



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1681257 A1

(51)5 G 01 N 33/53

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

- (21) 4446317/14
(22) 21.06.88
(46) 30.09.91. Бюл. № 36
(71) Ужгородский государственный университет
(72) М.И. Лазорик
(53) 615.375 (088.8)
(56) Справочник по лабораторным клиническим методам исследования / Под ред. Е.А. Кост, М., 1975, с. 57-57.
(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФАГОЦИТОЗА ЛЕЙКОЦИТОВ В СОСУДИСТОМ РУСЛЕ
(57) Изобретение относится к медицине и физиологии и может быть использовано в клинической и экспериментальной работе для определения активности фагоцитоза

2

лейкоцитов в различных отделах сосудистого русла и преимущественного воздействия лечебных факторов на один из отделов этого русла. Цель изобретения – повышение точности определения фагоцитоза лейкоцитов в различных отделах сосудистого русла. Новым в предлагаемом решении является исследование комплекса показателей фагоцитоза в мазке и литре крови, определение их абсолютных величин и величины знака (+, -), разницы каждого показателя в сравниваемых отделах и суммы знаков разниц. По совокупности предложенных показателей обследуемого и контрольной группы определяют изменение активности фагоцитоза лейкоцитов в том или другом отделе сосудистого русла.

Изобретение относится к медицине и физиологии, в частности к иммунологии, и может быть использовано в клинической и экспериментальной работе для определения преимущественного воздействия лечебными факторами на один из отделов сосудистого русла.

Цель изобретения – повышение точности определения активности фагоцитоза лейкоцитов в различных отделах сосудистого русла.

Способ осуществляется следующим образом.

У обследуемого забирают субстрат из двух различных отделов сосудистого русла, один из которых условно называют первым, а другой – вторым. Например, при заборе крови из артерии и вены первым называют артериальный отдел, а вторым – венозный.

При заборе венозной крови и содержимого грудного лимфатического протока первым будет венозный отдел, а вторым – грудной лимфатический проток.

При изучении капиллярного отдела кровь забирают из мякоти пальца (капиллярная кровь КК), при исследовании венозного отдела, например, из локтевой вены (венозная кровь ВК). При изучении артериального отдела берут кровь или из артерии, или по методике акад. Казначеева В.П. Палец разогревают 30 с в водяной бане при 40°C и прокалывают кожу копьём.

Во взятых образцах крови определяют количество лейкоцитов и их отдельных форм в автоматизированных системах или пробирочным методом с подсчетом лейкоцитарной формулы. Фагоцитоз ставят по Кост и Станко. К одному капилляру Панченко све-

(19) SU (11) 1681257 A1

жеприготовленного 4%-ного раствора цитрата натрия добавляют 2 капилляра крови и 1 капилляр живой суточной культуры золотистого стафилококка, штамм 20 g, содержащих миллиард микробных тел в 1 мл. Смешивают, выдерживают в термостате 1 ч при 37°C, готовят мазки, фиксируют и красят ядерными красителями. Микроскопируют и под иммерсией подсчитывают 100 нейтрофилов. При этом считают количество лейкоцитов, фагоцитировавших кокки, и определяют фагоцитарный индекс ФИ – процент фагоцитирующих лейкоцитов. Подсчитывают количество кокков, поглощенных фагоцитирующими клетками. Путем деления количества поглощенных кокков на все подсчитанные клетки определяют фагоцитарное число ФЧ – количество поглощенных кокков одним нейтрофилом. Путем деления количества поглощенных кокков на количество фагоцитирующих клеток определяют число микробов фагоцита ЧМФ. Количество активных фагоцитов литра КАФ определяют по формуле

$$\text{КАФ} = \text{КЛ} \frac{\text{ПФ}}{100} \cdot \frac{\text{ФИ}}{100}$$

где КЛ – количество лейкоцитов в 1 л в виде $a \times 10^9/\text{л}$;

ПФ – процент фагоцитов из лейкоцитарной формулы;

ФИ – фагоцитарный индекс.

Результаты записывают в виде числа, умноженного на $10^9/\text{л}$. Например: КАФ = 3,5 $\times 10^9/\text{л}$. Этот показатель определяет абсолютное количество лейкоцитов в 1 л, участвующих в фагоцитозе.

Процент активных лейкоцитов ПАЛ 1 л определяют по формуле

$$\text{ПАЛ} = \frac{\text{КАФ}}{\text{КЛ}} \cdot 100$$

Показатель определяет ту часть лейкоцитов 1 л, которая реально участвует в фагоцитозе.

