

А.В.ЖЕСТКОВ
Медицинский университет,
Самара, Россия

УДК 613.62:576.8.077.3:616.24

ИММУНОДИАГНОСТИКА ПЫЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛЕГКИХ

Обследовано 120 пациентов, имевших контакт на производстве с промышленными аэрозолями и больных силикозом. Изучали показатели клеточного и гуморального иммунитета периферической крови с помощью иммуноферментного анализа и проточной лазерной цитометрии. В процессе контакта с промышленными аэрозолями развиваются изменения в иммунной системе работающих. Интенсивность и характер этих изменений зависят от фиброгенности пылевых частиц. После прекращения контакта с промышленными аэрозолями измененные показатели клеточного и гуморального иммунитета не восстанавливаются полностью до показателей здоровых доноров.

Нарушения клеточного и гуморального иммунитета обнаруживаются у работающих в контакте с промышленными аэрозолями до появления рентгенологических признаков пневмофиброза. С помощью методик клинической иммунологии возможны ранняя диагностика и прогнозирование дальнейшего развития патологии дыхательных путей при профессиональном контакте с фиброгенными промышленными аэрозолями.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иммунодиагностика, пылевые болезни легких.

IMMUNODIAGNOSTICS OF DUST LUNG DISEASES

A.V. ZHESTKOV

Medical University, Samara

There have been observed 120 patients who have been exposed with lung fibrosis inducing industrial dust, and patients with silicosis. Cellular and humoral immunity were assessed with the methods of enzyme immunoassay and laser flow cytometry. The changes of immune system developed in the process of exposure by industrial dust. The intensity and specific features of those changes depended on fibrosis activity of the dust. After the end of the exposure, changed parameters immunity have never reached normal level typical for healthy people. Immunity changes can be observed in patients exposed by industrial dust earlier than the fibroid lung changes which can be observed on X-ray. Methods of clinical immunology can provide early assessment of diagnosis and prognosis of further course of pathology development of respiratory system in patients who has got exposure of lung-fibrosis inducing industrial dust.

KEY WORDS: immunodiagnosics, dust lung diseases.

Важнейшей качественной характеристикой общества является здоровье населения, рассматриваемое как интегральный показатель сложного взаимодействия социально-экономических, экологических, медико-биологических и демографических факторов. При этом особое значение приобретают разработка и использование современных адекватных методов оценки воздействия факторов производственной среды и трудового процесса на состояние здоровья населения.

Пылевые поражения легких относятся к распространенной форме профессиональной патологии, занимают значительное место в общей структуре пульмонологической заболеваемости и приводят к значительным социально-экономическим потерям [3, 8]. Необратимость прогрессирования заболеваний легких профессиональной этиологии и практически полное отсутствие патогенетических методов лечения делают особенно актуальными задачи их раннего выявления и прогнозирования течения [6, 10].

До настоящего времени диагностической основой в профессиональной пульмонологии остается стандартная рентгенография органов грудной клетки (ВО, 1988), что приводит к поздней диагностике, так как многочисленными морфологическими исследованиями доказано опережающее развитие патологического процесса в легочной ткани в сравнении с данными рентгенографии. Ранее проведенные исследования показали, что определение параметров пневмотораграмы не позволяет достоверно диагностировать на ранних стадиях и прогнозировать течение пылевых заболеваний легких [2, 4]. Это оправдывает поиск и применение новых технологий в пульмонологической диагностике. К таковым можно отнести иммунологические исследования. Иммунная система, участвуя в поддержании гомеостаза, во многом определяет устойчи-

вость организма к воздействию различных профессиональных и экологических факторов [5, 7, 11].

Определенный диагностический интерес при пылевых заболеваниях легких представляет изучение содержания гуморальных факторов: муцинового антигена (ЗЕГ5), общего IgE, орозомукоида, а также фибронектина, который обеспечивает стимуляцию фагоцитоза и элиминацию из организма макромолекул, осуществляя неспецифическую защиту организма до формирования истинных механизмов иммунологического гомеостаза.

Известно, что уровень сывороточного муцин-антигена ЗЕГ5 значительно повышен при интерстициальных заболеваниях легких по сравнению с другими легочными заболеваниями. Обнаружена тесная корреляционная связь между сывороточным уровнем ЗЕГ5 и показателями активности и тяжести воспалительного процесса при интерстициальных заболеваниях легких [1, 9].

Целью нашего исследования было улучшение ранней диагностики профессиональных заболеваний легких и прогнозирования их течения с помощью современных методик оценки клеточного и гуморального звеньев иммунной системы.

