багато концепцій механізмів розвитку автоімунітету. Розвиток аутоагресивних імунних реакцій в організмі найчастіше пов'язаний з реалізацією кількох механізмів: активацією «заборонених» клонів лімфоцитів, зміни толерантності до власних антигенів, недостатності супресивних механізмів, порушення балансу цитокінів, зміни фізико-хімічних властивостей аутоантигенів під впливом інфекційних (віруси, бактерії) та неінфекційних (чинники хімічної і фізичної природи) агентів.

На сьогодні встановлено, що хімічні речовини можуть, з одного боку, вступати у взаємодію з макромолекулами організму, змінюючи їх антигенні властивості, а з другого – істотно змінювати процеси активації лімфоцитів, синтез антитіл, продукцію цитокінів тощо.

Аутоантитіла виявляються при багатьох синдромах і захворюваннях. Вони можуть утворюватися до різних аутоантигенів: антигенів клітинної поверхні та клітинних рецепторів, цитоплазматичних і ядерних антигенів, стромальних позаклітинних речовин, розчинних антигенів (фосфоліпіди, міозин, протромбін, тромбопластин) та ін. Аутоантитіла виявляються різними способами: у реакції споживання комплементу з тканинними антигенами, реакції аглютинації еритроцитів, що навантажені тканинними антигенами, методом імунофлуоресценції зразків тканин, імуноферментним та радіоімунним методами.

Деякі токсичні хімічні сполуки, наприклад важкі метали, перхлорати, здатні змінювати функцію щитоподібної залози, зокрема спричиняти її аутоімунні перетворення. Як відомо, аутоімунні захворювання щитоподібної залози характеризуються наявністю в сироватці крові антитіл до одного або більше тиреоїдних антигенів. Наявність аутоантитіл до тиреоглобуліну важлива для визначення етіології гострих і підгострих порушень функції щитоподібної залози. Нормальний вміст аутоантитіл у здорової людини не повинен перевищувати 100 МО/мл.

У людей, які працюють і проживають в умовах впливу токсичних хімічних речовин доцільно також проводити визначення антитіл до ДНК, ревматоїдного фактору, кардіоліпіну та інших аутоантигенів. Антитіла до нативної двоспиральної ДНК високоспецифічні і виявляються при

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

червоному вовчаку. Підвищення рівня таких антитіл також відзначається при активному ревматоїдному процесі. Визначення автоантитіл до ДНК та інших аутоантигенів проводять за інструкцією з використання готових тест-систем для імуноферментного аналізу ТОВ НВЛ «Гранум» м. Харків або інших виробників.

Висновки

Підсумовуючи матеріал, слід наголосити, що вибір показників і методів оцінки стану імунної системи залежить від поставлених завдань, імуномодуючих властивостей тих чи інших факторів.

Оскільки відомо, що більшість хімічних речовин, що використовуються людиною у виробництві, сільському господарстві та побуті, здатні змінювати імунну реактивність, наслідком якої є пригнічення опірності до інфекцій, виникнення злоякісних новоутворень, алергічних та аутоімунних захворювань, оцінка імунного статусу організму за таких умов повинна охоплювати всі зазначені вище імунотоксичні ефекти.

На першому етапі для визначення несприятливого впливу хімічних чинників на імунну систему організму слід використовувати достатньо інформативні і легко відтворювані тести (показники периферичної крові, індекси співвідношення лейкоцитів, типи адаптаційних реакцій), які дозволяють отримати мінімум інтегральних характеристик діяльності головних ланок імунітету. Другим етапом є оцінка основних клітинних і гуморальних компонентів неспецифічної резистентності та специфічної імунної реактивності як відповіді організму на екзогенний подразник. Специфічна діагностика несприятливого впливу хімічних речовин на імунну систему повинна включати методи визначення алергічних та аутоімунних реакцій, які є результатом імуностимулювальної дії ксенобіотиків.

Слід зауважити, що порушення імунного статусу людини можуть бути на фоні розвитку патологічного процесу, тому досліднику достатньо складно відрізнити дисфункцію імунної системи, спричинену хронічним захворюванням, від екологічно чи професійно обумовленої патології. У таких випадках для виявлення імунотоксичної дії ксенобіотиків слід проводити пошук причинно-наслідкових зв'язків між виявленими порушеннями імунітету та дією токсиканта. Для цього дослідження повинні починатися з ретельного збору анамнезу, а обробку й аналіз отриманих даних необхідно проводити із застосуванням відповідних математичних методів, які дозволяють оцінити ступінь взаємозв'язку параметрів, що вивчаються. При інтерпретації результатів імуноло-

гічного обстеження слід звертати увагу на те, що в процесі життєдіяльності організм людини, крім професійних факторів, підпадає під вплив стресу, інфекцій, отже, порушення імунного статусу можуть бути обумовлені їх сукупністю, а також генетичною схильністю організму, його віковими особливостями.

Наведені лабораторні методи надають детальну інформацію про стан неспецифічної резистентності (складових інфекційного та протипухлинного імунітету) та специфічної імунної реактивності (клітинної і гуморальної імунної відповіді) у працюючих та населення в умовах впливу токсичних хімічних речовин.

Отже, результати імунологічного обстеження осіб, які контактують з хімічними речовинами в умовах виробництва, мають як теоретичне значення (вивчення невідомих механізмів регуляції імуногенезу), так і практичне (лікування дисфункцій системи імунітету, що виникають при гострих і хронічних інтоксикаціях), а також можуть бути використані для перегляду гігієнічних нормативів – гранично допустимих концентрацій різних хімічних сполук. Дослідження імунологічної реактивності організму за дії хімічних чинників сприяють розробці методів ранньої діагностики і профілактики професійно та екологічно зумовлених патологій.

VIKLATIUKNS K F IMMUNE STATUS K F HUMAN KRGANISM AT THE ACTIKN K F CHEMICAL FACTKRS ANK METHKRS K F THEIR KETERMINATIKN

I.M. Trakhtenberg, N.M. Dmytrukha, O.S. Molozhava, Yu.M. Myronyuk

SUMMARY. The offered approaches and modern methods of evaluation of immune status: individual adaptative properties of the organism, non-specific resistance, cellular and humoral immunity, revealing of allergic and autoimmune reactions can be recommended as criteria for pre-nozologic characteristics of human health condition. The results of research of immune system together with experimental data of definition of immune toxicity of xenobiotics can be used in the system of toxicological evaluation, prognostication, hygienic fixing and preventing of harmful effect upon the organism both of existing and new chemical compounds.

Key words: immune status, chemical factors, xenobiotics, methods of immunological research.