

УДК 615.9:615.099

Є.Г.Васильєва<sup>2</sup>, Б.С.Шейман<sup>1</sup>

## ТОКСИН-ІНДУКОВАНІ АВТОІМУННІ РЕАКЦІЇ ТА ПІДХОДИ ЩОДО ЇХНЬОЇ КОРЕКЦІЇ

<sup>1</sup>Інститут екології та токсикології ім. Л.І.Медведя МОЗ України,<sup>2</sup>Національна дитяча спеціалізована лікарня "Охматдит" МОЗ України, м. Київ

**Резюме.** У роботі представлені особливості формування токсиніндукованих автоімунних реакцій у пацієнтів із гематологічними й неврологічними захворюваннями. Продемонстровано результати токсикометричних досліджень ендотоксемії: потенціали ушкоджуючої активності (токсичності) ендотоксинів, розміри часток, розподіл і накопичення їх у кров'яному руслі, міцність зв'язку з токсиннесучими фракціями. Визначе-

ні автоімунні реакції у хворих; проведено аналіз кореляційної залежності між рівнями токсиніндукованої автоімунної активності та параметрами токсичності цільної плазми і її компонентів.

**Ключові слова:** автоімунні реакції, токсикометричні параметри ендотоксемії, автоімунна та цитолітична активність.

**Вступ.** Процес реалізації багатьох захворювань супроводжується виникненням різних змін у системі імунітету. При цьому ці зміни в одних випадках є фізіологічним процесом і відповідають активації різних ланок імунітету для знешкодження етіологічного чинника захворювання та захисту організму, а в інших – патологічний процес, що супроводжується виникненням дискоординації між презентуючими та кілерними функціями імуннокомпетентних клітин із наступним формуванням автоімунних реакцій (АР) [2]. Останні зумовлюють виникнення численних ускладнень, які справляють негативний вплив як на перебіг, так і на результат захворювання.

Вищевикладене є причиною підвищеної уваги клініцистів до вивчення причин та механізмів виникнення АР для розробки підходів до оптимізації методів імуномодулюючої (імунооптимізуючої) терапії.

Відомо, що перебіг багатьох захворювань і патологічних станів супроводжується накопиченням у кров'яному руслі токсичних субстанцій, які ведуть до виникнення ендотоксикозу. У літературі повідомляється про негативний вплив ендотоксикозу на перебіг захворювання в цілому [1]. Перебіг деяких захворювань і патологічних станів у людини супроводжується одночасно виникненням АР та накопиченням у кров'яному руслі ендотоксинів. При цьому, залишається нез'ясованим питання зв'язку між виникненням автоімунних реакцій та накопиченням у кров'яному руслі ендотоксинів, що беруть участь у формуванні ендотоксикозу. Відповідь на це питання видається нам вкрай важливою для лікування АР, зокрема, і підвищення ефективності терапії захворювань, що супроводжуються виникненням АР, у цілому.

**Мета дослідження.** Вивчити прояви, особливості формування та наявність взаємозв'язків між автоімунними реакціями й ендотоксемією в осіб із гемолітико-уремічним синдромом, імуною гемолітичною анемією й розсіяним склерозом для розробки підходів до імунооптимізуючої терапії.

**Матеріал і методи.** Під наглядом знаходилися 151 пацієнт. З них, у 46 випадках діагностовано гемолітико-уремічний синдром (ГУС), у 52 – роз-

сіяний склероз (РС) і в 53 випадках – імуною гемолітичну анемію (ІГА). Усі пацієнти надходили на лікування в гострому періоді розгорнутих клінічних проявів захворювання. Верифікацію нозологічних форм здійснювали з використанням загальноприйнятих підходів клінічно-лабораторної діагностики.

Для дослідження параметрів ендотоксикозу нами використаний метод комплексної токсикометрії з визначенням характеристик токсемії й токсичних протеомів (розміри молекул і часток токсинів, потенціали ушкоджуючої активності, переважні місця накопичення в токсиннесучих фракціях плазми крові). Суть комплексного підходу у вивченні токсикозу полягає в дослідженні найбільш важливих ланок токсемії, що розвивається, та їх характеристик: потенціалів ушкоджуючої активності токсинів, накопичених у кров'яному руслі (токсичність), розподіл токсинів у кров'яному руслі в токсиннесучих фракціях плазми (альбумінах, глобулінах, клітинних мембранах, у вільній циркуляції), розміри їхніх часток і молекул (<10 нм, 10-200 нм і > 200 нм), участь токсинів у формуванні автоімунних реакцій.

