

Укладачі: Панасюкова О. Р., канд. мед. наук.; Кадан Л. П., канд. біол. наук; Чернушенко К. Ф., чл.-кор. АМН України, д-р мед. наук, проф.; Рекалова О. М., д-р. мед. наук; Іл'єнко І. М., канд. біол. наук (НІФП).

Рецензенти:

Коржов В. І., завідувач лабораторії біохімії НІФП, д-р мед. наук, проф.;

Гавриленко Т. І., завідувач відділом імунології Національного наукового центру “Інститут кардіології ім. Н. Д. Стражеско”, д-р біол. наук, проф.

Голова профільної проблемної комісії МОЗ та АМН України: академік АМН України, д-р мед. наук, проф. Ю. І. Фещенко

Голова експертної комісії: д-р мед. наук, проф. В. М. Мельник

Відповідальний за випуск: Державна установа “Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського АМН України”, 03680, м. Київ, вул. М. Амосова, 10.

Тел. (044) 275 54 88, факс. (044) 275 21 18.

E-mail: secretar@ifp.kiev.ua

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
Державна установа
“Національний інститут фтизіатрії і пульмонології
імені Ф. Г. Яновського Академії медичних наук України”
(НІФП)

УДК: 616.233-002-36.12:011.1.001.5

Випуск із проблеми
"Фтизіатрія і пульмонологія"

ЗАТВЕРДЖЕНО
Вченою радою ДУ “Національний інститут
фтизіатрії і пульмонології
імені Ф. Г. Яновського АМН України”,
протокол № 3
від “15” березня 2011 р.

**СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНОЇ ДІАГНОСТИКИ
ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ
ЛЕГЕНЬ І БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ
(інформаційний лист)**

Тираж 80 прим.

Київ 2011

Пропонується для впровадження в практику лікувально-профілактичних закладів пульмонологічного профілю спосіб диференціальної діагностики хронічного обструктивного захворювання легень і бронхіальної астми, що розроблений та апробований в Державній установі “Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського Академії медичних наук України” і може знайти застосування в імунологічних лабораторіях закладів пульмонологічного профілю.

Бронхіальна астма (БА) і хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) являють собою широко розповсюджені хронічні обструктивні хвороби, в основі яких лежить запалення дихальних шляхів. Для ХОЗЛ характерна наявність неповністю зворотної бронхіальної обструкції, яка звичайно прогресує й пов'язана з аномальною запальною реакцією легеневої тканини на вплив шкідливих часток, газів, бактеріальне навантаження. У частини пацієнтів з БА з різних причин захворювання перебігає дуже тяжко з розвитком постійної бронхіальної обструкції й запальної реакції з рисами, характерними як для БА, так і для ХОЗЛ, що утруднює диференційну діагностику цих двох захворювань. Однією із характеристик активності лімфоцитів є інтенсивність імунофлуоресценції клітин після прикріплення люмінісцюючих моноклональних антитіл, яка залежить від кількості специфічних рецепторів на її поверхні та її афінності.

Суть способу диференціальної діагностики ХОЗЛ і БА полягає в тому, що шляхом дослідження периферичної крові хворих за допомогою моноклонального аналізу визначають інтенсивність флуоресценції в умовних одиницях (у.о.) загального пулу Т-лімфоцитів ($CD3^+$), яка є відображенням їх функціональної активності, і при значенні показника інтенсивності флуоресценції в інтервалі від 221,0 у.о. до 419,0 у.о. діагностують ХОЗЛ, а в інтервалі від 420,0 у.о. до 594 у.о. діагностують БА при нормі 598,1 у.о. і вище.

Спосіб здійснюють таким чином. У хворого беруть кров з ліктьової вени в кількості 1,0 мл у пробірки, які містять антикоагулянт гепарин у концентрації 20 од/мл. Для здійснення імунофлуоресцентного аналізу проводять підготовку біоматеріалу наступним чином: на дно пластикової пробірки вносять 10 мкл моноклональних анти- $CD3^+$ антитіл та 50 мкл крові. Протягом 3 секунд змішують зразок на вортекс-міксері та інкубують протягом 20 – 30 хвилин у темряві, при температурі 27°C. Для лізису еритроїдних елементів використовують Lysing Solution (BD, США). За стандартним протоколом аналізу даних проточної цитометрії пряме (FSC) та бокове (SSC) світлорозсіювання використовується для виділення тричасткового диференціювання популяцій клітин. Для виключення з аналізу домішок зруйнованих та загиблих клітин використовують графічне встановлення регіонів. Визначення інтенсивності флуоресценції у зеленому спектрі (FITC) – перший канал флуоресценції (FL1), та у червоному спектрі (PE) – другий канал флуоресценції (FL2), проводять у логарифмічному режимі. Чітке розділення клітинних популяцій дозволяє проводити дослідження експресії лінійних та диференційних антигенів у групах обстеження. При аналізі даних імунофлуоресценції визначають відсоток позитивних клітин та інтенсивність експресії антигенів, яку оцінюють за середнім значенням каналу флуоресценції позитивних клітин.

Запропонований спосіб є економічним за рахунок того, що виконується в рамках постановки реакції визначення рівню експресії поверхневих клітинних антигенів на $CD3^+$ Т-лімфоцитах, яка відноситься до загальноприйнятих досліджень імунного статусу, не потребує додаткових процедур щодо збору біоматеріалу та виділення окремих популяцій клітин, результат можна отримати через 1 годину.