

Секция «Фундаментальная медицина»

Методика хемилюминесцентного анализа цельной крови человека

Образцов Игорь Владимирович

Студент

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет
фундаментальной медицины, Москва, Россия*

E-mail: igor_obraztsov@bk.ru

Фагоцитарное звено иммунитета значимо для противомикробной резистентности организма. Выявление дисфункции элементов фагоцитарного звена позволяет прогнозировать исход многих заболеваний и гнойно-септических осложнений.

В литературе предложен ряд методик оценки бактерицидной активности фагоцитов, но большинство из них трудоёмки и субъективны или требуют использования сложного дорогостоящего оборудования, что исключает их использование в качестве скрининговых тестов при обследовании больших контингентов больных [3]. Авторы чаще используют метод хемилюминесцентного (ХЛ) анализа клеток крови, основанный на способности фагоцитов выделять активные формы кислорода (АФК). При этом результаты разных авторов не сопоставимы из-за отсутствия единой методологической базы и референтных значений ХЛ активности. [1, 2]

Цель исследования - разработка для клинической практики регламентированной методики анализа сверхслабого свечения фагоцитов. Для опытов с кровью 65 практически здоровых доноров и 3 пациентов ожоговой реанимации в качестве химического активатора ХЛ использовался люминол. Синтез АФК оценивался на основе как спонтанного, так и индуцированного растворимыми стимулами (N-формил-метионил-лейцил-фенилаланин - ФМЛФ и 4 β -форбол-12-миристинат-13-ацетат - ФМА) ХЛ ответа клеточной суспензии. [4]

Построенные статистические зависимости параметров ХЛ ответа клеток от времени хранения крови, разведения крови в пробе и дозы растворимого стимула позволили определить оптимальные условия пробоподготовки и предложить методику ХЛ анализа, основанную на последовательной стимуляции фагоцитов ФМА и ФМЛФ. Статистически подтверждена высокая стабильность предложенной методики, её статистическая мощность и низкая погрешность измерений. Используя методику в опытах с кровью доноров, мы получили релевантную контрольную группу для формирования базы референтных значений при диагностическом использовании хемилюминограмм, которые апробировали на пациентах с тяжёлой термической травмой. Статистически значимые различия параметров хемилюминограмм реанимационных больных и доноров контрольной группы подтверждают диагностическую ценность методики.

Литература

1. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция. // Успехи биологической химии, т. 49. – 2009. – С. 341-388.
2. Годков М.А. Хемилюминесцентный анализ нейтрофилов неразделённой крови в клинической практике. – дис. канд. мед. наук. – М. – 1998

3. Земсков В.М. и др. Изучение функционального состояния фагоцитов человека (кислородный метаболизм и подвижность клеток). // Метод. Рекомендации. – М. 1988.
4. Society for Free Radicals in Biology and Medicine [Электронный ресурс] / Obraztsov I.V. Chemiluminescence of the Whole Human Blood Phagocytes: a New Method of Measurement // Proceedings of the SFRBM's 18th Annual Meeting, 2011. — Режим доступа: <http://submissions.miracd.com/Verify/SFRBM2011/submission/temp/rad8FCF2.pdf> свободный