Виділення токсиннесучих фракцій із плазми проводили методом висолювання амонію сульфатом 50 % і 100 % концентрації за загальноприйнятою методикою. Виділення фракції, що містить токсини із частками розміром 10-200 і менш 10 нм, здійснювали методом фільтрації крізь напівпроникні мембрани з діаметром пор 200 і 10 нм. Дослідження міцності зв'язку токсинів із токсиннесучими фракціями (альбуміновою, глобуліновою й цитомембранною) здійснювали методом 30 % дилуції фізіологічним розчином із наступною фільтрацією через мембранні фільтри.

Для дослідження ушкоджуючої активності токсинів на біологічні мішені використовували метод цитолітичної активності лейкоцитів. Отриманий результат оцінювали після інкубування автолейкоцитів хворого із цільною плазмою, токсиннесучими фракціями плазми й токсинами з різними розмірами часток. При дослідженні участі токсинів у формуванні автоімунних реакцій, визначали вміст лімфоцитів, які утворюють ро

зетки з аутологічними еритроцитами, після їхнього інкубування із цільної плазмою, токсиннесучими фракціями плазми й токсинами з різними розмірами часток. На підставі результатів досліджень розглядали ушкоджуючу активність (токсичність) ендотоксинів та їхню участь у формуванні аутоімунних реакцій. Допустимий нормальний рівень лабораторної маніфестації токсемії відповідав цитолітичній активності менше 20 %; легкий ступінь – 20-30 %; середній – 30-40 %; тяжкий – більше 40 % [1].

Дослідження параметрів АР і ендотоксемії проводили у всіх осіб при надходженні до стаціонару (до початку лікування).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили з використанням програмного продукту Statistica for Windows 6.0 (Statsoft Inc., США). Дані, розподіл яких наближався до нормального, представлені як середнє й стандартне відхилення ( $M \pm SD$ ), інші дані – як  $M$  і 95 % довірчий інтервал (95 % ДІ). Кореляційний аналіз проводили з розрахунком парного коефіцієнта кореляції Пірсона, з визначенням його достовірності й коефіцієнтів лінійного рівняння регресії.

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Результати дослідження показників аутоімунної активності та токсичності цільної плазми крові представлені на рис. 1.

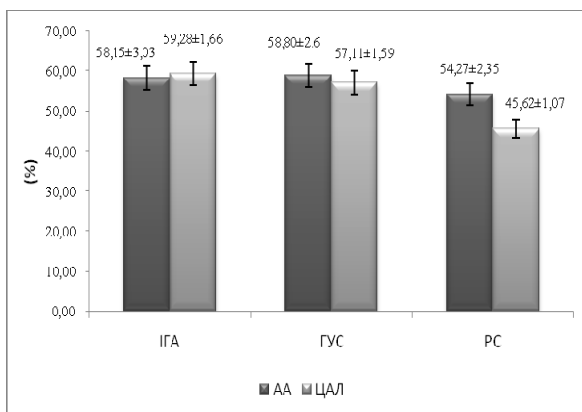


Рис. 1. Аутоімунна активність та токсичність цільної плазми

Примітки. АА – аутоімунна активність; ЦАЛ – цитолітична активність; ІГА – імунна гемолітична анемія; ГУС – гемолітико-уремічний синдром; РС – розсіяний склероз

Як свідчать отримані результати, у всіх осіб при надходженні до стаціонару, гострий період захворювання супроводжувався вираженим підвищенням показника аутоімунної активності (АА) цільної плазми, рівень якої в усіх випадках відповідав тяжкому ступеню (>40 %). Установлено, що найбільші рівні АА цільної плазми спостерігали в пацієнтів з ІГА й ГУС (58,15 ± 3,03 % і 58,8 ± 2,6 % відповідно); дещо менший – у пацієнтів із РС (54,27 ± 2,35 %).