Материал и методы. В течение последних 3 лет было проведено клиничко-иммунологическое обследование 120 пациентов с пылевыми заболеваниями легких и 72 человека, работающих в контакте с высокими концентрациями кварцсодержащей пыли и признанных здоровыми на момент обследования. Последнюю группу составили рабочие Балашейского горно-обогатительного комбината (Самарская область) и Самарского сталелитейного завода. Промышленная аэрозоль содержала более 10% свободной двуокиси крем-

ния, превышение предельно допустимой концентрации составило 10 и более раз.

Иммунологические методы исследования проводились в соответствии с рекомендациями отечественных авторов [7] и включали иммуноферментный анализ (концентрации фибронектина плазмы, общего IgE – использовались диагностические наборы НПФ Хема, Москва), определение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с помощью моноклональных антител серии ЛТ. Иммунофлюоресценция оценивалась на проточном цитометре “Epics-Profile” фирмы “Coulter”. Определяли также концентрации IgA, IgM, IgG, орозомукоида (α1-кислый гликопротеин) в сыворотке крови методом радиальной иммунодиффузии. Уровень сывороточного 3EG5 определяли с помощью иммуноферментного анализа. Для определения 3EG5 использовали моноклональные антитела 3E1.2 (Medical Innovations, Australia) и афинно-очищенное козье антитело G5 против всего семейства муцин-антигенов

(НПФ Хема, Москва). Для оценки состояния нейтрофилов периферической крови использовали латекс производства Института биологического приборостроения (Москва), устанавливая процент клеток, фагоцитирующих частицы (в таблице указаны как фагоцитирующие клетки).

Контрольную группу составили 57 человек, не подвергавшихся воздействию промышленных аэрозолей на производстве и в быту, не имевших на момент обследования клинических признаков иммунопатологии.

Результаты и обсуждение

Было установлено, что изменения клеточного иммунитета у контактирующих на производстве с высокими концентрациями промышленных аэрозолей и у больных силикозом имеют однонаправленный характер. Данные по субпопуляционному составу лимфоцитов периферической крови у обследованных групп представлены в таблице 1.

Таблица 1

Изменения состава лимфоцитов и их субпопуляций у контактирующих с промышленными аэрозолями (1 группа), больных силикозом (2 группа) и при прогрессировании силикотического процесса (3 группа)

Показатель	Контрольная группа (n=57)	1 группа (n=72)	2 группа (n=75)	3 группа (n=45)
Лейкоциты	5057 ± 179	5493 ± 157	5837 ± 149***	5643 ± 161*
Лимфоциты, %	26,1 ± 1,1	24,0 ± 1,4	27,2 ± 2,0	26,1 ± 1,3
абс. к-во	1618 ± 51	1734 ± 85	1783 ± 54*	1673 ± 70,8
CD3 ⁺ клетки, %	71,2 ± 0,9	67,8 ± 1,8	67,2 ± 1,3*	64,5 ± 1,3***
абс. к-во	1155 ± 55	1202 ± 68	1152 ± 52	1088 ± 60
CD4 ⁺ клетки, %	42,9 ± 0,8	39,7 ± 2,3***	36,5 ± 1,1***	35,9 ± 1,3***
абс. к-во	695 ± 22	707 ± 59	621 ± 20*	597 ± 34*
CD8 ⁺ клетки, %	26,2 ± 0,6	31,8 ± 1,5**	31,9 ± 1,3**	27,3 ± 1,3
абс. к-во	424 ± 13	564 ± 43**	565 ± 21**	480 ± 22*
CD16 ⁺ клетки, %	16,8 ± 0,7	24,7 ± 2,6	23,6 ± 1,3***	24,5 ± 1,5***
абс. к-во	272 ± 9	438 ± 54**	397 ± 25***	398 ± 27***
CD72 ⁺ клетки, %	10,5 ± 0,5	7,8 ± 0,8**	8,0 ± 0,7**	9,8 ± 0,8
абс. к-во	171 ± 6	139 ± 17*	132 ± 11**	170 ± 12
HLA-DR ⁺ %	11,4 ± 1,0	16,3 ± 2,0**	14,7 ± 1,1*	16,0 ± 1,1**
абс. к-во	185 ± 6	296 ± 42***	253 ± 26*	263 ± 20***
Коэффициент CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,658	1,315***	1,220***	1,333**

Примечание: * — достоверны различия с показателями здоровых при $p < 0,05$;

** — то же при $p < 0,01$; *** — то же при $p < 0,001$.

Во время контакта с промышленными аэрозолями выявлено повышение уровней CD8⁺ и CD16⁺ клеток, активированных HLA-DR⁺ лимфоцитов; снижение количества CD72⁺ клеток, а также соотношения Т-хелперы/Т-супрессоры (CD4⁺/CD8⁺).

