

Показники фагоцитарної активності, аутосенсibiлізації та пуринового обміну у хворих на пневмоко́ніоз

С. С. Боева, О. А. Ракша-Слюсарева, О. А. Слюсарев

Донецький національний медичний університет, м. Краматорськ, Україна

Ключові слова:

силико́з, пневмоко́ніоз, аутоімунітет, фагоцитоз, ксантиноксидаза, сечова кислота.

Запорізький медичний журнал. – 2018. – Т. 20, № 4(109). – С. 496–502

DOI: 10.14739/2310-1210.2018.4.135362

E-mail: bssmicro@gmail.com

Мета роботи – виявити зміни в ланці неспецифічної резистентності, а також встановити ймовірну наявність аутоімунних реакцій і порушень пуринового обміну в гірників вугільних шахт, які хворі на пневмоко́ніоз.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили у 102 гірників вугільних шахт, які хворі на пневмоко́ніоз, серед них 98 осіб із діагнозом антракосилико́з, 4 – силико́з, а також обстежили 30 умовно здорових гірників. За віком і стажем роботи обстежені гірники були зіставні. Стан неспецифічної резистентності визначали за показниками фагоцитарної (відносний вміст фагоцитів, фагоцитарне число, фагоцитарний індекс), біохімічно зумовленої бактерицидної активності у спонтанному тесті з нітросинім тетразолиєм (НСТ-тест). Наявність і рівень аутоімунного процесу в організмі визначали за циркулюючими імунними комплексами, аутосенсibiлізацією до тканин легенів, тимусу, суглобової тканини, нирок, а також нативної (н-ДНК) та денатурованої ДНК (д-ДНК) у реакції пасивної гемаглютинації. Стан пуринового обміну оцінювали шляхом визначення активності ксантиноксидази та рівня сечової кислоти.

Результати. У гірників вугільних шахт, які хворі на пневмоко́ніоз, виявили значні зміни показників клітинної та гуморальної ланки системи імунітету: різке зниження спонтанної та резервної фагоцитарної здатності нейтрофілів, про що свідчило вірогідне зниження відносного вмісту нейтрофілів, здатних до поглинання мікробних клітин, фагоцитарного числа та фагоцитарного індексу; зміну метаболізму нейтрофілів, що зумовлювало вірогідну недостатність бактерицидної біохімічно спричиненої активності нейтрофілів у спонтанному НСТ-тесті та індексу їхньої активації; розвиток аутоімунних процесів, що проявлялось вірогідним збільшенням вмісту циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові, наявністю вірогідно підвищеної сенсibiлізації організму до власних тканин легенів, нирки, тимусу, суглобів, а також до н-ДНК та д-ДНК; порушення пуринового обміну, зареєстрованого підвищенням у сироватці крові хворих активності ксантиноксидази та рівня сечової кислоти.

Висновки. Виявлені порушення свідчили про механізм розвитку пневмоко́ніозу в гірників вугільних шахт, пов'язаний зі змінами пуринового обміну й виникненням аутоімунних реакцій на тлі недостатності системи неспецифічної резистентності. Це проявляється в чималому зниженні поглинальної та бактерицидної здатності нейтрофілів периферичної крові та збільшенні рівня циркулюючих імунних комплексів, що призводить до підсилення запальних та аутоімунних процесів, створюючи патогенне коло.

Ключевые слова:

силико́з, пневмоко́ніоз, захворювання легких, аутоімунітет, фагоцитоз, ксантиноксидаза, мочевая кислота.

Запорожский медицинский журнал. – 2018. – Т. 20, № 4(109). – С. 496–502

Показатели фагоцитарной активности, аутосенсibiлизации и пуринового обмена у больных пневмоко́ниозом

С. С. Боева, Е. А. Ракша-Слюсарева, А. А. Слюсарев

Цель работы – установить изменения в звене неспецифической резистентности, а также наличие аутоиммунных реакций и нарушение пуринового обмена у горняков угольных шахт, больных пневмоко́ниозом.

Материалы и методы. Исследования проведены у 102 горняков угольных шахт, больных пневмоко́ниозом, среди которых 98 человек с диагнозом антракосилико́з, 4 – с диагнозом силико́з, а также обследовали 30 условно здоровых горняков. Обследованные горняки были сопоставимы по возрасту и стажу работы. Состояние неспецифической резистентности определяли по показателям фагоцитарной (относительное содержание фагоцитов, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс), биохимически обусловленной бактерицидной активности в спонтанном тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тест). Наличие и уровень аутоиммунного процесса в организме определяли по циркулирующим иммунным комплексам, аутосенсibiлизации к тканям легких, тимуса, суставной ткани, почек, а также нативной (н-ДНК) и денатурированной ДНК (д-ДНК) в реакции пассивной гемаглютинации (РПГА). Состояние пуринового обмена оценивали путем определения активности ксантиноксидазы и уровня мочево́й кислоты.

Результаты. У горняков угольных шахт, страдающих пневмоко́ниозом, обнаружены значительные изменения показателей клеточного и гуморального звена системы иммунитета: резкое снижение спонтанной и резервной фагоцитарной способности нейтрофилов, о чем свидетельствовало достоверное снижение относительного содержания нейтрофилов, способных к поглощению микробных клеток, фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса; изменение метаболизма нейтрофилов, что обуславливало достоверное снижение бактерицидной биохимически обусловленной активности нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте и индекса их активации; развитие аутоиммунных процессов, что проявлялось в достоверном увеличении содержания циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови, наличии достоверно повышенной сенсibiлизации организма к собственным тканям легких, почки, тимуса, суставов, а также к н-ДНК и д-ДНК; нарушение пуринового обмена, зарегистрированного повышением в сыворотке крови больных активности ксантиноксидазы и уровня мочево́й кислоты.