При дослідженні показників токсичності (цитолітичної активності) установлено, що найбільш (p < 0,05) рівні цитолітичної активності (ЦАЛ) спостерігали у пацієнтів з ІГА й ГУС (59,28 ± 1,66 % і 57,11 ± 1,59 % відповідно); найменші – у пацієнтів із РС (45,62 ± 1,07 %).

Результати дослідження токсин-індукованої аутоімунної активності та токсичності токсиннесучих фракцій плазми крові представлені в табл. 1.

Установлено, що в пацієнтів із різними нозологічними формами спостерігалися різні рівні АА токсиннесучих фракцій плазми крові. Так, у пацієнтів з ІГА й РС найбільші рівні АА демонструвала глобулінова токсиннесуча фракція (59,08 ± 2,78 % і 55,81 ± 2,13 % відповідно); у пацієнтів із ГУС – вільноциркулююча фракція (57,35 ± 2,83 %).

При дослідженні ЦАЛ токсиннесучих фракцій плазми також встановлені відмінності в групах осіб із різними нозологічними формами захворювання. Так, найбільший рівень ЦАЛ (токсичності) виявлений у пацієнтів з ІГА в альбуміновій токсиннесучій фракції (58,27 ± 1,64 %); у пацієнтів із ГУС та РС – у вільноциркулюючій фракції (59,67 ± 1,95 % і 48,63 ± 1,45 % відповідно).

Результати дослідження аутоімунної і цитолітичної активності токсинів, які переважно накопичувалися у токсиннесучих фракціях у пацієнтів, представлені в табл. 2.

Установлено, що АА токсиннесучих фракцій у пацієнтів із різними нозологічними формами захворювання зумовлена переважним накопиченням токсинів, що мають різні токсикометричні характеристики. Так, у пацієнтів з ІГА, ГУС і РС аутоімунна активність альбумінової токсиннесучої фракції плазми крові зумовлена переважним накопиченням токсинів із розмірами часток від 10-200 нм (40,68 ± 2,37 %, 49,11 ± 2,07 %, 41,71 ± 1,79 % відповідно); глобулінової й вільноциркулюючої фракції – токсинів із розмірами часток більше 200 нм (56,4 ± 3,35 % і 56,13 ± 3,4 %; 45,26 ± 4,54 % і 59,78 ± 4,64 %; 50,27 ± 3,39 % і 60,1 ± 2,74 % відповідно).

ЦАЛ (токсичність) альбумінової й вільноциркулюючої фракції у пацієнтів з ІГА й РС зумовлена переважним накопиченням токсинів із розмірами часток від 10-200 нм (49,22 ± 2,01 % і 53,13 ± 2,19 %; 43,88 ± 1,81 % і 48,63 ± 1,45 % відповідно); глобулінової фракції – з розмірами часток більше 200 нм (48,82 ± 2,37 % і 37,03 ± 2,64 % відповідно). У пацієнтів із ГУС ЦАЛ альбумінової, глобулінової й вільноциркулюючої токсиннесучої фракції зумовлена переважним накопиченням токсинів із розмірами частинок 10-200 нм (52,71 ± 1,8 %, 43,12 ± 1,68 % і 59,69 ± 1,94 % відповідно).

Для визначення зв'язку між параметрами аутоімунної активності цільної плазми й токсичності цільної плазми та її компонентів ми провели дослідження кореляційної залежності між параметрами АА та токсикометричними параметрами ендотоксемії (рис. 2-5).