При силикозе вышеуказанные изменения сохраняются, приобретая более выраженный характер; отмечается также повышение уровней лейкоцитов и лимфоцитов периферической крови, умеренное снижение количества CD4⁺ клеток.

При дальнейшем развитии силикотического процесса отмечается нормализация уровней CD8⁺ и CD72⁺ лимфоцитов, максимальное содержание HLA-DR⁺ лимфоцитов (таблица 1). Эти изменения можно использовать в качестве критериев прогрессирования силикоза.

Проведенные нами ранее исследования показали, что изменения субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови при пневмокониозах от действия малофиброгенных промышленных аэрозолей (например, от действия малофиброгенной известняково-доломитовой пыли) носят значительно менее выраженный характер, чем при воздействии высокофиброгенных пылевых частиц.

Исследование иммунного статуса не является полным без оценки гуморальных факторов и содержания фагоцитирующих клеток. Это связано с патогенетической ролью интерлейкинов, комплемента и его ключевых C3, C5 компонентов, иммуноглобулинов, фибронектина, орозомукоида при пылевой патологии легких. Нашими исследованиями установлено, что развитие заболевания у рабочих, контактирующих с пылевыми частицами, характеризуется увеличением уровня фибронектина плазмы. При прогрессировании заболевания уровень фибронектина снижается, но не достигает значений контрольной группы (таблица 2).

Таблица 2

Изменения гуморальных факторов иммунитета и активности фагоцитов у лиц, контактирующих с промышленными аэрозолями в высоких концентрациях (1 группа), больных силикозом (2 группа) и при прогрессировании силикотического процесса (3 группа)

Показатель	Контрольная группа (n=57)	1 группа (n=82)	2 группа (n=90)	3 группа (n=83)
Фагоцитирующие клетки, %	78 ± 6	40 ± 5***	47 ± 4***	46 ± 5***
IgA, г/л	1,83 ± 0,37	2,64 ± 0,24*	2,24 ± 0,21	2,43 ± 0,20
IgM, г/л	1,39 ± 0,02	1,10 ± 0,11**	1,16 ± 0,15	0,90 ± 0,07***
IgG, г/л	14,78 ± 0,23	14,39 ± 1,23	12,38 ± 0,95*	15,51 ± 1,20
Общий IgE, МЕ/мл	57,7 ± 17,0	175,4 ± 13,0***	167,9 ± 19,5***	147,4 ± 15,0**
Муциновый антиген, ед/мл	44,5 ± 6,2	16,7 ± 4,5***	33,2 ± 3,5**	42,8 ± 2,9
Орозомукоид, г/л	0,781 ± 0,030	1,443 ± 0,113***	1,171 ± 0,144**	0,616 ± 0,082
Фибронектин, нг/мл	286 ± 20	387 ± 42*	645 ± 23***	465 ± 29***

Примечание: * — достоверны различия с показателями здоровых при $p < 0,05$;

** — то же при $p < 0,01$; *** — то же при $p < 0,001$.

В 1-й группе обследованных лиц, контактирующих с высокими концентрациями промышленных аэрозолей, отмечалось снижение уровней IgM, муцин-антигена и процентного содержания фагоцитирующих клеток, повышение концентраций IgA, общего IgE и орозомукоида в сыворотке. Диагностическое значение для пылевого воздействия на организм работающих имеет изменение уровней муцинового антигена, фагоцитирующих клеток (снижение) и орозомукоида (повышение) ($p < 0,001$). Снижение содержания фагоцитирующих клеток связано с повреждающим действием фиброгенной пыли, которая вызывает генерацию активных форм кислорода и окислительную деструкцию фагоцита. При этом мощная бактерицидная способность альвеолярного макрофага оказывается бесполезной в случае фагоцитоза пылевой частицы. Повторяющийся процесс фагоцитоза пыли и гибели фагоцитирующих клеток запускает иммунные механизмы воспаления.

Следует отметить, что изменения клеточного и гуморального иммунитета обнаруживаются у работающих в контакте с высокими концентрациями промышленных аэрозолей (1 группа обследованных) до появ-

ления рентгенологических признаков пневмофиброза и до нарушения функции внешнего дыхания.