По формуле МЧ = КАФ · ЧМФ определяют то количество кокков, которые поглощаются лейкоцитами 1 л. Показатель называют микробным числом и выражают в виде числа, умноженного на $10^9/\text{л}$, например, $35 \cdot 10^9/\text{л}$.

При анализе полученных данных целесообразно использование показателя ФИ, так как он весьма относителен и используется в определении КАФ. Если его учитывать, то им пользуются 2 раза. Поэтому при анализе ФИ самостоятельно не учитывают.

Полученные показатели фагоцитоза в обоих исследуемых образцах исследуемого сравнивают с контролем и определяют снижение или повышение каждого показателя по сравнению с контролем. Затем сравнивают показатели обследуемого в обоих отделах. С этой целью из абсолютной величины показателя первого отдела вычитают абсолютную величину показателя второго отдела и определяют величину и алгебраический знак (+, -) разницы. Эта разница называется по сравниваемым отделам. При этом первый отдел указывается первым, а второй – после него, например, капиллярно-венозная разница (КВР), артериовенозная разница (АВР), артериокапиллярная разница (АКР). Разница каждого показателя имеет величину или равна нулю (отсутствует). Значение разницы по алгебраическому знаку называют плюсовым (+) или минусовым (-). Затем значение разниц суммируют и получают алгебраическую сумму, например: три плюсовых значения, одно минусовое и одно нулевое в сумме дают плюс 2. По сумме значений разниц определяют снижение или повышение активности фагоцитоза в первом или втором отделе сосудистого русла. В тех же случаях, когда имеются затруднения, следует учитывать величину разниц, в первую очередь такого наиболее обобщающего показателя как МЧ.

При повышении показателей фагоцитоза у обследуемого по сравнению с контролем и плюсовой сумме знаков определяют повышение активности фагоцитоза лейкоцитов в первом отделе, а при минусовой сумме знаков – повышение активности во втором отделе.

При снижении показателей фагоцитоза у обследуемого по сравнению с контролем и плюсовой сумме знаков определяют снижение активности во втором отделе, а при минусовой сумме знаков – снижение активности фагоцитоза лейкоцитов в первом отделе.

Способ поясняется следующими примерами.

Пример 1. Больная Х.Е.М., 48 лет. Клинический диагноз: первичный деформирующий полиостеоартроз с преимущественным поражением лучезапястных суставов; хронический спастический колит; миокардиодистрофия ХНК₀. Дата исследования 17.02.1983.

Артериальный отдел (контрольная группа в скобках) ФЧ 9,03: (3,64 ± 0,51); ЧМФ 18,43 (5,15 ± 0,33); КАФ 1,9404 · $10^9/\text{л}$ (3,64 ± 0,49 · $10^9/\text{л}$); МЧ 35,762 · $10^9/\text{л}$

($18,3672 \pm 3,1824 \cdot 10^9/\text{л}$); ПАЛ 32,3 ($48,1 \pm 2,25$).

Капиллярный отдел: ФЧ 13,49 ($3,71 \pm 0,51$); ЧМФ 22,1 ($5,06 \pm 0,33$); КАФ $2,52 \cdot 10^9/\text{л}$ ($3,65 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$); МЧ $55,919 \cdot 10^9/\text{л}$ ($19,1922 \pm 3,563 \cdot 10^9/\text{л}$); ПАЛ 37,2 ($53,3 \pm 3,45$).

Анализ результатов артериального и капиллярного отделов. В артериальном и капиллярном отделах три показателя фагоцитоза: МЧ, ФЧ, ЧМФ – достоверно выше, чем в контроле, а КАФ и ПАЛ – ниже. Это дает основание заключить, что активность фагоцитоза лейкоцитов в обоих отделах у обследованной больной выше, чем в контроле.

Из показателя 1-го отдела вычитаем соответствующий показатель 2-го отдела и получаем следующие величины артериокапиллярной разницы (АКР): ФЧ – 4,43, ЧМФ – 3,67, КАФ – $0,5796 \cdot 10^9/\text{л}$, МЧ – $30,147 \cdot 10^9/\text{л}$, ПАЛ – 4,9. Все показатели разницы имеют минусовое значение (знак "-"), сумма их равна минус 5 (-5). Следовательно, активность фагоцитоза лейкоцитов выше во втором отделе сосудистого русла.

Заключение. У больной Х.Е.М., 48 лет, страдающей первичным деформирующим полиостеоартрозом с преимущественным поражением лучезапястных суставов, хроническим спастическим колитом, миокардиодистрофией, при исследовании артериального и капиллярного отделов сосудистого русла определено повышение активности фагоцитоза лейкоцитов в капиллярном (втором) отделе сосудистого русла.