Выводы. Установленные нарушения свидетельствовали о механизме развития пневмоко́ниоза у горняков угольных шахт, связанном с изменениями пуринового обмена и возникновением аутоиммунных реакций на фоне недостаточности системы неспецифической резистентности. Это отражается в значительном снижении поглощающей и бактерицидной способности нейтрофилов периферической крови и увеличении уровня циркулирующих иммунных комплексов, что ведет к усилению воспалительных и аутоиммунных процессов, создавая патогенный круг.

Indicators of phagocytic activity, autosensibilization and purine metabolism in patients with pneumoconiosis

S. S. Boieva, O. A. Raksha-Sliusareva, O. A. Sliusarev

The purpose of the work is to detect changes in the nonspecific component of resistance as well as to ascertain the probable presence of autoimmune reactions and disturbances of purine metabolism in miners of coal mines suffering from pneumoconiosis.

Materials and methods. 102 coal-miners with pneumoconiosis and 30 healthy miners were examined. The status of nonspecific body resistance was defined by indicators of phagocytic activity (phagocytes relative content, phagocytic number, phagocytic index), bactericidal activity in the spontaneous nitro blue tetrazolium test (NST-tests). The presence and severity of autoimmune processes were determined by the presence and level of circulating immune complexes, autosensibilization to lungs tissue, thymus, joint tissue, kidneys, nDNA and dDNA by passive haemagglutination test. Purine metabolism state was assessed by measuring of xanthine oxidase activity and uric acid level.

Results. Among coal-miners with pneumoconiosis the significant changes in the indicators of cellular and humoral immune responses have been revealed, in particular a reduction of spontaneous and reserve neutrophil phagocytic capacity as evidenced by marked and significant decrease in capable of ingesting microbial cells neutrophils relative count as well as phagocytic number and phagocytic index. Changes in neutrophils metabolism caused a decrease in neutrophil bactericidal activity in the spontaneous NST-tests and index of their activation; the development of autoimmune processes, which manifested as an increase in the blood serum content of circulating immune complexes, increased body sensibilization to its organs and even to nDNA and dDNA; an increase in xanthine oxidase activity and uric acid level.

Conclusions. The disturbances revealed demonstrated the mechanism of pneumoconiosis development among miners associated with the changes in purine metabolism and autoimmune reactions development against the background of non-specific resistance system deficiency which reflected in a decrease of peripheral blood neutrophils absorbing and bactericidal capacity and an increase in circulating immune complexes level, which in turn resulted in inflammatory and autoimmune processes intensification.

Key words:

silicosis, pneumoconiosis, autoimmunity, phagocytosis, xanthine oxidase, uric acid.

Zaporozhye medical journal
2018; 20 (4), 496–502

Професійні хвороби становлять чималу частку в загальній захворюваності населення України. Хвороби органів дихання, зокрема легень, є однією з важливих проблем професійної патології. Ураження дихальної системи, як от пилові захворювання легень, реєструють найчастіше серед професійних хвороб. Їхнє прогресування призводить до зниження якості життя, інвалідності, смертності й значних соціально-економічних витрат в Україні і світі [1,2]. Серед професійно зумовлених захворювань системи дихання перше місце посідають пневмоконіози, що домінують у працівників вугледобувної промисловості. Методи лікування пневмоконіозу залишаються мало-ефективними й потребують доопрацювання. Шахтарі, які не тільки працюють у складних умовах, але й часто проживають в умовах екологічної кризи старопромислових регіонів, часто додатково зазнають впливу комбінації негативних факторів довкілля. У старопромислових екокривозних областях, зокрема в Донецькій, спостерігають постійні зміни етіологічних і розширення спектра шкідливих чинників довкілля, що негативно впливають на організм людини [3]. У зв'язку з цим актуальність проблеми профілактики та лікування пневмоконіозів у шахтарів вугільних шахт не зменшується.

Патогенез розвитку пневмоконіозу вивчено недостатньо, а отже адекватні патогенетичні методи лікування цього професійного захворювання не розроблені. Встановлено, що запальні процеси системи дихання при легневих запиленнях, спричинених роботою в умовах цементного виробництва, виробництва керамічних матеріалів, гірничорудної промисловості, супроводжуються порушеннями імунологічної реактивності організму [4]. Відомості, що отримані в результаті досліджень щодо ролі системи імунітету в розвитку пилкових захворювань легень і пневмоконіозу, мають чималі розбіжності. Так, при пневмоконіозі встановлено як наявність запальних процесів та активацію системи імунітету [5], так і розвиток її недостатності. Тобто можна припускати, що результати імунологічних досліджень реєструють зміни

в системі імунітету при пневмоконіозі як дисбаланс, що проявляється і підвищенням, і зниженням окремих показників її клітинної та гуморальної ланок [6]. Отже, роль системи імунітету в розвитку пневмоконіозу досліджена недостатньо й потребує уточнення.

