



УКРАЇНА

(19) UA (11) 18793 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 33/53МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ІМУННОЇ РЕАКТИВНОСТІ ОРГАНІЗМУ

1

(21) u200606230

(22) 05.06.2006

(24) 15.11.2006

(46) 15.11.2006, Бюл. № 11, 2006 р.

(72) Кудрявцева Валентина Євгеніївна, Татарчук Оксана Михайлівна, Мосійчук Лідія Миколаївна, Руденко Анатолій Іванович, Єгорова Світлана Юріївна, Крекнін Олександр Федорович, Гаркава Катерина Григорьевна

(73) ІНСТИТУТ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ, НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб визначення імунної реактивності організму, який включає отримання інформації про реакцію крові пацієнта на дозований зовнішній

2

вплив, оцінку цієї реакції, який відрізняється тим, що як дозований вплив використовують вплив на кров вихровим імпульсним магнітним полем потужністю 5-10 мТл з частотою модуляції 80-85 Гц протягом 10-12 хв., імунну реактивність організму оцінюють за величиною індексу стимуляції (ІС), який визначають за формулою:

$$IC = \text{НСТстим.} / \text{НСТспонт.} (\%),$$

де НСТ стим. - НСТ стимульований;

НСТ спонт. - НСТ спонтанний,

за величиною індексу стимуляції 1,0 та менше імунну реактивність організму, його резервні можливості оцінюють недостатніми, при величині ІС від 1 до 4 - помірними, при величині ІС більше 4 - високими.

Спосіб, що заявляється, відноситься до медицини, а саме, до способів оцінки реактивності (резистентності) організму, його стійкості до дії пошкоджуючих факторів та може бути використай для визначення стану захисних механізмів та резервних можливостей організму.

Відомо, що організм людини здатний протистояти різноманітним пошкоджуючим факторам зовнішнього та внутрішнього середовища. Захисні можливості організму залежать від функціонального стану ряду систем, в першу чергу від стану нервової, ендокринної та імунної систем. Стан та особливості реактивності організму, а також імунної системи, виявляють та оцінюють за допомогою функціональних проб та навантажень, які використовуються в клінічній практиці. Вони дозволяють визначити та оцінити функціональні стани імунної системи, її резервні можливості, оцінити реактивність організму. Визначення імунної реактивності необхідно знати для визначення тактики лікування у тих випадках, коли ті чи інші захворювання повторюються часто, протікають атипічно, торпидно, а лікування малоефективне.

Реактивність імунної системи визначають відомими засобами шляхом дослідження спонтанної та стимульованої фагоцитарної активності нейтрофілів.

Відомий спосіб оцінки функціональної активності нейтрофілів периферичної крові шляхом ви-

значення параметрів спонтанного та стимульованого фагоцитозу нейтрофілів лабораторними методами [1, 2, 3, 4].

В якості об'єкту фагоцитозу використовують живі або вбиті клітини мікроорганізмів, ядровмісні еритроцити птахів, різноманітних твердих частинок - полістирол, латекс, зімозан та інше. Найбільш поширеним методом, при якому в якості об'єкту фагоцитозу використовується полістироловий латекс, в якості стимулятора фагоцитарних реакцій - мікробні полісахариди: зімозан, продигіозан та ін. Методи потребують затрат реактивів, робочого часу для постановки реакції, отримання результатів шляхом ретельної мікроскопії та математичної обробки отриманих даних.

Відомий спосіб імунної реактивності організму шляхом додавання до лейкоцитів крові стимулятора, в якості якого застосовують частинки латексу, навантажених антигеном. Виконуєма реакція хемолюмінісценції дає можливість судити про імунну реактивність організму. Спосіб не забезпечує достатньої точності в оцінці імунної реактивності [5].

Найбільш близьким до заявленого способу і прийнятому за найближчий аналог є визначення фагоцитарно-метаболическої активності фагоцитів по НСТ-тесту за методом Park зі співавтор, [6]. Активність відновлення НСТ відображає стан бактерицидних пероксидазних систем і корелює з

(19) UA (11) 18793 (13) U

утворенням перекису водню під дією НАД-Н та НАДФ-Н-оксидаз. Для більш повної характеристики фагоцитів НСТ-тест проводять у двох варіантах - спонтанному і стимульованому опсонізованими частинками зимозану.

Метод включає забор крові, її гепаринізацію, опсонізацію частинок зимозана (інкубація 1 мл частинок зимозана при 37° 1 год з рівним об'ємом зібраної від 4-5 донорів свіжої нормальної сироватки), приготування робочого розчину НСТ, 30-тихвилинну інкубацію, приготування й окраска мазків, підрахунок формазанпозитивних гранулоцитів і оцінка по цьому показнику результатів НСТ-теста.

Недоліком відомого способу – найближчого аналога є недостатня точність і складність виконання - для виконання способу необхідна наявність свіжої сироватки крові 4-5 донорів.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити засіб визначення імунної реактивності організму, який забезпечував би більш точну оцінку імунної реактивності, дозволяв найбільш повно виявити резервні можливості організму, був простим для використання, не потребував дефіцитних реактивів.

Поставлена задача вирішується шляхом оцінки реакції крові пацієнта на дозований вплив вихрового імпульсного магнітного поля потужністю 5-10 мТл, частотою модуляції 80-85 Гц протягом 10-15 хв. Реакцію крові на дозований вплив оцінюють за величиною індексу стимуляції, як відношення показника НСТ стимульованого до показника НСТ спонтанного за формулою:

$IC = \text{НСТстим} / \text{НСТспонт}$,

де НСТ стим - НСТ стимульований,

НСТ спонт - НСТ спонтанний.

