

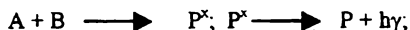
Таким образом, и метод ИФА тоже дает часто положительные результаты. Хотя гистологический метод является более специфичным и чувствительным.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА В ДИАГНОСТИКЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Курдюкова Т.Н.

Выявление специфического аллергена является одним из важных и необходимых исследований в диагностике аллергических заболеваний.

С 1992 года в ДГКМБ № 9 проводится определение специфических сенсибилизирующих аллергенов методом хемилюминесцентного анализа. Хемилюминесцентный анализ (ХЛ) основан на регистрации свечения в видимой области спектра, возникающего в ходе химических реакций, сопряженных с переходом элекстроно возбужденного продукта в основное состояние с выделением кванта света:



где: A, B – субстрат реакция;

P^x , P – продукт в возбужденном и основном состоянии соответственно;

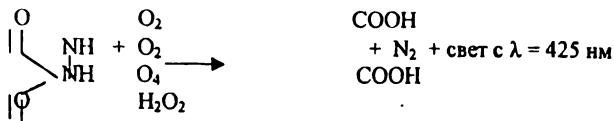
$h\nu$ - квант света.

Концентрацию анализируемого вещества определяют по светосумме ХЛ либо по скорости интенсивности излучения. ХЛ-анализ отличается высокой чувствительностью даже среди биофизических методов, не требует дорогостоящих и дефицитных реактивов, сложной аппаратуры. Более того, он открывает принципиально новые оригинальные возможности, например, определения *степени активности живых клеток*. Исследования, проводимые в лаборатории ДГКМБ № 9, выполнены на серийном хемилюминометре медицинском ПХЛ-01.

Принципы хемилюминесцентного анализа

Было отмечено, что генерация активных форм кислорода клетками сопровождается слабым свечением. Эта нативная хемилюминесценция обладает очень низкой интенсивностью и ее практически невозможно использовать для количественной оценки процесса метаболической активности клеток. Однако продукция света в суспензии клеток может быть усилена при введении такого соединения как люминол (5-амино-2, 3-дигидро-1, 4-фталазидион).

Люминол взаимодействует с активным кислородом, продуцирует большие количества света со спектральным максимумом 425 нм.



люминол + окислитель ► аминофталиевая к-та + hν

При определении специфической аллергии при atopической бронхиальной астме или лекарственной аллергии методом ХЛ удается выявить микроколичества антител к сыворотке крови больных, сенсибилизированных к тому или иному аллергену.

Методика проведения реакции

1. Готовят среду для измерения клочочной ХЛ (это солевая, без красителя, среда Хенкса с определенной концентрацией люминола).

2. Препарат исследуемых аллергенов готовят в определенной концентрации. Это могут быть разведения коммерческих пылевых, пыльцевых, бытовых аллергенов или разведения лекарственных препаратов, в концентрациях, рекомендованных для *in vitro*-тестов.

3. Выделяют мононуклеарные клетки из гепаринизированной крови больного, отмывают в растворе Хенкса и доводят до определенной концентрации ($1,5-2,0 \times 10^6$ мл). Из сыворотки того же больного формируют иммунные комплексы путем добавления, к ней определенной концентрации разведенного аллергена, инкубируют 10-18 минут при температуре 37°.

Измеряют спонтанную ХЛ. Добавляют сыворотку больного с образованным иммунным комплексом и определяют максимум интенсивности свечения активированных клеток. В качестве контроля проводят измерение ХЛ-свечения клеток того же больного при добавлении: аутологичной сыворотки без аллергена; аллергена без сыворотки; сыворотки с неспецифическим аллергеном.

В методических рекомендациях по применению ХЛ-анализа за пороговое значение ХЛ-ответа мононуклеарных клеток, активированных иммунными комплексами со специфическим аллергеном, принимают увеличение не менее чем в 6 раз, по сравнению со спонтанной ХЛ мононуклеарных клеток больного.