За даними деяких авторів, встановлено зв'язок між розвитком деяких пилових захворювань легень і розвитком аутоімунних захворювань, зокрема таких великих колагенозів, як ревматоїдний артрит [7]. При цьому в основі механізму розвитку великих колагенозів лежить порушення пуринового обміну, який відіграє вкрай важливу роль у проліферації, диференціюванні та функціонуванні клітин і субклітинних структур. Пурини необхідні для енергозабезпечення клітин, беручи участь у регуляції різноманітних ферментативних реакцій і здійсненні таких процесів у клітині, як її рухливість і транспорт іонів через мембрану [8]. Пуриновий обмін є ключовою ланкою, через яку опосередковується токсичний вплив різних імуносупресивних факторів, що знижують життєздатність лімфоцитів. Недостатність ферментів пуринового обміну може призводити до розвитку імунодефіциту, насамперед Т-системи. Надлишок ферментів пуринового обміну може мати опосередкований токсичний ефект для клітин [9].

Питання про роль пуринового обміну в патогенезі пневмоконіозу та його зв'язок із розвитком системного аутоімунного захворювання залишається відкритим. Виходячи з наведених даних, можна припустити: порушення пуринового обміну також можуть брати участь у механізмі формування пневмоконіозу.

Мета роботи

Виявити зміни в ланці неспецифічної резистентності, а також встановити ймовірну наявність аутоімунних реакцій і порушень пуринового обміну в гірників вугільних шахт, які хворі на пневмоконіоз.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на базі відділення профпатології м. Донецька у 2011–2013 рр. Обстежили 132 гірників вугільних шахт Донбасу, з них 102 особи, які хворі на пневмококоз, і 30 умовно здорових гірників. Серед обстежених гірників основної групи (ГПХ) у 98 осіб діагностували антракосилікоз, у 4 – силікоз. В анамнезі у 30 % хворих із групи ГПХ зареєстрований артрит. Умовно здорові гірники (УЗГ) не страждали на пневмококоз чи інші захворювання дихальної системи й артрит як на час залучення в дослідження, так і анамнезі.

Вік осіб основної та контрольної груп – від 40 до 80 років. У середньому вік осіб групи ГПХ – $57,64 \pm 0,99$ року, в осіб групи УЗГ – $57,23 \pm 1,19$ року ($p < 0,05$).

Стаж роботи в тяжких умовах праці вугільних шахт в обстежених основної та контрольної груп – від 7 до 35 років. Стаж роботи обстежених осіб групи ГПХ становив в середньому $21,98 \pm 0,71$ року, а в обстежених контрольної групи – $22,50 \pm 1,14$ року ($p < 0,05$).

Усі обстежені підписали інформовану згоду на участь у дослідженні.

У дослідженні використовували гепаринізовану венозну кров, яку забирали натще о 8–9 годині ранку, та сироватку крові.

Для реєстрації стану неспецифічної резистентності організму на клітинному рівні вивчали та оцінювали фагоцитарну, бактерицидну активність нейтрофілоцитів периферичної крові. Фагоцитарну активність нейтрофілів (ФАН) визначали за відносним вмістом клітин, що поглинали мікробні частки (добова тест-культура *Staphylococcus aureus*, штам 209), фагоцитарним числом (ФЧ) та фагоцитарним індексом (ФІ) при експозиції 30 хв і 90 хв у термостаті при температурі $+30^\circ\text{C}$ [10]. Бактерицидну біохімічно зумовлену активність нейтрофілів периферичної крові визначали в тесті відновлення нітросинього тетразолію вільним внутрішньоклітинним киснем (НСТ-тест) [11] за відносним вмістом диформазанпозитивних клітин та індексом активації нейтрофілів (ІАН).

Для встановлення наявності та рівня ймовірного аутоімунного процесу в організмі визначали вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові, наявність і рівень аутосенсibiliзації організму до тканин легенів, тимусу, суглобової тканини, нирок, нативної ДНК (н-ДНК) і денатурованої ДНК (д-ДНК). Вміст ЦІК реєстрували за допомогою вимірювання на спектрофотометрі СФ-56 [10]. Для встановлення, оцінювання рівня аутосенсibiliзації організму визначали рівень аутоантитіл у сироватці крові до тканин легенів, тимусу, суглобової тканини, нирок, н-ДНК, д-ДНК, використовуючи реакцію пасивної гемаглютинації (РПГА) [12] у власній модифікації. Для здійснення РПГА як носії антигенів використовували еритроцити людини з 1(0) групою крові, висередник – глютаральдегід. Еритроцити людини Rh-0(1) групи відмивали тричі в ізотонічному розчині натрію хлориду. Надалі осад еритроцитів охолоджували до 0°C на водяній бані, після чого обробляли його 1 % глютаровим альдегідом до 1 % суспензії, інкубували 30 хв при 0°C , періодично перемішуючи. Фіксовані еритроцити відмивали 5 разів 0,15 М NaCl, 5 разів – дистильованою водою. Препарат, що одержали, зберігали у вигляді 30 % суспензії в дистильованій воді з додаванням 0,01 % мертиоляту натрію при $t 4^\circ\text{C}$.

1 мл відмитих фіксованих еритроцитів (5 % у ФСБ з рН 7,2) змішували з 4 мл ФСБ з рН 6,4 та 1 мл розчину антигену. Інкубували впродовж 20 хвилин при $t 25^\circ\text{C}$, тричі відмиваючи ФСБ із рН 7,2 із 0,2 % сироватковим альбуміном.

Готували 1 % суспензію еритроцитів для титрування в розчині NaCl із тканиною легень, тимусу, суглобової тканини, нирок, отримуючи водно-сольовий екстракт, який зберігали у вигляді стерильного розчину при температурі -20°C . Для оцінювання аутосенсibiliзації організму до н-ДНК, д-ДНК використовували комерційний препарат сироватки великої рогатої худоби.