Установлено, що між рівнем АА цільної плазми й ЦАЛ глобулінової та альбумінової токсиннесучими фракціями є достовірною кореляційною залежністю ( $r = +0,29$  і  $r = +0,31$  відповідно). При цьому, таку залежність доведено між рівнем АА цільної плазми й ЦАЛ глобулін- та альбуміноасоційованих токсинів із розмірами часток 10-200 нм ( $r = +0,26$  і  $r = +0,34$  відповідно); ЦАЛ гло-

Таблиця 1

**Рівні автоімунних реакцій і цитолітичної активності токсиннесучих фракцій плазми крові у хворих на імунну гемолітичну анемію, гемолітико-уремічний синдром та розсіяний склероз (%)**

Нозологія	Альбумін-асоційовані токсиннесучі фракції плазми крові		Глобулін-асоційовані токсиннесучі фракції плазми крові		Вільноциркулюючі токсиннесучі фракції плазми крові	
	Автоімунна активність	Цитолітична активність	Автоімунна активність	Цитолітична активність	Автоімунна активність	Цитолітична активність
ІГА	34,04±3	58,27±1,64	59,08±2,78	52,62±1,43	55,38±2,96	53,24±2,17
ГУС	44,13±2,79	58,58±1,53	55,41±2,74	52,14±1,7	57,35±2,83	59,67±1,95
РС	36,06±2,12	47,49±1,68	55,81±2,13	44,75±1,12	50,42±2,64	48,63±1,45

Таблиця 2

**Рівні автоімунної й цитолітичної активності токсинів, що накопичились у токсиннесучих фракціях плазми крові у хворих на імунну гемолітичну анемію, гемолітико-уремічний синдром та розсіяний склероз (%)**

Розміри часток (молекул) токсинів	Токсиннесучі фракції плазми крові	Автоімунна активність токсинів (%)			Цитолітична активність токсинів (%)		
		ІГА	ГУС	РС	ІГА	ГУС	РС
		(n=53)	(n=46)	(n=52)	(n=53)	(n=46)	(n=52)
10-200 нм	Альбумін-асоційовані токсини	40,68±2,37 **	49,11±2,07 ***	41,71±1,79 **	49,22±2,01	52,71±1,8 ***	43,88±1,81 **
<10 нм		30,42±2,32 ***	34,91±2,14 ***	28,4±1,61 **	36,51±1,75	40,18±1,73 ***	31,29±1,75 ***
>200 нм		16,75±3,78	25,24±4,4	14,27±3,31	47,95±3,5 ***	41,54±4,39	33,3±3,56*
10-200 нм	Глобулін-асоційовані токсини	38,68±2,41	44,22±1,71	38,52±2,36	38,21±1,73 **	43,12±1,68 ****	34,36±1,65 **
<10 нм		25,94±1,52	30,11±1,8 ***	25,46±1,45 **	31,37±1,63	33,95±1,78 ***	27,39±1,45 **
>200 нм		56,4±3,35	45,26±4,54	50,27±3,39	48,82±2,37 ***	40,59±3,82	37,03±2,64 *
10-200 нм	Вільноциркулюючі токсини	55,38±2,96	57,35±2,83	50,37±2,64	53,13±2,19 **	59,69±1,94 ****	48,63±1,45 **
<10 нм		38,25±2,09 ***	41,83±2,48 ***	31,17±1,62 ***	39,68±2,07 ***	42,59±1,83 ***	31,45±1,65 ***
>200 нм		56,13±3,4	59,78±4,64	60,1±2,74	0,45±0,01 ***	0,47±0,01 ***	0,41±0,01 ***

Примітки. 1) \* – показники, що володіють достовірними відмінностями порівняно з 1-ю групою (ІГА); 2) \*\* – показники, що володіють достовірними відмінностями порівняно з 2-ю групою (ГУС); 3) \*\*\* – показники, що володіють достовірними відмінностями порівняно з 3-ю групою (РС)

