

Винахід відноситься до медицини, а саме, до імунології і може бути використаний при оцінці реалізації ефекторних реакцій гуморального імунітету в людини.

За прототип обрано спосіб визначення імуноглобулінів (Джей А. Берзовски, Айра Джю Берковер. Диффузия одного компонента в двух направлениях (метод Манчини) //Иммунология./ Под ред. У. Пола. - Т.3.- 1989.- С.71) шляхом застосування методу радіальної імунодифузії, який полягає в приготуванні шару агару, що містить моноспецифічні антитіла, виготовлення в цьому агарі лунок, заповненні цих лунок досліджуваним розчином з наступною інкубацією до формування кілець преципітації, по яких визначають імуноглобуліни та їх кількість.

Ознаками, що збігаються з істотними ознаками запропонованого способу, є: приготування агарового шару, що містить моноспецифічні антитіла, приготування в цьому агарі лунок, заповнення цих лунок досліджуваним субстратом, інкубація і реєстрація кілець преципітації.

Технічним результатом є: підвищення точності визначення імуноглобулінів.

Причинами, що перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату, є: неможливість визначення нерозчинних імуноглобулінів, що вступили у взаємодію з нерозчинними елементами тканин, тому що вони, після зв'язування з тканинами, втрачають гідрофільність і здатність дифундувати в агар.

В основу запропонованого винаходу поставлена задача: удосконалення способу-прототипу шляхом солюбілізації структурних, зв'язаних із тканинами імуноглобулінів, що дозволяє робити їх визначення.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі визначення імуноглобулінів, який включає приготування шару агару, що містить моноспецифічні антитіла, приготування в цьому агарі лунок з наступним заповненням їх досліджуваним субстратом, інкубацію і реєстрацію кілець преципітації, відповідно до винаходу, попередньо готують досліджуваний субстрат гомогенізацією клітин чи тканин, відокремлюють нерозчинну фракцію гомогенату, з якою солюбізують детергентом імуноглобуліни.

Між сукупністю істотних відмітних ознак запропонованого винаходу та очікуваним результатом виявляється наступний причинно-наслідковий зв'язок: солюбілізація детергентом імуноглобулінів, фіксованих на нерозчинній частині тканин і кліток сприяє їхній дифузії в агар, подальшій взаємодії з моноспецифічними антитілами, преципітації їх цими антитілами з утворенням кілець преципітації, по яких вони можуть бути визначені якісно і кількісно.

Спосіб полягає в наступному.

Готують агарову пластину. Для цього на горизонтальні скляні пластини розливають 1,5% розплавлений при 56°С агар, що містить моноспецифічні антитіла проти імуноглобуліну, потім після застигання агару в ньому наготавливають лунки з діаметром 5мм. Потім готують солюбілізат структурних імуноглобулінів, для чого 100мг клітин або тканин гомогенізують, осад відкидають ізотонічним розчином шляхом декантування, висушують, доливають 2мл 1%-го розчину детергенту - дезінтегрон-О, інкубують протягом доби при кімнатній температурі, центрифугують при 3000обер/хв, осад відкидають. Далі отриманим солюбілізатом заповнюють лунки в агарі в обсязі 40мкл та інкубують до повного формування кілець преципітації, по яких визначають імуноглобуліни та їх кількість.

Запропонований спосіб ілюструється наступними прикладами його виконання.

Приклад 1.

Результати досліджень по визначенню структурних імуноглобулінів у сквамозних елементах, що утворюються у вогнищах запалення в 5-ти хворих на псоріаз, представлені в табл.1.

Як видно з табл.1, у сквамозних елементах хворих на псоріаз визначають структурні імуноглобуліни і вони належать до IgG, IgM, IgA. Отже, ці імуноглобуліни беруть участь у реалізації ефекторної фази гуморального імунітету при псоріазі і з ними зв'язане відторгнення епідермісу.

Приклад 2.

Результати досліджень по визначенню структурних імуноглобулінів у сквамозних елементах, що утворюються у вогнищах запалення в 5-ти хворих з еритематозно-бульозною пікою представлені в табл.2.

Як видно з табл.2., в сквамозних елементах вогнищ запалення хворих еритематозно-бульозною пікою визначаються імуноглобуліни і вони належать до IgG, IgM, IgA. Отже, ці імуноглобуліни беруть участь у реалізації ефекторних реакцій гуморального імунітету при піку і з ними пов'язано відторгнення епідермісу.

Приклад 3.

Результати досліджень по визначенню структурних імуноглобулінів у роговому шарі нормального епідермісу 5-ти здорових індивідумів представлені в табл.3.

Як видно із табл.3., в роговому шарі нормального епідермісу визначаються IgG і не визначаються IgM і IgA. Отже, у нормі роговий шар епідермісу відривається за участю IgG.

Використання запропонованого способу показує, що в нормі відторгнення епідермісу відбувається за участю гуморальних реакцій імунітету, разом з тим участь гуморального імунітету у відторгненні епідермісу при патології якісно і кількісно відрізняється від такого в нормі.

Таблиця 1

Хворі на псоріаз №п.п.	Діаметри кілець преципітації IgG у мм.	Діаметри кілець преципітації IgM у мм	Діаметри кілець преципітації IgA у мм
№1	10,35	7,8	7,9
№2	10,9	7,7	7,95
№3	10,45	7,45	7,9
№4	10,19	7,3	8,2

№5	9,35	7,8	8,0
----	------	-----	-----

Таблиця 2.

Хворих з еритематозно-бульозною пікою № п.п.	Діаметри кілець преципітації IgGy мм.	Діаметри кілець преципітації IgM у мм	Діаметри кілець преципітації IgAy мм
№1	10,65	8,75	10,8
№2	11,75	8,95	9,8
№3	11	8	10,8
№4	10,45	8,6	9,9
№5	9,5	6,9	10,5

Таблиця 3

Здорові люди. № п.п.	Діаметри кілець преципітації IgGy мм.	Діаметри кілець преципітації IgMy мм	Діаметри кілець преципітації IgAy мм
№1	6,7	0	0
№2	6,75	0	0
№3	7	0	0
№4	6,75	0	0
№5	6,75	0	0