

СПОСІБ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ХАРАКТЕРИСТИК КЛІТИННИХ ПОПУЛЯЦІЙ МЕТОДОМ ХЕМІЛЮМІНІСЦЕНЦІЇ

Винахід відноситься до медицини та біології і може бути використаним для діагностики широкого кола функціональних та патологічних станів організм)⁷.

ВІДОМІЙ спосіб визначення етіології кульових утворень легенів (ах. №1763983, МКІ G 01 N 33/53).

Для диференціальної діагностики ехінококку, туберкульозу та раку легенів використовують метод ініційованої хемілюмінисценції (ХЛ) зразків плазми крові (одержують із суміші цільної крові, в яку добавлені ехінококкова рідина або туберкулін, або витяжка периферічного раку легенів) після 30-хвплпної інкубації і при збільшенні загальної світлосуми одного з НІV в 1.5 і більше раз у порівнянні з контролем ставлять діагноз **ВІДПОВІДНОГО ■ІЛКІОрЮПШІЯ**.

Недоліком методу є по середі с (побічне) відбиття процесів, ідо відбуваються в клітинах через їх вплив на плазму крові, відносна трудомісткість, ірпвалість.

Відомий "Спосіб оцінки функціональної активності імунокомнетенгних клітин в системі цільної крові" (а.с. № 2067766, МКІ G 01 N33/52).

Метод включає відбір кроні, реєстрацію ріння хемілюмінисцентної реакції в присутності індуктора і а хемілкшінісцентного зонда з послідуочнм розрахунком оціночного показника, по величині якого судять про ступінь активності імунокомпетентнпх клітин.

Недоліком способу є використання цільної крові, що знижує специфічність методу, використання зонду - дорогостоючої речовини, а також трудомісткість способу.

Найбільш близьким до заявленої винаходу є "Спосіб визначення сенсibilізації до алергенів" (а.с. №1569705, МКІ G 01 N 33/48).

Суїть методу полягає в безпосередньому виділенні досліджуваних клітин - лімфоцитів та вимірюванні їх спонтанної ХЛ та ХЛ після 10-20 хвилин інкубації / 20 мл розчину алергену і нрп збільшенні інтенсивності ХЛ на 11°i. і більше діагностують (підтверджують) сенсibilізацію до цього алергену.

Недоліком способу є мала чутливість методу.

В основу винаходу поставлена задача створення точного та швидкого способу визначення функціональних характеристик клітинних популяцій різного походження шляхом підбору універсальної системи індукції хемілюмінесценції, яка сумісно з конкретним для досліджуваної реакції індикатором дозволяє реєструвати специфічну хемілюмінесцентну відповідь, на підставі якої визначають функціональні характеристики, резерви та патологічний етап організму.

Спосіб здійснюється слідуєчим чином. З крові або іншого біологічного матеріалу виділяють звичайним широко розповсюдженим способом досліджуєм^ популяцію клітин (наприклад, лімфоцити). В кювету хемілюмінометра наливають 1 мл фізіологічного розчину (0.9% NaCl), додають і ь певну кількість клітин, які знаходяться в 0.05 мл рідини, потім в цю суміш додають 0.05 мл необхідного індикатора (наприклад, алерген) та систему індукції і після вимірювання фону хемілюмінесценції реєструють спалах та хемілюмінесцентну відповідь шолому, по величині та динаміці якого судять про функціональні характеристики популяції клітин і визначають відповідний стан організму

Приклад 1. Діагностика алергичного стану організму. Для цього виділяють популяцію лімфоцитів із крові хворого. В градієнті щільності

верографіпу (*J= 1.077) двічі промішали середовищем Хенкеа, доводили до концентрації $2 \cdot 10^5$ кл/мл. Беруть 0.05 мл клітинної суспензії, вміщують в кювету, в яку попередньо наливо 1 мл фізіологічного розчину, додають 0.05 мл алергену (концентрація як для реакції РГМЛ) та систему індукції.