За показником індексу стимуляції оцінюють імунну реактивність організму і функціональні резерви фагоцитарної системи імунітету. IC менше або 1 - вказує на недостатність резервних можливостей фагоцитарної системи, від 1 до 4 - помірні та понад 4 - високі резервні можливості.

Спосіб проводять таким чином: свіжої гепаринізованої крові вносимо у 2 силіконізовані пробірки по 0,2 мл. У обидві пробірки додаємо 0,2 мл розчину НСТ. На другу пробірку впливаємо вихровим магнітним полем потужністю 5-10 мТл, частотою модуляції 80-85 Гц протягом 10 хв за допомогою магнітотерапевтичного апарату "ВІМП-01". Далі інкубуємо 30 хв при 37°C у вологій камері. Після інкубації робимо мазки, висушуємо у повітрі, фіксуємо 10 сек метиловим спиртом, дофарбовуємо 2% розчином метилового зеленого на ацетатному буфері, рН - 5,0. Під масляно-імерсійним мікроскопом проводимо підрахунок 200 нейтрофілів і визначаємо відсоток НСТ - позитивних клітин (які мають сіньо-фіолетові гранули формазана). Розраховують індекси стимуляції (IC) за формулою:

$IC = \text{НСТстим} / \text{НСТспонт}$.

Проведено дослідження крові хворих на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки (ВХ ДПК) і гастроезофагальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ) по показнику НСТ - тесту по способу Park зі співр. і співавторів по заявленому способу.

Спосіб пояснюється наступними прикладами.

Приклад 1. Хворий Л. В. Г., чоловік 64 років знаходився на лікуванні у відділенні захворювань шлунка та дванадцятипалої кишки Інституту гастроентерології АМН України. Клінічний діагноз: ВХ ДПК асоційовану з *Helicobacter pylori*. Дата дослідження: 3.03.06 року.

Значення НСТ спонтанний - 9%, НСТ стимульований зимозаном - 20% та IC=2,2.

НСТ стимульований дозованим магнітним полем - 38%, IC=4,2.

Заключення. У хворого Л. В. Г. на ВХ ДПК асоційовану з *Helicobacter pylori*, при дослідженні периферичної крові визначено за допомогою стимульованого:

- зимозаном встановлені помірні резервні можливості фагоцитарної системи, які потребують імунокорегуючої терапії;

- магнітним - високі резервні можливості фагоцитарної системи, які є сприятливим прогностичним критерієм і не потребують застосування імунокорегуючої терапії.

Приклад 2. Хворий С. М. П., чоловік 65 років знаходився на лікуванні у відділенні захворювань шлунка та дванадцятипалої кишки Інституту гастроентерології АМН України. Клінічний діагноз: ГЕРХ асоційовану з *Helicobacter pylori*. Дата дослідження: 1.03.05 року.

Значення НСТ спонтанний - 8%, НСТ стимульований зимозаном - 8%, IC=1.

НСТ стимульований дозованим магнітним полем - 20%, IC=2,5.

Заключення. У хворого С. М. П. на ГЕРХ асоційовану з *Helicobacter pylori*, при дослідженні венозної крові визначено за допомогою стимульованого НСТ:

- зимозаном встановлені відсутність резервних можливостей фагоцитарної системи, яка потребує імунокорегуючої терапії і є несприятливим прогностичним критерієм;

- магнітом - помірні резервні можливості фагоцитарної системи, які є сприятливим прогностичним критерієм і потребують застосування імунокорегуючої терапії.

Спосіб визначення імунної реактивності організму використано в лабораторії імунології Інституту гастроентерології АМНУ при обстеженні та лікуванні хворих з захворюваннями органів травлення.

Результати дослідження представлені в таблиці.

Таблиця

Групи хворих	IC при використанні Зимозана			IC при використанні магнітного поля		
	недостатній	помірний	високий	недостатній	помірний	високий
ВХ ДПК n=28	12 (42,9%)	16 (57,1%)	-	5 (17,9%)	14 (50,0%)	9 (32,1%)
ГЕРХ n=22	9 (40,9%)	11 (50,0%)	2 (9,1%)	7 (31,8%)	5 (22,7%)	10 (45,5%)

Вищезазначені дані свідчать про те, що заявлений спосіб працездатний, він дозволяє визначити більш точно імунну реактивність організму, більш повно виявити його резервні можливості. Спосіб простий у виконанні, він виключає використання дорогих реактивів, а саме, свіжої сироватки крові. Зовнішній точно дозований вплив магнітним полем дозволяє стандартизувати величину засобів впливу.

Використані джерела інформації:

1. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. - М.: Наука, 1990. - С. 75.
2. Земсков В.М. Фагоцитоз: физиологические и молекулярные аспекты. // Успехи соврем. Биологии. - 1984. - Т. 98. - N 5. - С. 219-239.
3. Шатров В.А., Кузнецова Л.В., Беляновская

Т.И. Изучение способности моноцитов больных туберкулёзом лёгких восстанавливать нитросиний тетразолий при фагоцитозе частиц латекса. // Лаб. Дело - 1985 - № 7, стр. 408-410.

4. Гордиенко С.М. Сравнительная оценка результатов теста восстановления нитросинего тетразолия при микроскопическом и спектрофотометрическом вариантах метода с различными солями тетразолия. // Лаб. дело - 1983. - №2. - С. 21-24.

5. Ав. св. 1629848. СССР G OCN 33/53. 23.02.1991.

6. Park B.H., Fikrig S.M., Smithwick E.M. - Lancet, 1968, v. 2., p. 532-534.