



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1068100 A

3(51) A 61 B 10/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

РПФК

И АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 3210402/28-13

(22) 24.09.80

(46) 23.01.84. Бюл. № 3

(72) И.С. Никольский, В.А. Мазуренко, Ю.А. Гриневич, Л.П. Киндзеньский, О.Д. Черненко и В.В. Овсиенко

(71) Киевский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови и Киевский научно-исследовательский рентгено-радиологический и онкологический институт

(53) 616.07 (088.8)

(56) 1. Кассирский И.А., Алексеев Г.А. Клиническая гематология. М., 1970, с. 110-130.

2. Кудыбайло Р.В. Лимфогранулематоз. М., 1971, с. 40-43, 58-59.

(54) (57) СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГЕМОБЛАСТОЗОВ путем исследования клеток крови, отличающийся тем, что, с целью повышения точности способа, проводят реакцию розеткообразования лейкоцитов пациентов с тучными клетками в соотношении (50-100):1 соответственно, полученную смесь центрифугируют, осадок ресуспендируют, подсчитывают образовавшиеся розетки и при величине розеткообразования 5,0-6,2% диагностируют лимфогранулематоз, а при величине этого показателя 16,7-31,5% диагностируют лейкоз.

(19) SU (11) 1068100 A

Изобретение относится к медицине, в частности к диагностике гемобластозов.

Известен способ диагностики гемобластозов, основанный на цитоморфологическом исследовании, позволяющем проводить количественную дифференцировку отдельных элементов гемогаммы, миелограммы и констатировать степень зрелости клеток крови [1].

Недостатком способа является его невысокая точность.

Известен также способ дифференциальной диагностики гемобластозов путем исследования клеток крови [2].

Однако известный способ также не обладает высокой точностью.

Целью изобретения является повышение точности способа.

Поставленная цель достигается тем, что согласно способу дифференциальной диагностики гемобластозов путем исследования клеток в крови, проводят реакцию розеткообразования лейкоцитов пациентов с тучными клетками в соотношении (50-100):1 соответственно, полученную смесь центрифугируют, осадок ресуспендируют, подсчитывают образовавшиеся розетки и при величине розеткообразования 5,0-6,2% диагностируют лимфогранулематоз, а при величине этого показателя 16,7-31,5% диагностируют лейкоз.

Способ осуществляют следующим образом.

Из гепаризированной крови пациента в градиенте фиколла и верографина выделяют лимфоциты известным способом.

Тучные клетки получают путем промывания брюшной полости крыс 10 мл раствора гемоцелл с последующей очисткой суспензии клеток в градиенте фиколла и верографина.

Пробы, содержащие смесь лейкоцитов и тучных клеток в соотношении (50-100):1 соответственно, центрифугируют 5 мин. при 250 об/мин.

Образовавшийся осадок клеток ресуспендируют пастеровской пипеткой и в виде капли переносят на предметное стекло, покрытое тонким слоем 0,1% нейтрального красного. Тучные клетки окрашивают при трехкратном пипетировании капли. Суспензию вносят в гемоцитометр и подсчитывают количество розеток на 200 тучных клеток. Розеткой считают клеточную ассоциацию, включающую тучную клетку с присоединенными к ней тремя и более лейкоцитами.

И при величине розеткообразования 5,0-6,2% диагностируют лимфогранулематоз, а при величине этого показателя 16,7-31,5% диагностируют лейкоз.

Пример 1. У больного А берут кровь на исследование. В центрифужную пробирку наливают 2 мл смеси фиколла и верографина (плотность 1,077) и наслаивают на нее 2 мл гепаризированной крови больного. Полученную смесь центрифугируют 40 мин при 1500 об/мин.

По окончании центрифугирования в интерфазе на границе плазмы крови и смеси фиколла с верографином наблюдают образование белого кольца, содержащего преимущественно лимфоциты.

Клетки кольца отбирают пастеровской пипеткой и переносят в пробирку, где дважды отмывают раствором гемоцелл, ресуспендируют в этом растворе, подсчитывают в гемоцитометре и разводят до концентрации 10^4 /мл.

Тучные клетки получают следующим образом. Под гексеналовым внутримышечным наркозом крысам весом 150-200 г внутрибрюшинно вводят 10 мл подогретого до 37°C раствора гемоцелл.

В течение 2 мин делают массаж брюшной стенки, затем делают ее срединный разрез и кишечник крысы перекладывают в стеклянную воронку, помещенную в центрифужную пробирку. Введенный в брюшную полость раствор гемоцелл, содержащий вымытые клетки перитонеальной полости, собирают в пробирку, затем 5 мл этой взвеси клеток наслаивают в центрифужной пробирке на 2 мл смеси фиколла и центрифугируют 15 мин при 250 об/мин. По окончании центрифугирования в гетерофазе собираются лимфоциты, а тучные клетки оседают на дно пробирки. Содержимое пробирки до самого ее дна отбрасывают, а тучные клетки, лежащие на дне пробирки, ресуспендируют в растворе гемоцелл и 2 раза им же отмывают.

Затем взвесь клеток в виде капли переносят пастеровской пипеткой на предметное стекло, покрытое тонким слоем высушенного 0,1% нейтрального красного.

Каплю 3 раза пипетируют пастеровской пипеткой. При этом нейтральный красный окрашивает тучные клетки, а лимфоциты, содержащиеся в виде небольшой примеси, остаются бесцветными.

Затем эту взвесь переносят в гемоцитометр, подсчитывают количество тучных клеток и разводят до концентрации 10^5 /мл.

В пробирку помещают 1 мл взвеси лейкоцитов больного лимфогранулематозом и 1 мл взвеси тучных клеток, содержимое перемешивают и центрифугируют 5 мин при 250 об/мин.

Образовавшийся осадок клеток ресуспендируют пастеровской пипеткой и в виде капли переносят на покровное стекло, покрытое тонким слоем 0,1% нейтрального красного. Вносят суспензию в гемоцитометр и подсчитывают количество образовавшихся розеток на 200 тучных клеток. При этом наблюдают величину розеткообразования равную 6,0%, что соответствует диагнозу лимфогранулематоз.

Пример 2. У больного В берут кровь на исследование. В пробирку помещают взвеси лейкоцитов больного лейкозом и взвесь тучных клеток, полученные способом описанным в примере 1, в соотношении 50:1 соответственно.

Пробы центрифугируют 5 мин. при 250 об/мин., осадок ресуспендируют и подсчитывают количество образовавшихся розеток на 200 тучных клеток. В данном случае наблюдают вели-

чину розеткообразования равную 30,0%, что соответствует диагнозу лейкоза.

Пример 3. Пробу, содержащую смесь лимфоцитов больного лейкозом и тучных клеток в соотношении 100:1 соответственно, центрифугируют 5 мин. при 250 об/мин., осадок ресуспендируют и подсчитывают количество образовавшихся розеток на 200 тучных клеток. При этом величина розеткообразования составила 16,7%, что соответствует диагнозу лейкоза.

Использование предлагаемого способа дифференциальной диагностики гемобластозов позволит повысить точность диагностики, способствовать развитию представлений о природе этих патогенетических процессов, что позволит повысить эффективность лечения больных.

Составитель Н. Хрусталева

Редактор А. Черных

Техред Л. Филипенко

Корректор А. Зимокосов

Заказ 11351/3

Тираж 691

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4