РПГА виконували на мікропанелях апарата Такачі, використовуючи для розведення обладнання мікротитратора. Титр аутоантитіл до сенсibiliзованих тканинними антигенами еритроцитів реєстрували при максимальному розведенні сироватки, коли спостерігається повна гемаглютинація еритроцитів [12].

Для визначення стану пуринового обміну оцінювали активність ксантиоксидази та рівень сечової кислоти. Сечову кислоту в плазмі крові тварин визначали уніфікованим методом з фосфорно-вольфрамовим реактивом [13]. Активність ксантиоксидази у плазмі обстежених гірників визначали при підвищенні екстинції на двох довжинах хвиль – 290 нм (специфічна ділянка поглинання сечової кислоти) та 330 нм (неспецифічна опалесценція розчину) [13].

Статистично експериментальні та розрахункові дані опрацювали з використанням Microsoft Excel і спеціального пакета програм для опрацювання результатів біологічних експериментів. Різницю між даними вважали вірогідною за t-критерієм Стьюдента при $p < 0,05$ [14].

Результати та їх обговорення

Стан неспецифічної резистентності організму (табл. 1) оцінювали за визначенням поглинальної активності фагоцитів, а саме показниками: поглинальна активність нейтрофілів (ФАН) через 30 хв і 90 хв, фагоцитарне число через 30 хв та 90 хв, фагоцитарний індекс через 30 хв і 90 хв, бактерицидна біохімічно зумовлена активність нейтрофілів у НСТ-тесті (НСТ-тест) та індекс активації нейтрофілів у НСТ-тесті (ІАН). Показники фагоцитарної активності мають значні відмінності у групі хворих на пневмококоз гірників вугільних шахт і в контрольній групі умовно здорових гірників вугільних шахт.

Стан поглинальної активності фагоцитів. Поглинальна активність нейтрофілів (ФАН) периферичної крові через 30 хв експозиції з культурою клітин *Staphylococcus aureus* штам 209 мало відрізняється в групах обстежених ГПХ та УЗГ. Через 90 хв експозиції з культурою клітин *Staphylococcus aureus* штам 209 фагоцитарна активність нейтрофілів у групі ГПХ майже не змінюється, а у групі УЗГ збільшується у понад 2 рази ($p < 0,05$). Отже, у хворих на пневмококоз гірників вугільних шахт порівняно з умовно здоровими гірниками значно та вірогідно знижується потенційна здатність мікрофагів периферичної крові до поглинання.

Фагоцитарне число (ФЧ) у групі обстежених ГПХ через 30 хвилин експозиції з культурою клітин *Staphylococcus aureus* штам 209 зареєстровано вдвічі меншим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Фагоцитарне число в

основній групі обстежених через 90 хв експозиції з культурою клітин *Stafilococcus aureus* штам 209 залишається на такому ж рівні, що і при експозиції протягом 30 хв. В умовно здорових гірників контрольної групи фагоцитарне число після експозиції з культурою клітин *Stafilococcus aureus* штам 209 протягом 90 хв значно й вірогідно підвищується ($p < 0,05$). Результати свідчать не тільки про зниження поглинальної здатності нейтрофілів у хворих на пневмококіоз гірників вугільних шахт, але і про зменшення резерву поглинальної здатності цих мікрофагів.

Фагоцитарний індекс (ФІ), що характеризує інтенсивність поглинальної здатності одного окремого фагоцита, в обстежених осіб із групи ГПХ через 30 хв після експозиції з культурою клітин *Stafilococcus aureus* штам 209 виявляється вдвічі меншим за такий в умовно здорових гірників вугільних шахт ($p < 0,05$) і практично не змінюється через 90 хв експозиції з культурою клітин *Stafilococcus aureus* штам 209 ($p < 0,05$). Фагоцитарний індекс у гірників групи УЗГ, який через 30 хв експозиції з культурою клітин *Stafilococcus aureus* штам 209 зареєстрований як вищий порівняно з таким в осіб з групи ГПХ; після експозиції з культурою клітин *Stafilococcus aureus* штам 209 протягом 90 хв, на відміну від показників групи ГПХ, збільшується майже в 5 разів. Зміни показників фагоцитарного індексу в гірників групи УЗГ через 30 хв і 90 хв експозиції з культурою клітин *Stafilococcus aureus* штам 209, як і показники фагоцитарного індексу у групі обстежених ГПХ, при відповідних термінах експозиції з культурою клітин *Stafilococcus aureus* штам 209 зареєстровані як вірогідні ($p < 0,05$). Результати підтверджують зменшення резерву поглинальної здатності нейтрофілів у хворих на пневмококіоз гірників вугільних шахт.

Отже, у хворих на пневмококіоз гірників вугільних шахт як загалом, так і на рівні індивідуальної поглинальної здатності окремого мікрофагоцита – нейтрофіла – зареєстрована виражена недостатність фагоцитарної системи організму. Фагоцитарна система, що представлена мікрофагами – в основному нейтрофілами, забезпечує не тільки поглинання мікробних агентів для наступного перетравлювання й руйнування, але і являє собою ланку системи детоксикації організму, поглинаючи антигенно чужорідні білки, а в гірників вугільних шахт поглинаючи та звільняючи організм від сторонніх часток вугільного пилу, що не перетравлюються. Зниження поглинальної функції мікрофагів є одним із початкових етапів виникнення сенсibiliзації організму до різних антигенів і виникнення алергічних реакцій, зокрема аутосенсibiliзації.