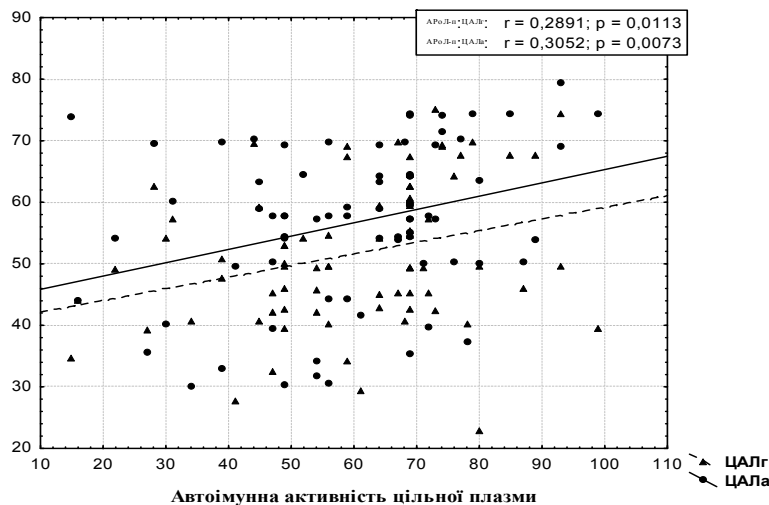


Рис. 2. Кореляційна залежність (p < 0,05) між рівнем автоімунної активності цільної плазми й цитолітичною активністю глобулінової й альбумінової токсиннесучими фракціями. Примітки. ЦАЛГ – цитолітична активність глобулінової токсиннесучої фракції; ЦАЛА – цитолітична активність альбумінової токсиннесучої фракції

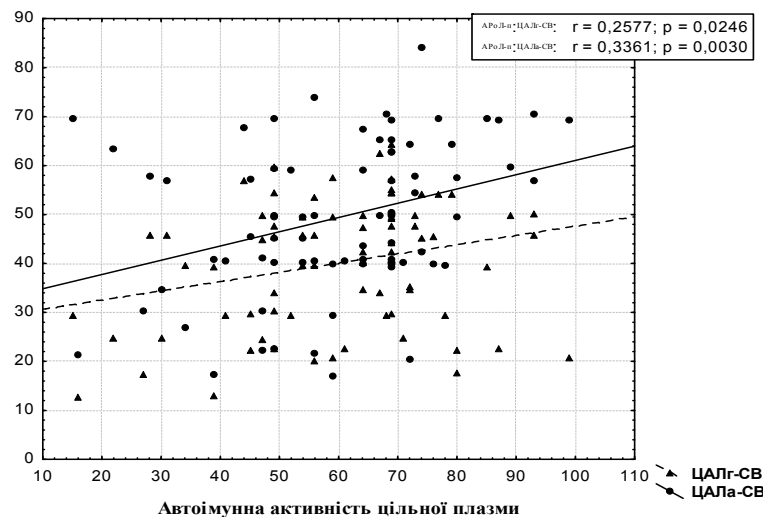


Рис. 3. Кореляційна залежність ( $p < 0,05$ ) між рівнем автоімунної активності цільної плазми й цитолітичною активністю глобулін- та альбумін-асоційованих токсинів із розміром часток 10-200 нм

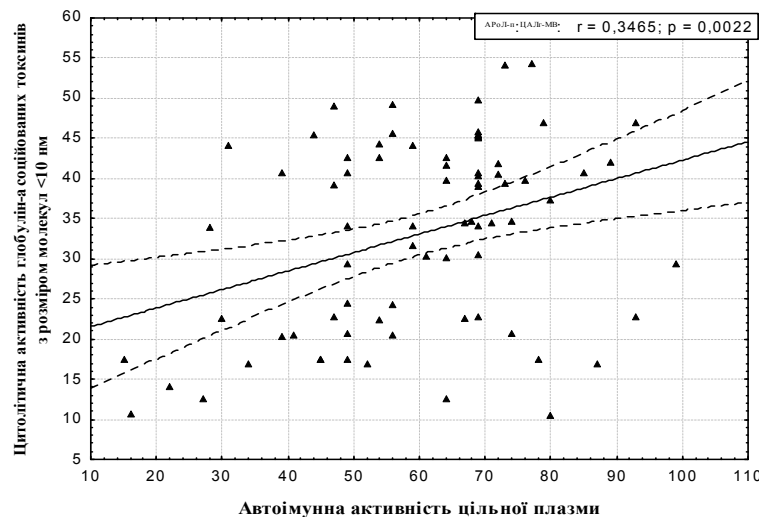


Рис. 4. Кореляційна залежність ( $p < 0,05$ ) між рівнем автоімунної активності цільної плазми й цитолітичною активністю глобулін-асоційованих токсинів із розміром молекул  $< 10$  нм

булін-асоційованих токсинів із розмірами молекул  $< 10$  нм ( $r = +0,35$ ).