У больных силикозом после прекращения контакта с промышленными аэрозолями (2-я группа) выявлены снижение показателя фагоцитирующих клеток ($p < 0,001$), IgG в сыворотке ($p < 0,05$), менее значительное повышение орозомукоида и максимальные концентрации фибронектина в плазме, что свидетельствует об интенсивном коллагенообразовании в легочной ткани. Снижение содержания фагоцитирующих клеток крови наряду с атрофическими и субатрофическими изменениями слизистой оболочки бронхов могут привести к развитию инфекционных осложнений силикоза. Концентрация муцин-антигена при силикозе становится выше, чем в 1-й группе обследованных, но не достигает значений контрольной группы ($p < 0,01$).

При прогрессировании силикотического процесса в легочной ткани (обследованные 3-й группы) отмечается снижение уровней IgM и показателя фагоцитирующих клеток ($p < 0,001$). Концентрация орозомукоида снижается и достигает значений контрольной группы. Уровень муцин-антигена возрастает и мало

отличается от параметров контрольной группы, что можно использовать для прогнозирования течения силикоза.

Обращает на себя внимание повышение уровней концентрации общего IgE в сыворотке у всех обследованных групп пациентов (максимальное повышение значения в 1-й группе - $175,4 \pm 13,0$ МЕд/мл, контрольная группа - $57,7 \pm 17,0$ МЕд/мл). Это связано с тем, что в последнее время в производственной среде все большее распространение получают промышленные аэрозоли сложного состава, содержащие, помимо диоксида кремния, разнообразные металлы и другие вещества, обладающие раздражающим и токсико-аллергическим действием. При воздействии таких аэрозолей на организм работающего возникают разные виды легочной патологии. Данный факт позволяет предположить, что IgE участвует в патогенезе пылевых заболеваний легких.

Выводы.

1. В процессе контакта с промышленными аэрозолями развиваются изменения в иммунной системе работающих, которые опережают рентгенологические проявления пневмофиброза. Интенсивность и характер этих изменений зависят от фиброгенности пылевых частиц.

2. После прекращения контакта с промышленными аэрозолями измененные показатели клеточного и гуморального иммунитета не восстанавливаются полностью до показателей здоровых людей.

3. С помощью определения показателей клеточного и гуморального иммунитета (муцин-антиген, орозомукоид в сыворотке, фибронектин в плазме) возможны ранняя диагностика и прогнозирование дальнейшего развития патологии дыхательных путей при профессиональном контакте с фиброгенными промышленными аэрозолями.

Литература

1. Авдеева О.Е., Лебедин Ю.С., Авдеев С.Н., Чуканов С., Черняк А.В., Самсонова М.В., Чучалин А.Г. Гликозилированный муцин-антиген ZEG5 - сывороточный маркер активности и тяжести при интерстициальных заболеваниях легких // Пульмонология. - 1998. - N 2. - С. 22-27.
2. Жестков А.В. Клинико-иммунологические особенности диагностики и прогнозирования течения пневмокозиозов: Дис. ... канд. мед. наук. - Самара, 1995. - 113 с.
3. Измеров Н.Ф. Медицина труда в третьем тысячелетии // Медицина труда и промышленная экология. - 1998. - N 6. - С. 4-9.
4. Косов А.И. Прогнозирование возникновения и течения пылевых заболеваний легких с помощью иммунологических методов: Дис. ... канд. мед. наук. - Самара, 1999. - 143 с.
5. Маянский Д.Н. О патогенезе хронического воспаления // Тер. архив. - 1992. - С. 3-7.
6. Монаенкова А.М. Методические подходы к выявлению и оценке ранних признаков неблагоприятного влияния профессиональных факторов на здоровье // Гигиена труда и профессиональные заболевания. - 1988. - N 10. - С. 1-5.
7. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. - 1995. - М.: Издательство ВНИРО, 1995. - С. 106-177.
8. Чучалин А.Г. Редакционная колонка // Пульмонология. 1992. - N 2. - С. 5.
9. Hilgers J., Von Mensdorff-Pouilly S., Verstraeten A.A., Kenemans P. Quantitation of polymorphic epithelial mucin: a challenge for biochemists and immunologist // Scand. J. Clin. Lab. Invest. - 1995. - Vol. 55, Suppl. 221. - P. 81-86.
10. Heppleston A.G. Minerals, fibrosis and the lung // Env. Health Persp. - 1991. - Vol. 94. - P. 149-168.
11. Holsapple M.P., Snyder N.K., Wood S.C. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced changes in immunocompetence: possible mechanisms // Annual Rev. Pharmacol. Toxicol. - 1991. - Vol. 31. - P. 73-95.