

Н.А. Павловская

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА  
**ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**РУКОВОДСТВО**



Москва  
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА  
«ГЭОТАР-Медиа»  
2020

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений . . . . .	5
Введение . . . . .	7
<b>Глава 1. Лабораторные биомаркеры и их роль в медицине . . . . .</b>	<b>9</b>
1.1. Лабораторные биомаркеры и их классификация . . . . .	9
1.2. Требования к идеальным биомаркерам . . . . .	11
1.3. Диагностическая информативность биомаркеров . . . . .	12
<b>Глава 2. Лабораторные биомаркеры в профпатологии . . . . .</b>	<b>17</b>
2.1. Лабораторные биомаркеры, уровни которых изменяются при действии производственной пыли . . . . .	17
2.2. Лабораторные биомаркеры, уровни которых изменяются при действии вибрации на организм рабочих . . . . .	19
2.3. Закономерности изменения лабораторных показателей при действии вредных производственных факторов . . . . .	21
<b>Глава 3. Методические подходы к оценке диагностической информативности лабораторных биомаркеров в профессиональной патологии . . . . .</b>	<b>23</b>
3.1. Диагностические характеристики биомаркеров, необходимые для оценки их информативности . . . . .	23
3.2. Методические подходы к оценке диагностической информативности лабораторных биомаркеров . . . . .	24
<b>Глава 4. Выбор информативных лабораторных биомаркеров для ранней диагностики профзаболеваний рабочих . . . . .</b>	<b>35</b>
4.1. Диагностические характеристики лабораторных биомаркеров при действии угольной пыли на организм работающих . . . . .	35

4.2. Выбор информативных лабораторных биомаркеров для раннего выявления воздействия угольной пыли на организм человека . . . . .	46
4.3. Ранняя диагностика сатурнизма . . . . .	49
4.4. Ранняя диагностика вибрационной патологии. . . . .	66
<b>Глава 5. Методы количественного определения биомаркеров в биосредах для ранней диагностики действия вредных факторов на организм человека. . . . .</b>	<b>71</b>
5.1. Определение показателей оксидативного стресса . . . . .	71
5.2. Методы определения иммунного статуса организма человека . . . . .	84
5.3. Определение оксипролина в биологических средах . . . . .	94
5.4. Количественное определение гаптоглобина в сыворотке и плазме крови . . . . .	98
5.5. Определение активности дегидратазы δ-аминолевулиновой кислоты в крови. . . . .	101
5.6. Определение концентрации δ-аминолевулиновой кислоты в моче . . . . .	106
5.7. Определение концентрации цинк-протопорфирина в крови. . . . .	108
5.8. Определение свинца в биологических материалах. . . . .	110
5.9. Определение скорости агрегации тромбоцитов . . . . .	115
5.10. Определение креатина в моче. . . . .	117
Заключение. . . . .	121
Литература . . . . .	122
Предметный указатель . . . . .	125

# **МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАТИВНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ БИОМАРКЕРОВ В ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ**

---

---

## **3.1. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОМАРКЕРОВ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ ИНФОРМАТИВНОСТИ**

Особенности (закономерности) изменения уровней лабораторных показателей в организме человека при воздействии вредных производственных факторов определяют требования, которые необходимы при оценке их диагностической информативности [3].

Для установления диагностических характеристик лабораторных показателей необходимо провести следующее.

1. Четко определить болезни каждого пациента с помощью клинических, функциональных, лабораторных методов исследования и установить стадии заболевания.

2. Выявить стадию развития профзаболевания, при которой средние значения изучаемых лабораторных тестов начинают достоверно изменяться.

3. Рассчитать частоту встречаемости пациентов, у которых уровень БМ выходит за границы нормы (ДЧ), для всех стадий развития профзаболевания.

4. Выявить БМ, частота встречаемости измененных значений которых выходит за границы референтных уровней у практически здоровых рабочих.

5. Рассчитать частоту истинно отрицательных результатов у лиц без заболевания (ДС).

6. Рассчитать коэффициенты корреляции между тяжестью заболевания и ДЧ.

7. Рассчитать ДЭ и ПЗ лабораторных тестов.

8. Выявить клиническую избирательность БМ.

Такая информация считается основанием для выбора наиболее информативных показателей раннего выявления нарушений в организме человека при том или ином вредном воздействии. Получение материалов, которые необходимы при оценке диагностической информативности лабораторных тестов, возможно при изучении влияния вредных производственных факторов на организм работающих.