Пример 2. Больная Х.Е.М., 48 лет. Клинический диагноз: первичный деформирующий полиостеоартроз с преимущественным поражением лучезапястных суставов; хронический спастический колит; миокардиодистрофия ХНКв. Дата исследования 17.02.1983.

Капиллярный отдел: ФЧ 13,49 ($3,71 \pm 0,51$); ЧМФ 22,1 ($5,06 \pm 0,33$); КАФ $2,52 \cdot 10^9/\text{л}$; ($3,65 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$); МЧ $55,919 \cdot 10^9$ ($19,1922 \pm 3,568 \cdot 10^9/\text{л}$); ПАЛ 37,2 ($53,3 \pm 3,45$).

Венозный отдел: ФЧ 6,59 ($3,97 \pm 0,49$); ЧМФ 17,63 ($5,59 \pm 0,48$); КАФ $3,142 \cdot 10^9/\text{л}$ ($3,92 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$); МЧ $55,574 \cdot 10^9/\text{л}$ ($22,454 \pm 3,392 \cdot 10^9/\text{л}$); ПАЛ 53,4 ($55,3 \pm 3,83$).

Анализ результатов капиллярного и венозного отделов.

Три показателя (ФЧ, ЧМФ, МЧ) капиллярного и венозного отделов больной выше, а два (КАФ и ПАЛ) ниже, чем в контроле. Это дает основание заключить о повышении активности фагоцитоза в обоих отделах сосу-

дистого русла. Показатели разницы капиллярного и венозного отделов (КАР) равны: ФЧ 6,9, ЧМФ 4,47, КАФ – $0,622 \cdot 10^9/\text{л}$, МЧ $0,345 \cdot 10^9/\text{л}$, ПАЛ – 16,2. Сумма разниц ВКР равна +1 (плюс 1), что свидетельствует о высокой активности фагоцитоза лейкоцитов в первом (капиллярном) отделе сосудистого русла.

Заключение. У больной Х.Е.М., 48 лет, страдающей первичным деформирующим полиостеоартрозом с преимущественным поражением лучезапястных суставов, хроническим спастическим колитом, миокардиодистрофией, при исследовании капиллярного и венозного отделов сосудистого русла определено повышение активности фагоцитоза лейкоцитов в капиллярном отделе.

Пример 3. Больная К.А.А., 28 лет. Клинический диагноз: ревматизм, н/ф; сложный митральный порок ХНКпа. Дата обследования 5.11.1981.

Артериальный отдел: ФЧ 1,94 ($3,64 \pm 0,51$); ЧМФ 3,96 ($5,15 \pm 0,33$); КАФ $1,691 \cdot 10^9/\text{л}$ ($3,64 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$); МЧ $6,694 \cdot 10^9/\text{л}$ ($18,3672 \pm 3,1824 \cdot 10^9/\text{л}$); ПАЛ 33,8 ($48,1 \pm 2,25$).

Венозный отдел: ФЧ 1,6 ($3,97 \pm 0,49$); ЧМФ 3,33 ($5,59 \pm 0,49$); КАФ $1,579 \cdot 10^9/\text{л}$ ($3,92 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$); МЧ $2,258 \cdot 10^9/\text{л}$ ($22,258 \pm 3,393 \cdot 10^9/\text{л}$); ПАЛ 33,6 ($55,3 \pm 3,83$).

Анализ результатов артериального и венозного отделов.

Абсолютные величины всех показателей фагоцитоза в артериальном и венозном отделах сосудистого русла ниже, чем в контроле. Артериовенозная разница (АВР) равна: ФЧ 0,34; ЧМФ 0,63; КАФ $0,112 \cdot 10^9/\text{л}$; МЧ $1,433 \cdot 10^9/\text{л}$; ПАЛ 0,2. Все результаты разницы показателей плюсовые, сумма знаков разниц равна плюс 5 (+5). Следовательно, у обследованной больной активность фагоцитоза лейкоцитов снижена во втором (венозном) отделе.

Заключение: у больной К.А.А., 28 лет, страдающей ревматизмом со сложным митральным пороком с выраженной декомпенсацией сердца, при исследовании артериального и венозного отделов сосудистого русла определено снижение активности фагоцитоза лейкоцитов во втором (венозном) отделе.

Пример 4. Больной П.В.А., 41 год. Клинический диагноз: остеохондроз позвоночника с выраженным болевым синдромом; язвенная болезнь 12-перстной кишки, стадия рубцовой деформации, фаза ремиссии. Дата обследования 09.09.1987.