Необхідним етапом роботи, виходячи з отриманих результатів щодо зниженої спонтанної та потенційної поглинальної здатності мікрофагів у гірників вугільних шахт, хворих на пневмококіоз, було дослідження бактерицидної здатності нейтрофілів периферичної крові.

Стан бактерицидної активності фагоцитів. Бактерицидна біохімічно зумовлена активність за спонтанним НСТ-тестом показує метаболічний потенціал клітин, що фагоцитують, а саме нейтрофілів, які перебувають у спокої. Результати досліджень свідчать: спонтанна біохімічно зумовлена бактерицидна активність нейтрофілів периферичної крові у групі обстежених ГПХ, як

Таблиця 1. Показники стану неспецифічної резистентності в гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококіоз (основна група), та в умовно здорових гірників (контроль) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

| Показник, одиниці вимірювання | Контрольна група n = 30 | Основна група n = 102 |
|---|----------------------------|--------------------------|
| Фагоцитарна активність нейтрофілів 30 хв, % | 37,97 ± 2,37 | 32,68 ± 0,32* |
| Фагоцитарна активність нейтрофілів 90 хв, % | 79,53 ± 1,91 | 37,15 ± 0,20* |
| Фагоцитарне число 30 хв, кількість <i>Stafilococcus aureus</i> , штам 209, клітин | 12,87 ± 0,39 | 6,22 ± 0,12* |
| Фагоцитарне число 90 хв, кількість <i>Stafilococcus aureus</i> , штам 209, клітин | 27,33 ± 0,82 | 6,61 ± 0,11* |
| Фагоцитарний індекс 30 хв | 4,89 ± 0,09 | 2,03 ± 0,02* |
| Фагоцитарний індекс 90 хв | 21,73 ± 0,81 | 2,23 ± 0,35* |
| Тест по відновленню нітросиноного тетразолію, % | 20,69 ± 0,88 | 11,55 ± 0,76* |
| Індекс активності нейтрофілів в НСТ-тесті, у.о. | 0,32 ± 0,02 | 0,14 ± 0,02* |

*: вірогідні відмінності між показниками гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококіоз, та умовно здорових гірників.

і поглинальна здатність, зареєстрована як значно та вірогідно нижча, ніж в умовно здорових гірників вугільних шахт ($p < 0,05$). Індекс активації нейтрофілів, який характеризує індивідуальну готовність окремого фагоцита до бактерицидної активності, у спонтанному НСТ-тесті зареєстрували в обстежених із групи ГПХ як значно та вірогідно менший, ніж в умовно здорових гірників контрольної групи ($p < 0,05$). Тобто виявили значне й вірогідне зниження індивідуальної біохімічно зумовленої активності нейтрофілів як загалом, так і індивідуальної активації окремих нейтрофілів до бактерицидної біохімічно зумовленої активності.

Узагальнюючи отримані на цьому етапі роботи дані, відзначимо, що вони демонструють знижену здатність нейтрофілів периферичної крові обстежених групи ГПХ до руйнування поглинутих ними антигенів. Відомо, що мікрофаги як елементи клітинної ланки неспецифічної резистентності організму відповідальні за поглинання, наступне руйнування й виведення циркулюючих імунних комплексів АГ+АТ (ЦІК) з організму. Нездатність до цієї функції нейтрофілів, що виявлено у групі ГПХ, відома як один із механізмів накопичення ЦІК і може мати значення в розвитку запальних процесів, алергічних реакцій та аутоімунних захворювань, включаючи колагенози. У зв'язку з цим, для уточнення механізмів патогенезу пневмококіозу важливе значення має дослідження ймовірності розвитку аутоімунних процесів в організмі гірників вугільних шахт, які хворі на цю патологію.

Стан організму щодо аутоімунного процесу, який визначали за такими показниками, як рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові та наявність і рівень аутосенсibiliзації до власних тканин організму за даними в РПГА (рис. 1), показує відмінності в гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококіоз, і умовно здорових гірників вугільних шахт.

Дослідження рівнів циркулюючих імунних комплексів. Рівень ЦІК у сироватці крові хворих основної групи становить $82,10 \pm 1,37$ од. опт. густини, зареєстрований як значно та вірогідно вищий за показники контрольної групи – $49,20 \pm 2,97$ од. опт. густини ($p < 0,05$). Це дотично підтверджує ймовірну наявність запального та/чи аутоімунного процесу в організмі обстежених групи ГПХ. Наявність підвищеного вмісту ЦІК як одного з показників розвитку аутоімунного процесу підтверджується даними наступних досліджень щодо наявності ймовірної

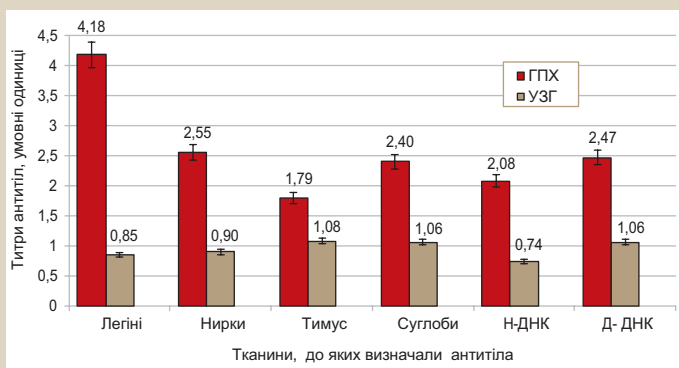


Рис. 1. Рівні аутоантитіл у хворих на пневмококоз гірників вугільних шахт (ГПХ) та умовно здорових гірників (УЗГ) шахт у контролі до тканин легень, нирки, тимусу, суглобів, а також нативної ДНК, денатурованої ДНК (lnM ± m).