## **3.2. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАТИВНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ БИОМАРКЕРОВ**

Для установления диагностических характеристик БМ, которые позволяют выявить наиболее ранние показатели, оценить вероятность развития профзаболевания, патогномичность БМ, прогностическую ценность маркера, проводят исследования на рабочих, подвергающихся воздействию вредных производственных факторов. Проводится медицинское обследование пациентов в соответствии с утвержденными методическими рекомендациями и лабораторное исследование биоматериалов с применением методов, диагностическую информативность которых целесообразно изучить. В основу выбора лабораторных показателей, которые предполагается изучить, могут быть положены данные литературы о патогенезе профзаболевания, новые тесты, результаты собственных наблюдений и др.

Аналитические характеристики лабораторных методик, которые предполагается изучить, должны соответствовать определенным требованиям.

### 3.2.1. АНАЛИТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДИК

Все аналитические и биохимические методы должны соответствовать определенным критериям, численные значения которых обусловлены задачами, стоящими перед исследователем. К критериям, характеризующим аналитическую пригодность метода, относятся специфичность, точность, воспроизводимость, правильность, чувствительность.

Одна из основных характеристик метода — его **чувствительность**. Она характеризует способность метода выявлять наименьшее количество анализируемого вещества, которое еще можно определить количественно. Чувствительность метода характеризуется нижней границей определения ( $C_n$ ).  $C_n$  — наименьшее содержание вещества, которое можно обнаружить с относительным стандартным отклонением  $\leq 0,33$ .  $C_n$  определяется по формуле:

$$C_n = (X_n - X_g) / H,$$

где  $X_n$  — предельное значение параметра, которое еще поддается регистрации;  $X_g$  — среднее значение измеряемого параметра в холостом опыте;  $H$  — чувствительность.

При проведении биохимических, иммунологических, токсикологических исследований чувствительность метода должна быть не выше, чем нижняя граница естественного содержания вещества в организме.

Другая важная характеристика методики — ее **точность**.

Для характеристики точности методики рекомендуются по крайней мере два показателя: **правильность** результатов анализа и **воспроизводимость**.

Правильность методики характеризует качество анализа. То есть близость результата определения ( $X$ ) к истинному значению ( $C_{\text{ист.}}$ ). Правильность методики выражается абсолютной ( $\Delta_0$ ) и относительной ( $\Delta_{\text{отн}}$ ) погрешностями:

$$\Delta_0 = X - C_{\text{ист.}};$$

$$\Delta_{\text{отн}} = [(X - C_{\text{ист.}})/C_{\text{ист.}}] \times 100\%.$$

Для оценки правильности методики используют методы стандартных добавок или сравнения с референтным способом.

**Воспроизводимость** анализа характеризует степень близости вариант, составляющих выборку. Воспроизводимость методики можно оценить, рассчитав среднеквадратическое стандартное ( $S$ ) и относительное ( $S_r$ ) отклонения:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}},$$

где  $x_i$  — значения отдельных показателей;  $x_{cp}$  — среднее значение;  $n$  — число определений.

Если распределение результатов не является нормальным, то для получения точных данных число определений должно быть не менее 30.

Величина  $S$  служит основанием для установления предела точности измерений.

Относительное стандартное отклонение ( $S_r$ ) рассчитывают по формуле:

$$S_r = S/X_{cp}.$$

Затем определяют величину средней ошибки ( $S_x$ ) по формуле:

$$S_x = \pm \frac{S}{\sqrt{n}}.$$

Для оценки правильности результатов применяют контрольную сыворотку с известным содержанием исследуемого вещества.

Кроме этого, можно использовать «способ добавки», когда в пробу вносят известное количество исследуемого вещества, или способ смешивания проб.

Возможно также использовать сравнение результатов анализа, полученных изучаемым и референтным методами.

**Специфичность** методики также служит одним из важных критериев ее аналитической надежности. Специфичность отражает влияние веществ, находящихся в исследуемой пробе, на качество определения того или иного показателя. Специфичность методики характеризуется статистической оценкой мешающих определению органических и неорганических веществ в пробе. Сопутствующие определяемому веществу примеси считаются немешающими, если в их присутствии основные метрологические характеристики не изменяются по сравнению с результатами, полученными при проведении анализа на дистиллированной воде, в которую добавлено определенное количество искомого вещества.

Важный аналитический критерий методики — **диапазон определяемых концентраций**, характеризующий интервал концентраций аналита, который можно определить с помощью конкретной методики с достаточной точностью. Изучаемый способ должен быть испытан на пробах биологического и референтного материала с высоким, средним и низким содержанием определяемого вещества.