Рекомендации разработаны на основе исследований, проведенных среди взрослого контингента больных с atopической бронхиальной астмой. После внедрения указанной методики при обследовании детей, госпитализированных в пульмо-аллергологическое отделение, и детей, посещавших аллергологов консультативной поликлиники, практически не удалось получить увеличения ХЛ-свечения в результате активации сформированными иммунными комплексами в названное количество раз. Такое наблюдалось лишь в единичных случаях у детей старше 15 лет.

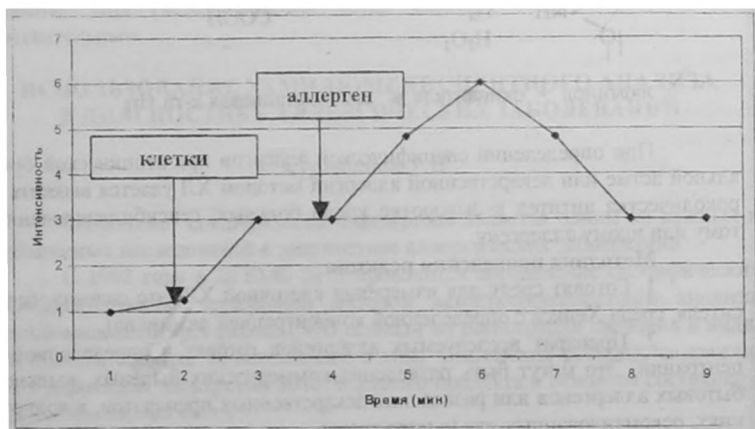


Рис. 1. Интенсивность ХЛ-свечения клеток

При сравнении результатов ХЛ-свечения, кожных скарификационных проб и других исследований, проведенных *in vitro*, были выработаны «свои» пороговые нормы увеличения ХЛ-свечения. Слабо положительным порогом (соответствующим положительной кожной пробе) было принято увеличение ХЛ-свечения в 2 раза.

За 5 лет работы мы обследовали 589 больных детей в возрасте до 3 лет; из них 312 имели атопические формы аллергических заболеваний; 277 - страдали лекарственной аллергией.

По данным ХЛ-анализа обследованные дети имели сенсibilизацию к следующим бытовым аллергенам: домашней пыли 15,2%; клещам домашней пыли 24,3%; библиотечной пыли 14,0%; пера подушки 13,3%.

Эта категория детей в 90% случаев имела аллергию к пищевым продуктам, что свидетельствует о ранней сенсibilизации к бытовым аллергенам у части детей на фоне пищевой аллергии. Указанные в таблице показатели отражены на рис. 2.

Таблица 1

| Аллергены | Возраст детей | | |
|--------------------|---------------|----------------|-----------------|
| | От 3 до 5 лет | От 5 до 10 лет | От 10 до 14 лет |
| Домашняя пыль | 30,0 | 35,0 | 42,0 |
| Клещ домашней пыли | 31,0 | 48,3 | 50,0 |
| Библиотечная пыль | 13,0 | 16,0 | 26,9 |
| Перо подушек | 27,0 | 27,0 | 35,0 |

Увеличения выраженности аллергического ответа в зависимости от возраста по силе хемилюминесцентного свечения у наблюдаемых детей выявить не удалось. т.е. во всех возрастных группах наблюдалась сенсibilизация, оцениваемая на +, ++. Очень редко увеличение ХЛ-свечения было в 3 и более раз.

При исследовании методом ХЛ проб у детей лекарственной аллергией достоверной разницы в частоте сенсibilизации к определенным лекарственным аллергенам у различных возрастных групп больных выявить не удалось.

Среди множества лекарственных веществ, исследуемых методом ХЛМ, высокая сенсibilизация у обследуемых детей наблюдалась к следующим препаратам.