Таблиця 2. Показники пуринового обміну в гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз (основна група), та в умовно здорових гірників (контроль) ($\bar{X} \pm Sx$)

| Показники, одиниці вимірювання | Основна група n = 102 | Контрольна група n = 30 |
|--|--------------------------|----------------------------|
| Активність ксантинооксидази, мкмоль/л·хв | 5,730 ± 0,132* | 1,610 ± 0,132 |
| Сечова кислота, ммоль/л | 0,568 ± 0,030* | 0,250 ± 0,040 |

*: вірогідні відмінності між показниками гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз, та умовно здорових гірників.

сенсипілізації організму до власних тканин за вмістом аутоантитіл.

Аутосенсипілізація до власних тканин організму. Досліджуючи аутосенсипілізацію до власних тканин організму при визначенні їх у реакції пасивної гемаглютинації й вираженні в титрах (lnM ± m), встановили наявність аутоантитіл до тканин легень, нирки, тимусу, суглобів, а також нативної ДНК, денатурованої ДНК як у групі гірників вугільних шахт, хворих на пневмококоз, так і в групі умовно здорових гірників вугільних шахт. Рівні антитіл до власних тканин легень, нирки, тимусу, суглобів, нативної ДНК та денатурованої ДНК в осіб контрольної групи (УЗГ) – від 0,74 ± 0,09 у. од. до 1,08 ± 0,18 у. од. Показники титрів антитіл до всіх досліджуваних аутоантигенів у гірників вугільних шахт, хворих на пневмококоз, – у межах від 1,79 ± 0,13 у. од. до 4,18 ± 0,14 у. од. Різниця між величинами титрів аутоантитіл до всіх досліджуваних тканин організму у групі УЗГ й у гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз, зареєстрована як значуща та вірогідна (p < 0,05). Найбільші титри аутоантитіл в осіб контрольної групи визначили до тканин тимусу, суглобів і денатурованої ДНК, а найменші – до тканин легень і нативної ДНК. На відміну від групи УЗГ, у гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз, найбільші титри аутоантитіл зареєстрували до тканин легень, нирок і денатурованої ДНК. Найнижчі титри аутоантитіл у гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз, виявили до тканин тимусу та нативної ДНК.

Підсумовуючи результати цього етапу роботи, відзначимо наявність вірогідних відмінностей у титрах аутоантитіл до власних тканин організму в обстежених групі ГПХ порівняно з особами з групи УЗГ. Це підтверджує наявність аутоімунного процесу в організмі обстежених

гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз. Заслужує на увагу, що у групі ГПХ надзвичайно підвищені титри аутоантитіл до тканин легень як органу, котрий уражається найпершим при пневмококозі, порівняно з титрами цих аутоантитіл у сироватці крові УЗГ і з титрами аутоантитіл до інших досліджуваних тканин (нирки, тимусу, суглобів, нативної ДНК, денатурованої ДНК) у гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз. Виявили також підвищення титрів аутоантитіл до тканин нирки в основній групі обстежених. Ураження цього основного органа системи детоксикації, як і легень, знижує активність системи детоксикації організму і збільшує його інтоксикацію, що також підсилює запальні процеси. Беручи до уваги, що тимус є центральним органом системи імунітету та регулює пул імунокомпетентних Т-лімфоцитів, збільшення рівнів аутоантитіл до його тканини, що виявили в гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз, свідчить про ураження системи імунітету на рівні її Т-ланки. Це, безперечно, призводить до дисбалансу в системі імунітету й посилення аутоімунних процесів.

Стан показників пуринового обміну (табл. 2) за визначенням у сироватці крові активності ксантинооксидази й рівня сечової кислоти свідчить про чималі відмінності в гірників вугільних шахт, хворих на пневмококоз, та в умовно здорового контингенту гірників.

Отже, у крові обстежених із групи ГПХ активність ксантинооксидази майже вчетверо перевищує таку у здорових гірників вугільних шахт. Отримана різниця за показниками ксантинооксидази в основній і контрольній групах гірників вугільних шахт вірогідна (p < 0,05). Концентрація сечової кислоти у крові гірників вугільних шахт, які хворі на пневмококоз, більш ніж вдвічі перевищує таку в осіб із групи УЗГ. Отримані відмінності щодо показників вмісту сечової кислоти у крові в осіб із груп ГПХ та УЗГ вірогідні (p < 0,05). Узагальнюючи результати цього етапу роботи, відзначили суттєве підвищення активності одного з ферментів пуринового обміну та вмісту сечової кислоти, що є ознакою порушення пуринового обміну й призводить до дисбалансу в системі імунітету, підвищення інтоксикації та руйнування клітин і розвитку аутоімунних процесів.

Дослідження показали, що механізм розвитку пневмококозу в гірників вугільних шахт пов'язаний зі змінами пуринового обміну й виникненням аутоімунних реакцій на тлі недостатності системи неспецифічної резистентності, що проявляється у зниженні поглинальної та бактерицидної здатності нейтрофілів периферичної крові та збільшенні рівня циркулюючих імунних комплексів. Це призводить до підсилення запальних та аутоімунних процесів, створюючи патогенне коло.

Висновки

1. Розвиток пневмококозу в гірників вугільних шахт супроводжується порушеннями показників неспецифічної резистентності.