### Висновки

1. Перебіг захворювань на розсіяний склероз, гемолітико-уремічний синдром та імунна гемолітична анемія супроводжується виникненням автоімунних реакцій та ендотоксемії тяжкого ступеня.

2. Установлено, що прояви автоімунних реакцій достовірно корелюють із токсичністю цільної плазми, ушкоджуючою активністю токсиннесучих фракцій та токсинів, які переважно накопичуються в токсиннесучих фракціях плазми крові.

3. Проведена робота й отримані результати дозволяють указати, що автоімунні реакції, які виникають у хворих під час перебігу розсіяний склероз, гемолітико-уремічний синдром та імунна гемолітична анемія, тісно пов'язані із проявами ендотоксемії та є токсин-індукованими.

### Перспективи подальших досліджень.

Отримані нами дані дозволяють припустити, що застосування різних методів детоксикаційної терапії повинно призвести опосередковано до оптимізації порушень у системі імунітету, а тим са-

мим віддзеркалитися на ефективності лікування досліджуваних захворювань у цілому. Робота в даному напрямку продовжується.

### Література

1. Андрейчин М.А. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму / М.А.Андрейчин, М.Д.Бех, В.В.Дем'яненко // Методичні рекомендації МОЗ України. – Київ, 1998. – С. 1-31.
2. Гаджиев Д.Б. Эффективность плазмафереза для коррекции эндогенной интоксикации у больных с большой формой В-талассемии / Д.Б.Гаджиев // Эфферент. терапия. – 2006. – Т. 12, № 1. – С. 33-36.
3. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н.Дранник. – К.: Здоровье, 2003. – 604 с.
4. Шейман Б.С. Ендотоксикоз у дітей з автоімунними захворюваннями та обґрунтування щодо вибору методу плазмаферезу / Б.С.Шейман, А.І.Трищинський // Ендогенна інтоксикація та її корекція в педіатрії: матеріали наук. практич. конференції: тези доп. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 69.

**ТОКСИН-ИНДУЦИРОВАННЫЕ АВТОИММУННЫЕ РЕАКЦИИ И ПОДХОДЫ К ИХ КОРРЕКЦИИ***Е.Г.Васильева, Б.С.Шейман*

**Резюме.** В работе представлены особенности формирования токсин-индуцированных аутоиммунных реакций у пациентов с гематологическими и неврологическими заболеваниями. Продемонстрированы результаты токсикометрических исследований эндотоксемии: потенциалы повреждающей активности (токсичности) эндотоксинов, размеры частиц, распределение и накопление их в кровяном русле, прочность связи с токсиннесущими фракциями. Определены аутоиммунные реакции у больных; проведена корреляционная зависимость между уровнями токсин-индуцированной аутоиммунной активности и параметрами токсичности цельной плазмы и ее компонентов.

**Ключевые слова:** аутоиммунные реакции, токсикометрические параметры эндотоксемии, аутоиммунная и цитолитическая активность.

**TOXIN-INDUCED AUTOIMMUNE REACTIONS AND APPROACHES AS FOR THEIR CORRECTION***B.S.Sheiman, E.G.Vasilieva*

**Abstract.** The paper presents the peculiarities of the development of toxin-induced autoimmune reactions in patients with hematologic and neurologic diseases. The results of toxicometric testings of endotoxemia are demonstrated: the potentials of the damaging activity (toxicity) of endotoxins, the sizes of particles, their distribution in the blood stream the strength of the connection with toxin carrying fractions. Patients' autoimmune reactions have been evaluated; an analysis of correlative dependence between the levels of the toxin-induced autoimmune activity and the parameters of the toxicity of whole plasma and its components has been made.

**Key words:** autoimmune reactions, toxicometric parameters of endotoxemia, autoimmune cytolytic activity.

L.I.Medved' Institute of Ecohygiene and Toxicology of Ukraine's MHP (Kyiv)  
The National Children's Specialized Hospital "Okhmatdyt" of Ukraine's MHP (Kyiv)

Рецензент – проф. Л.І.Власик

Buk. Med. Herald. – 2010. – Vol. 14, № 2 (54). – P. 28-32

Надійшла до редакції 24.12.2010 року