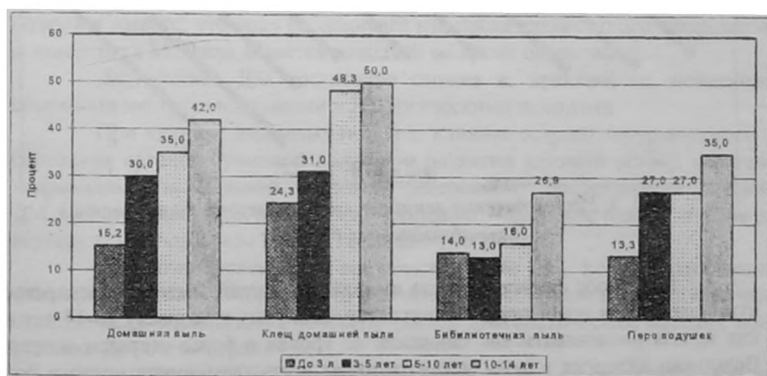


Рис. 2. Распределение больных, имеющих сенсibilизацию к домашней пыли, по возрасту

Таблица 2

Лекарственные препараты, к которым обнаружена аллергия у обследуемых больных

| Аллерген | Возраст детей | |
|--|---------------|----------------|
| | До 10 лет | С 10 до 14 лет |
| Новокаин | 41,0% | 32,0% |
| Пенициллин | 41,0% | 38,0% |
| Ампициллин | 35,0% | 31,0% |
| Анальгин | 38,0% | 45,0% |
| Бисептол | 21,0% | 46,0% |
| Тиагин бромид (Вит. В ₁) | 26,0% | 25,0% |
| Пиридоксина гидрохлорид (Вит. В ₆) | 31,0% | 57,0% |
| Аскорбиновая кислота | 18,0% | 14,0% |

Еще более наглядно представлено распространённость лекарственной аллергии у наблюдаемых детей на рис. 3.

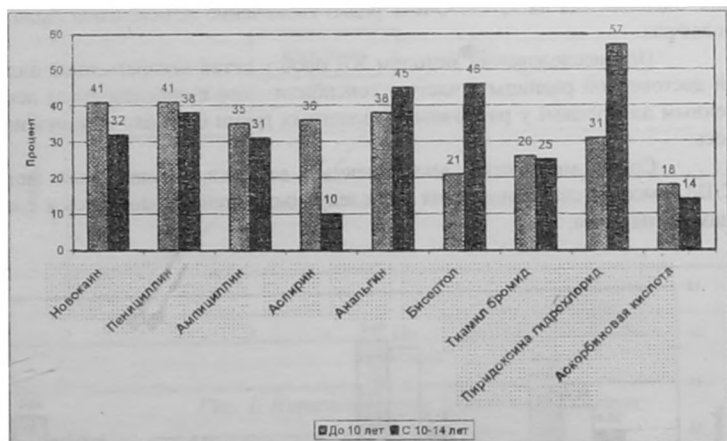


Рис. 3. Распределение лекарственной аллергии по возрасту наблюдаемых больных

Некоторое снижение числа выявленных детей, имеющих лекарственную аллергию к новокаину, пенициллину, аспирину, к возрасту 10-14 лет никак нельзя расценивать как снижение ее уровня в более старшем возрасте. Возможно аллергия к этим лекарственным веществам имела место в более раннем возрасте, но аллергические пробы этим детям еще не проводились.

В своей лабораторной практике мы отказались от ранее используемых методик для диагностики лекарственной аллергии таких как лейколизис, тест Шелли, так как ХЛ-анализ является, по нашему мнению, наиболее чувствительным и достоверным, чем ранее применяемые.

РАДИОИЗОТОПНАЯ СПИНТИГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ЭКТОПИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ

Киселева Т.С., Полежаева О.П., Сарафанов В.В.

Дивертикул подвздошной кишки встречается с частотой около 2%. Изолированный дивертикул Меккеля может протекать бессимптомно. В дивертикуле может находиться гетеротопическая ткань чаще всего это ткань желудка (80%), реже ткань поджелудочной железы (2-6%).