Після вимірювання ХЛ-відповіді лімфоцитів показники зрівнювали з хемілюмінесценцією лімфоцитів крові здорової людини і по різниці показників встановлювали алергичну реакцію на алерген, а по висоті-ступінь сенсibilізації організму до нього.

Результати дослідження

Хворші П.І.Б.	Дата	Алерген	Хемілюмінесценція. імп/10 с		Показники реакції РГМЛ (в капілярах) (норма >0.65)
			Здорова людина	Хворий	
Щ.Л.П.	8.12.98	кобальт	510	2994	0.30-позитивна
В.Л.П.	25.11.97	нікель	665	4163	0.38-позитивна

Висновок. З представлених даних видно значну впраженість хемілюмінесцентної відповіді лімфоцитів при навантаженні алергеном, що свідчить про сенсibilізацію організму, ступінь якої підтверджується реакцією гальмування міграції лейкоцитів (РГМЛ).

Приклад 2. Дослідження функціональних показників лімфоцитів людини і тварини.

Виділяють популяцію лімфоцитів з крові вказаним вище методом. Беруть 0.05 мл клітинної зависі (суспензії) і проводять реакцію, як вказано вище. Як індикатор використовують добавки - мітоген (ФГА), теофілін та ін.

Результати дослідження , які характеризують різні сторони функціональної о с і ану цієї клітинної популяції.

Хворий П.Б.І.	Дата	Індикатор	Показники ХЛ-відповіді, імп^Юс	Показники реакції РГМЛ по ФГА (норма до 0.65)
Ф.Ы.П.	25.11.97	Фітогемаглютніппн	6106	0.31 - в нормі
К.В.М.	20.11.97		8379	0.27 - підвищено
Б.Т.Н.	28.11.97	- " -	1152	0.75 - знижена
С.А.В. R.O.B.	2.12.97	Теофілін	3328	в нормі
	27.11.97		15639	підвищено

Висновок. Представленні дат показують різні типи хемілюмінісцентної відповіді лімфоцитів на міюген і теофілін, що свідчить про різний стан метаболічної активності клітини. При цьому ступінь чутливості лімфоцитів до мітогену переконливо підтверджується проведенням реакції РГМЛ.

Подібна залежність висоти спалаху ХЛ від функціональної активності спостерігається і при дослідженні популяції тромбоцитів, атакож еритроцитів.

Приклад 3. Дослідження активності комплементу сироватки крові шляхом реєстрації хемілюмінісцентної відповіді популяції еритроцитів барана.

Реактиви готують за методом Вавілова Л.М. та ш. (Лаб. Дело - 1984. - №12, - С. 743-775), В кювету для хемілюметра вміщують 1 мл фізіологічного розчину, а також 25 мкл еритроцитів барана, сенсibilізованих антитілами до них (гемолітична сироватка). Як індикатор беруть сироватку хворого н кількості 25 мкл, попередньо

разведеноу 1:3 фізіологічним розчином, приливають систему індукції і вимірюють хемілюмінесцентний сигнал.

Результати досліджень

Хворий, П.І.Б.	Дата	Показники ХЛ- відповіді, імї/ІОс	Показники по методу (норма 12-24) -титр
А.А.В.	І 03.12.97	2591	1:20 - в нормі
С.А.В.	03.12.97	3200	1:24-в нормі
Г.А.Д.	03.12.97	1260	1:10 - знижена

Висновок. Даний метод пригодний для визначення активності системи комплементу, що підтверджується кореляцією одержаних результатів і показниками, одержаними по методу Вавілової Л.М. і співав горів.

Таким чином, запропонована система індукції хемілюмінесценції є універсальною для всіх клітинних популяцій і служить предметом розробки цілого ряду методів ранньої дії поетики функціональних та патологічних порушень в організмі - простих, точних, швидких, специфічних, що не поіребують дорої их реактивів.