### **3.2.2. МЕТОДЫ РАСЧЕТА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛАБОРАТОРНЫХ БИОМАРКЕРОВ В ПРОФПАТОЛОГИИ**

После выбора лабораторных методик и проверки их аналитической надежности подготавливают рабо-



чих изучаемых предприятий и лиц контрольной группы. В соответствии с утвержденными методическими рекомендациями проводят медицинское обследование рабочих. В результате исследований должно быть получено определение болезни каждого пациента с установлением стадии заболевания.

Обследованных лиц подразделяют на группы: практически здоровых стажированных рабочих (стаж более 10–15 лет), рабочих с отдельными признаками профессионального заболевания, рабочих с легкой степенью выраженности профессионального заболевания, со средней степенью выраженности профессионального заболевания и с тяжелой степенью выраженности профессионального заболевания. Рабочих с сопутствующими заболеваниями выделяют в отдельные группы.

Параллельно подготавливают лиц контрольной группы, в которую входят практически здоровые лица того же возраста и пола, не контактирующие с вредными производственными факторами. В биосредах лиц контрольной группы определяют избранные лабораторные показатели и сравнивают результаты с референтными значениями. Если средние значения БМ у контрольной группы выходят за пределы референтных уровней или достоверно ниже, чем минимально определяемое значение, указанное в методике определения, то необходимо выяснить причину расхождения и устранить возможные ошибки.

У рабочих берут пробы биологических материалов в соответствии с требованиями к отбору и хранению проб, которые указаны в каждой инструкции по определению. Затем подготавливают пробы биоматериалов к лабораторному анализу и проводят количественное определение показателей, используя выбранные методики. Рассчитывают средние значения лабораторных показателей, среднееквадратическое отклонение ( $S$ ) и величину средней ошибки ( $S_x$ ).

Результаты сводят в таблицы, в которых необходимо отразить средние значения показателей и ошибки средних значений у всех групп обследованных рабочих и лиц контрольной группы.

Рассчитывают достоверность различий средних значений у рабочих всех групп по сравнению с контролем. Если распределение вариант подчиняется нормальному закону, то используют критерий Стьюдента. Если распределение вариант носит иной характер, применяются непараметрические критерии.

Затем рассчитывают частоту встречаемости рабочих и лиц контрольной группы, у которых значения показателей выходят за пределы референтных значений (диагностическая чувствительность, ДЧ и ДС). Если референтные величины не установлены, то для сравнения используют средние данные, полученные у лиц контрольной группы.

ДЧ — процентное выражение частоты истинно положительных результатов (ИП). ДЧ рассчитывают по формуле [7]:

$$\text{ДЧ} = [\text{ИП}/(\text{ИП} + \text{ЛО})] \times 100\%,$$

где ИП — число пациентов с ИПР, выходящими за границы референтных уровней; ЛО — число больных с ложноотрицательными результатами.

Для лиц контрольной группы рассчитывают ДС. ДС — процентное выражение частоты истинно отрицательных результатов теста (ИО), то есть не выходящих за пределы референтных значений, у здоровых лиц.

$$\text{ДС} = [\text{ИО}/(\text{ИО} + \text{ЛП})] \times 100\% [7],$$

где ЛП — число лиц контрольной группы с ложноположительными результатами; ИО — число лиц контрольной группы с истинно отрицательными результатами; ДС — диагностическая специфичность.

Чем выше ДС, тем надежнее определение наличия заболевания. Результаты сводят в таблицы или графи-

ки. В таблицах обязательно приводят как контрольные показатели, так и референтные уровни (средние значения и среднеквадратичные отклонения).

Для характеристики диагностической ценности лабораторного показателя рекомендуется также расчет ДЭ и прогностической ценности. Расчет проводят по формулам (ДЭ теста предлагается рассчитывать как процент истинных результатов теста к общему числу полученных результатов):

$$\text{ДЭ} = [(\text{ИП} + \text{ИО}) / (\text{ИП} + \text{ЛП} + \text{ИО} + \text{ЛО})] \times 100\% [7].$$

Предсказательная (прогностическая) значимость, ПЗ<sup>+</sup>, или ценность положительного результата теста, это вероятность того, что у обследуемого лица есть заболевание.

Предсказательная (прогностическая) значимость (ПЗ<sup>+</sup>- результатов выражается процентным отношением ИП к общему числу положительных результатов: ИП и ЛП:

$$\text{ПЗ}^+ = [\text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛП})] \times 100\% [16].$$

Прогностическая значимость метода отражает вероятность заболевания при условии известного результата диагностического исследования. Прогностичность положительного результата отражает пропорцию истинно положительных ИП-результатов среди всех положительных значений теста. ПЗ<sup>+</sup> показывает, насколько велика вероятность наличия болезни, синдрома при положительном результате исследования.