Артериальный отдел: ФЧ 0,88 ($3,64 \pm 0,51$); ЧМФ 3,03 ($5,15 \pm 0,33$); КАФ $0,8584 \cdot 10^9/\text{л}$ ($3,64 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$); МЧ $2,6009 \cdot 10^9/\text{л}$

($18,3672 \pm 3,1824 \cdot 10^9/\text{л}$): ПАЛ 21,5 ($48,1 \pm \pm 2,25$).

Капиллярный отдел: ФЧ 1,82 ($3,71 \pm \pm 0,51$); ЧМФ 4,55 ($5,06 \pm 0,39$); КАФ $1,0912 \cdot 10^9/\text{л}$ ($3,65 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$); МЧ $4,9649 \cdot 10^9/\text{л}$ ($19,1922 \pm 3,568 \cdot 10^9/\text{л}$), ПАЛ 17,6 ($52,3 \pm \pm 3,45$).

Анализ результатов артериального и капиллярного отделов.

Абсолютные величины показателей фагоцитоза в артериальном и капиллярном отделах сосудистого русла ниже, чем в контроле. Артериокапиллярная разница АКР равна $-0,34$, ЧМФ $-1,52$, КАФ $-0,2328 \cdot 10^9/\text{л}$, МЧ $-2,364 \cdot 10^9/\text{л}$, ПАЛ 3,9. Полученные результаты разницы имеют четыре минусовых и одно плюсовое значение, сумма равна минус 3 (-3), что свидетельствует о более низких показателях фагоцитоза в первом (артериальном) отделе.

Заключение: у больного П.В.А., страдающего остеохондрозом позвоночника с выраженным болевым синдромом, язвенной болезнью 12-перстной кишки в стадии рубцовой деформации (фаза ремиссии), при исследовании артериального и капиллярного отделов сосудистого русла определено снижение активности фагоцитоза лейкоцитов в первом (артериальном) отделе.

Для оценки эффективности и полезности предлагаемого изобретения в клинической практике на протяжении 1978–1988 годов в условиях стационара клинической больницы и санаториях ревматологического профиля (санатории "Синяк" и "Горная Тисса") обследовано 14 практически здоровых лиц, 31 больной ревматизмом и 20 больных первичным деформирующим остеохондрозом.

При сравнении результатов исследования по способу-прототипу показатели были изменены преимущественно у больных ревматизмом и только в сторону снижения. У больных первичным деформирующим остеоартрозом изученные показатели оказались измененными только у двух больных. Однако показатели прототипа не давали возможности точно оценивать степень нарушения фагоцитоза в отдельном лейкоците и лейкоцитах литра и выявлять тот отдел сосудистого русла, где активность фагоцитоза была изменена.

Таким образом, в прототипе показатели оказались измененными только у 65% больных и только в сторону снижения. Используя предлагаемый способ, удалось выявить изменение активности фагоцитоза лейкоцитов у всех 100% обследованных и их снижение или повышение. Таким образом, формально чувствительность предлагаемого способа выше на 1/3, а с учетом количественной характеристики отдельного лейкоцита и лейкоцитов литра на 100%, так как в прототипе такие характеристики отсутствуют.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ определения активности фагоцитоза лейкоцитов в сосудистом русле, включающий забор исследуемого материала, добавление к нему микробных клеток, определение фагоцитарного индекса, количества микробов в 1 фагоците, количества активных фагоцитов в 1 л исследуемого материала, микробного числа в 1 л, от л и ч а ю щ и й с я тем, что, с целью повышения точности способа путем определения фагоцитоза в различных отделах сосудистого русла, дополнительно определяют фагоцитарный индекс, количество микробов в 1 фагоците, количество активных фагоцитов в 1 л, микробное число в 1 л второго отдела, далее в обоих отделах определяют фагоцитарное число и процент активных лейкоцитов в 1 л, сравнивают величины показателей обоих отделов с соответствующими величинами показателей контрольной группы, определяют величину и знак разницы каждого показателя между сравниваемыми отделами, суммируют знаки разниц и при повышении показателей фагоцитоза обследуемого по сравнению с контролем и плюсовой сумме знаков разниц определяют повышение активности фагоцитоза лейкоцитов в первом отделе, а при минусовой сумме знаков разниц определяют повышение активности фагоцитоза лейкоцитов во втором отделе, при снижении показателей фагоцитоза обследуемого по сравнению с контролем и плюсовой сумме знаков разниц определяют снижение активности фагоцитоза лейкоцитов во втором отделе, а при минусовой сумме знаков разниц – снижение активности фагоцитоза лейкоцитов в первом отделе.