УДК 616.155.3:577.158.5-07

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ АЛЬТЕРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ ОКРАСКИ НА ПЕРОКСИДАЗУ

М. И. ЛАЗОРИК

Кафедра факультетской терапни (зав.— проф. И. А. Мельник) Ужгородского университета

В. А. Фрадкин (1963) сформулировал требования к методикам, применямым для оценки аллергизации организма: 1) высокая чувствительность, 2) безвредность для больного и возможность многократного повторения, 3) объективность при учете, 4) доступность, 5) быстрота получения ответа. По данным литературы, одним из немногих, отвечающих этим требованиям тестов, является тест аллергической альтерации лейкоцитов (лейколиз). Однако широкое применение его в лечебнопрофилактических учреждениях тормозится из-за того, что три из пяти сформулированных В. А. Фрадкиным требований в этой методике зависят от окраски лейкоцитов. Так, Петтит, Саллавен и Харт (1961) применили для оценки альтерации фазово-контрастную микроскопию; Блек (1956) — суправитальную окраску; Г. А. Кудрина и П. П. Саха-(1965) — люминесцентную микроскопию; Ю. П. Аванесов и В. Б. Гервазнева (1968) — фотографирование люминесцирующих лейкоцитов с оценкой почернения пленки на фотометре. Наиболее широкое применение получил метод окраски альтерированных клеток на гликоген по А. Л. Шабадашу (1947). Все указанные методики требуют специального оборудования, которое часто отсутствует во многих лабораториях, а окраска по А. Л. Шабадашу трудоемка, занимает много времени. Г. А. Смоленский и В. А. Князев (1969) указывают на трудность дифференциации ядра и протоплазмы при интенсивной окраске на гликоген.

Применяемые методики окраски морфологических изменений в клетке, доступных визуальной оценке, основаны на изучении нарушенного в альтерированной клетке обмена веществ (углеводного, нуклеинового и др.) и перераспределении этих веществ в клетке. Поэтому применение окраски на любое вещество, содержащееся в достаточном количестве в клетке, может в принципе дать возможность оценить степень нарушения обмена веществ в ней и, следовательно, степень альтерации (повреждения) клетки.

Исходя из этих теоретических предпосылок, мы сочли возможным применить методику определения пероксидазы (1.11.1.7) — фермента, содержащегося в достаточном количестве в клетке и принимающего участие в ее жизнедеятельности (О. В. Красовская, 1954; Д. Д. Буртянский, 1961; Э. И. Терентьева, 1968; Г. И. Златковская и Е. И. Арбузова, 1970) для оценки степени альтерации. При этом исходили из наличия простых и доступных способов цитохимического определения пероксидазы в мазках крови (Граамма, Грехема — Кнолля и др.), основанных на применении бензидиновой реакции. Окраску мазков на пероксидазу проводили по методике, описанной В. А. Алмазовым и С. И. Рябовым (1963). Окраска занимает четыре-пять минут и дает возможность получить ответ через пять-шесть минут.

Сопоставив результаты изучения мазков крови, приготовленных после контакта с аллергенами на пероксидазу, при окраске на гликоген и по Паппенгейму — Крюкову у одних и тех же людей, мы пришли к выводу о несомненном пренмуществе окраски на пероксидазу для оценки альтерации.

При микроскопии в лейкоцитах видны гранулы пероксидазы золотисто-желтого, иногда с коричневым оттенком цвета, хорошо контрастирующие с окрашенным в синий цвет ядром. По периферии клетки местами образуются морфологические изменения — выпячивания, нити, очень богатые пероксидазой. В некоторых клетках четко отмечается скопление зерен пероксидазы ближе к клеточной мембране. В ряде случаев на месте лейкоцита остаются лишь зерна пероксидазы — при полном лизисе лейкоцита. Это дает возможность учитывать результаты даже лаборанту средней квалификации. Степень разрушения лейкоцитов можно оценивать по схеме, предложенной В. А. Фрадкиным (1962).

Концентрация гранул пероксидазы около оболочки клетки говорит о высокой интенсивности обменных процессов в области клеточной мембраны — места соприкосновения аллергена с клеткой и участии пероксидазы в этих процессах.

Указанным методом нами обследованы 126 больных ревматизмом и 20 практически здоровых. У больных отмечено повышение процента поврежденных лейкоцитов как в контроле, так и с аллергенами (стрептококковым и стафилококковым).

Предлагаемая методика определения альтерации лейкоцитов является простой и доступной для широкого применения на практике.

Литература

Аванесов Ю. П., Гервазиева В. Б. Бюлл. экспер. биол., 1968, № 6, стр. 123.— Алмазов В. А., Рябов С. И. Методы функционального исследования системы крови, Л., 1963.— Буртянский Д. Д. Лабор. дело, 1961, № 3, стр. 17.— Злат-ковская Г. И., Арбузова Е. И. Педиатрия, 1970, № 8, стр. 15.— Красов-ская О. В. Бюлл. экспер. биол., 1954, № 12, стр. 30.— Кудрина Г. А., Саха-ров П. П. Журн. ушных, носовых и горловых болезней, 1965, № 3, стр. 13.— Смо-ленский Г. А., Князев В. А. Арх. патол., 1969, № 6, стр. 57.— Терентьева Е. И. Цитохимия элементов кровотворения при лейкозе, М., 1968.— Фрадкин В. А. Сов. мед., 1962, № 9, стр. 41.— Он же. Вестн. АМН СССР, 1963, т. 4, стр. 77.— Шабадаш А. Л. Извест. АН СССР, серия биол., 1947, т. 6, стр. 745.

SUMMARY

USE OF STAINING FOR PEROXIDASE IN DETERMINATION OF THE DEGREE OF ALLERGIC ALTERATION OF LEUCOCYTES

M. I. Lazorik (Uzhgorod)

Results are described of the use of staining for peroxidase with the purpose to evaluate the degree of allergic alteration of leucocytes.

The use of this staining enables to get an answer within 5—6 minutes. The results are clear-cut and easily evaluated by laboratory assistants of average qualidication.