2. У розвитку пневмококозу в гірників вугільних шахт чималу роль відіграють аутоімунні процеси, що зареєстровані як підвищення рівнів циркулюючих імунних комплексів і рівнів аутоантитіл до власних тканин організму, передусім до тканин легень і тимусу.

3. У гірників вугільних шахт, які хворі на пневмоконіоз, виявили порушення пуринового обміну, що проявляються підвищенням активності ферменту ксантиноксидази та збільшенням вмісту сечової кислоти, а це може підсилювати дисбаланс системи імунітету.

4. Механізм розвитку пневмоконіозу в гірників вугільних шахт пов'язаний зі змінами пуринового обміну, виникненням аутоімунних реакцій на тлі недостатності системи неспецифічної резистентності, що проявляється у значному зниженні поглинальної та бактеріцидної здатності нейтрофілів периферичної крові, збільшенні рівня циркулюючих імунних комплексів. Це призводить до підсилення запальних та аутоімунних процесів, створюючи патогенне коло.

Перспективи подальших досліджень. Дані досліджень щодо ролі порушень у системі неспецифічної резистентності організму, стану аутоімунітету й пуринового обміну при пневмоконіозі дадуть можливість надалі розробити адекватне лікування цього захворювання на патогенетичному рівні.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Босва С. С., канд. мед. наук, доцент каф. медичної біології, мікробіології, вірусології та імунології, Донецький національний медичний університет, м. Краматорськ, Україна.
Ракша-Слюсарєва О. А., д-р мед. наук, професор каф. медичної біології, мікробіології, вірусології та імунології, Донецький національний медичний університет, м. Краматорськ, Україна.

Слюсарєв О. А., канд. мед. наук, доцент каф. медичної біології, мікробіології, вірусології та імунології, Донецький національний медичний університет, м. Краматорськ, Україна.

Сведения об авторах:

Босва С. С., канд. мед. наук, доцент каф. медицинской биологии, микробиологии, вирусологии и иммунологии, Донецкий национальный медицинский университет, г. Краматорск, Украина.

Ракша-Слюсарєва Е. А., д-р мед. наук, профессор каф. медицинской биологии, микробиологии, вирусологии и иммунологии, Донецкий национальный медицинский университет, г. Краматорск, Украина.

Слюсарєв А. А., канд. мед. наук, доцент, каф. медицинской биологии, микробиологии, вирусологии и иммунологии, Донецкий национальный медицинский университет, г. Краматорск, Украина.

Information about authors:

Boieva S. S., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Medical Biology, Microbiology, Virology and Immunology, Donetsk National Medical University, Kramatorsk, Ukraine.
Raksha-Sliusareva O. A., MD, PhD, DSc, Professor, Department of Medical Biology, Microbiology, Virology and Immunology, Donetsk National Medical University, Kramatorsk, Ukraine.
Slusarev O. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Medical Biology, Microbiology, Virology and Immunology, Donetsk National Medical University, Kramatorsk, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 10.01.2018

Після доопрацювання / Revised: 15.01.2018

Прийнято до друку / Accepted: 18.01.2018

Список літератури

- [1] Soriano J.B. Chronic obstructive pulmonary disease: a worldwide problem / J.B. Soriano, B. Lamprecht // *Med Clin North Am.* – 2012. – Vol. 96. – Issue 4. – P. 671–680.
- [2] Пневмокоінози. Класифікація. Епідеміологія. Патогенез / Л.А. Шпагіна, В.Г. Артамова, Б.Б. Фишман и др. // *Профессиональные заболевания органов дыхания.* – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – С. 363–488.
- [3] Оцінка ризику розвитку професійних захворювань у працівників металургійної, вугільної промисловості та машинобудування України / А.М. Нагорна, П.М. Вітте, М.П. Соколова та ін. // *Український журнал з проблем медицини праці.* – 2012. – №3(31). – С. 3–13.
- [4] Jiang Y. A stone miner with both silicosis and constrictive pericarditis: case report and review of the literature / Y. Jiang, F.A. Shao // *BMC Pulmonary Medicine.* – 2013. – Vol. 13. – Issue 1. – P. 71.
- [5] Suppressive effect of asbestos on cytotoxicity of human NK cells / Y. Nishimura, N. Kumagai, M. Maeda, et al. // *International Journal of Immunopathology and Pharmacology.* – 2011. – Vol. 24. – Issue 1. – P. 5–10.
- [6] Assessment of genotoxic and humoral immune system alterations in silica exposed workers from pottery industries in South India / B. Balamuralikrishnan, V. Balachandar, M. Subramaniam, et al. // *Stoch Environ Res Risk Assess.* – 2014. – Vol. 28. – P. 1801–1814.
- [7] Rheumatoid pneumoconiosis (Caplan's syndrome) with a classical presentation / E.M. De Capitani, M. Schweller, C.M. Silva et al. // *J. Bras Pneumol.* – 2009. – Vol. 35. – Issue 9. – P. 942–946.
- [8] Влияние угольной пыли на активность ферментов цикла пуриновых нуклеотидов в эксперименте / О.З. Ильдербаев, Д.К. Нурмуханов, Г.О. Ильдербаева, Д.Е. Узбеков // *Международный журнал экспериментального образования.* – 2015. – №11–3. – С. 457–459.
- [9] Шилова Л.Н. Антитела к ферментам пуринового метаболизма как один из факторов эндогенной регуляции энзиматической активности при системной склеродермии / Л.Н. Шилова, И.П. Гонтарь, И.А. Зборовская // *Вестник СПбГУ. Серия 11: Медицина.* – 2011. – №4. – С. 42–47.
- [10] Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
- [11] Нагоев Б.С. Значение теста восстановления нитросинон тетразолия для изучения функциональной активности лейкоцитов / Б.С. Нагоев, М.Г. Шубич // *Лабораторное дело.* – 1981. – №4. – С. 195–198.
- [12] Фримель Г. Иммунологические методы / Г. Фримель ; пер. с нем. А.П. Тарасова. – М. : Медицина, 1987. – 472 с.
- [13] Карпищенко А.И. Справочник: медицинские лабораторные технологии / А.И. Карпищенко. – СПб. : Интермедика, 2002. – Т. 2. – 600 с.
- [14] Приседский Ю.Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів / Ю.Г. Приседский. – Донецьк : Кассиопея, 1999. – 210 с.