Прогностическая значимость отрицательного теста (ПЗ<sup>-</sup>) — это процентное отношение ИО к общему числу отрицательных результатов (ИО+ЛО):

$$\text{ПЗ}^- = [\text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛО})] \times 100\% [7].$$

Предсказательная значимость отрицательного результата (ПЗ<sup>-</sup>) характеризует вероятность того, что у обследуемого нет заболевания.

Результаты сводят в таблицы или графики и проводят их сравнительный анализ, позволяющий выявить стадию развития профзаболевания, при которой начинает достоверно изменяться уровень теста (донозологическую значимость), диагностическую чувствительность, ДЭ и прогностическую значимость.

Если среднее значение показателя достоверно повышается или понижается у практически здоровых рабочих, то данный тест может рассматриваться как потенциальный БМ для ранней донозологической диагностики.

Значения ДЧ, полученные для последовательных стадий профзаболевания, используют для расчета коэффициента корреляции между выраженностью воздействия и частотой встречаемости пациентов, у которых уровни теста выходят за пределы референтных значений. При этом оценивается вероятность связи показателя с патогенезом (патогномоничности).

Полученные значения ДС, ДЧ могут быть использованы и для построения РОС-кривой.

### **3.2.3. ВЫБОР ИНФОРМАТИВНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ РАННЕГО ВЫЯВЛЕНИЯ ВРЕДНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ**

Диагностические характеристики БМ позволяют выбрать тесты для ранней диагностики. Для ранней диагностики профессиональных заболеваний выбирают лабораторные показатели, отвечающие следующим условиям:

1) у практически здоровых рабочих средние уровни БМ и (или) ДЧ должны достоверно отличаться от референтных значений;

2) желательно, чтобы диагностическая чувствительность у практически здоровых стажированных рабочих была более 50%;

3) коэффициент корреляции между выраженностью воздействия и частотой встречаемости рабочих,

у которых уровни теста отличаются от нормы, должен быть не менее  $r > 0,8$ ;

4) желательно, чтобы ДЭ и ПЗ БМ у практически здоровых рабочих были не менее 85%;

5) при выборе информативных БМ необходимо учитывать, при каких других заболеваниях возможно аналогичное изменение уровня БМ;

6) при создании комплексов лабораторных БМ для ранней диагностики профзаболеваний необходимо использовать показатели, уровни которых изменяются на разных стадиях развития профзаболевания и отражают разные молекулярные процессы, протекающие в организме.

В связи с этим выбирают показатели, уровни которых и ДЧ начинают достоверно изменяться при доклинической стадии заболевания, характеризуются наиболее высокими значениями ДЧ, ДЭ и ПЗ<sup>+</sup> и коэффициентом корреляции между ДЧ и выраженностью воздействия.

Сопоставление диагностических характеристик БМ позволяет выбрать наиболее информативные тесты для раннего выявления в организме изменений, характерных для профессионального заболевания.

При выборе информативных лабораторных критериев важно учитывать, что молекулярные и клеточные изменения (в большинстве случаев) — это нарушение какого-либо процесса, протекающего на молекулярном уровне, характерного для данной болезни. Поэтому изменение уровня лабораторного БМ свидетельствует о вероятности заболевания. Чем выше прогностическая значимость теста, тем больше вероятность развития болезни. При профессиональных заболеваниях в организме нарушается протекание многих процессов на молекулярном и клеточном уровне. По мере возрастания тяжести заболевания количество нарушенных процессов увеличивается и выраженность изменений уровней БМ растет. Для того чтобы дифференцировать стадию развития

профзаболевания и повысить вероятность его развития, необходимо использовать не один показатель, а их комплекс, который отражает основные процессы, характерные для конкретного заболевания.

Применение нескольких лабораторных БМ с высокой диагностической чувствительностью, донологической значимостью и высоким коэффициентом корреляции между стадией профзаболевания и ДЧ позволяет повысить вероятность прогноза возникновения болезни, тяжести заболевания и эффективности применяемой терапии. При этом важно в комплекс включать БМ, уровни которых начинают изменяться на разных стадиях развития заболевания.

В качестве примеров выбора информативных БМ ранней диагностики профзаболеваний в главе 4 приведены данные, полученные при оценке диагностической значимости тестов при действии пылевого, химического и физического факторов.