References

- [1] Soriano, J. B., & Lamprecht, B. (2012). Chronic obstructive pulmonary disease: a worldwide problem. *Med Clin North Am.*, 96(4), 671–680. doi: 10.1016/j.mcna.2012.02.005.
- [2] Shpagina, L. A., Artamonova, V. G., Fishman, B. B., Panacheva, L. A., Mazitova, N. N., Plyukhin, A. T., et al. (2015). Pnevmoconiozy. Klassyfi kacija. Jependiologi ja. Patogene z. [Pneumoconiosis. Classification. Epidemiology. Pathogenesis]. *Professional'nye zabolevaniya organov dykhanija.* (P. 363–488). Moscow: GEHOTAR-Media. [in Russian].
- [3] Nahorna, A. M., Vitte, P. M., Sokolova, M. P., Kononova, I. G., Orekhova, O., & Mazur, V. V. (2012). Otsinka ryzyky rozvytku profesiynykh zakhvoriuvan u pratsivnykiv metalurhiinoi, vuhilnoi promyslovosti ta mashynobuduvannia Ukrainy [Assessment of risk development of occupational diseases in workers of metallurgic, mining industries and machine building Ukraine]. *Ukrainskyi zhurnal z problem medytsyny pratsi*, 3(31), 3–13. [in Ukrainian].
- [4] Jiang, Y., & Shao, F. (2013). A stone miner with both silicosis and constrictive pericarditis: case report and review of the literature. *BMC Pulmonary Medicine*, 13(1), 71. doi: 10.1186/1471-2466-13-71.
- [5] Nishimura, Y., Kumagai, N., Maeda, M., Hayashi, H., Fukuoka, K., Nakano, T., et al. (2011). Suppressive effect of asbestos on cytotoxicity of human NK cells. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 24(1), 5–10. doi: 10.1155/2012/492608.
- [6] Balamuralikrishnan, B., Balachandar, V., Subramaniam, M., Alagumuthu, K., Sureshkumar, S., Arun, M., et al. (2014). Assessment of genotoxic and humoral immune system alterations in silica exposed workers from pottery industries in South India. *Stoch Environ Res Risk Assess.* (28), 1801–1814. doi: 10.1007/s00477-013-0843-6.
- [7] De Capitani, E. M., Schweller, M., Silva, C. M., Metzke, K., Cerqueira, E. M., & Bértolo, M. B. (2009). Rheumatoid pneumoconiosis (Caplan's syndrome) with a classical presentation. *J. Bras Pneumol*, 35(9), 942–946. doi: 10.1590/S1806-37132009000900017.

- [8] Il'derbaev, O. Z., Nurmukanov, D. K., & Il'derbaeva, G. O., D.E. Usbekov (2015). Vliyanie ugol'noj pyli na aktivnost' fermentov cikla purinovyh nukleotidov v ehksperimente [Effect of coal dust on the activity of enzymes of the purine nucleotide cycle in the experiment]. *Mezhdunarodnyj zhurnal ehksperimental'nogo obrazovaniya*, (11-3), 457-459. [in Russian].
- [9] Shilova, L. N., Gontar, I. P., & Zborovskaja, I. A. (2011). Antitela k fermentam purinovogo metabolizma kak odin iz faktorov jendogennoj reguljacji jenzimaticheskoj aktivnosti pri sistemoj sklerodermii [Antibodies to the enzymes of purine metabolism as one of the factors of endogenous regulation of enzymatic activity in the systemic scleroderma]. *Vestnik SPbGU. Seriya 11. Medicina*, (4), 42-47. [in Russian].
- [10] Men'shikov, V. V., Delektorskaja, L. N., & Zolotnickaja, R. P. (1987). *Laboratornye metody issledovanija v klinike: sprav [Laboratory methods of research in the clinic: a reference book]*. M.: Medicina. [in Russian].
- [11] Nagoev, B. S., & SHubich, M. G. (1981). Znachenie testa vosstanovleniya nitrosinogo tetrazoliya dlya izucheniya funkcional'noj aktivnosti lejkcitov [Value of the test for the reduction of nitrosine tetrazolium for the studying of the functional activity of the leukocytes]. *Laboratornoe delo*, (4), 195-198. [in Russian].
- [12] Frimel', G., & Tarasova, A. (1987). *Immunologicheskie metody [Immunological methods]*: Medicina. [in Russian].
- [13] Karpishchenko, A. I. (2002). *Spravochnik medicinskie laboratornye tekhnologii [Handbook: medical laboratory technologies]*. SPb.: Intermedika, (Vols. 2). ISBN: 978-5-9704-2958-7 [in Russian].
- [14] Prisedskiy, Y. G. (1999). *Statystychna obrobka rezultativ biolohichnykh eksperimentiv [Statistical processing of biological experiments results]*. Kassiopeia, Donetsk. [in Ukrainian].