

УДК: 611. 23, 612. 2

ИММУНО-ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НАЗАЛЬНО-АССОЦИИРОВАННОЙ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ (НАЛТ)

Осин А.Я., Климкина Т.Н., Осина Т.Д.

*ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет»
Минздрава РФ, ГОУ ВПО «Дальневосточный государственный университет»
Минобразования РФ*

В настоящей работе представлены авторские иммуно - цитологические методики исследования назально - ассоциированной лимфоидной ткани (НАЛТ), позволяющие судить о состоянии местной клеточной защиты (МКЗ). В объем исследований были включены способы цитологического анализа НАЛТ, определения эпителиально - лимфоцитарного соотношения, идентификации популяций лимфоцитов, оценки степени генерации лимфоцитов, репродукции клеток, взаимодействия эпителиальных М- клеток и лимфоцитов, макрофагов и лимфоцитов в цитограммах НАЛТ. Описанные методики имеют ряд преимуществ перед существующими аналогами и могут быть эффективно использованы в клинической и лабораторной практике.

Актуальность. В настоящее время уделяется значительное внимание учёных различным областям науки проблемам местного иммунитета. Наряду с центральными органами иммунитета в иммунном ответе участвуют периферические представительства специфической защиты. Местный иммунитет верхних дыхательных путей обеспечивает НАЛТ, представленная группой миндалин. Для исследования их существуют различные методы, которые не лишены недостатков и требуют дальнейшего совершенствования [1,5,6].

Цель нашего исследования состояла в разработке способов иммуно-цитологических исследований НАЛТ в клинических условиях и определении возможностей использования их для оценки состояния местной клеточной защиты верхних дыхательных путей в норме и при патологии.

Объем исследований. Для достижения поставленной цели нами были проведены комплексные иммуно-цитологические исследования НАЛТ, у 1850 детей в возрасте от 1 месяца до 15 лет в течение 1995 – 2004 гг., результатом которых явилась разработка описанных ниже технологий. В общих цитограммах определялось относительное содержание эпителиоцитов (Эц), эозинофилов (Э), нейтрофилов (Н), лимфоцитов (ЛФ), плазмоцитов (Пц), макрофагов (МФ) и эпителиально-лейкоцитарное соотношение (Эц/Лц). Лимфоцитограмма изучалась по содержанию бластных клеток (Бл. К), больших и малых лимфоцитов (БЛФ, СЛФ, МЛФ), интра- и экстрамакрофагальных лимфоцитов (ИМФЛ, ЭМФЛФ), а также по индексам генерации, мито-

зов, деструкции лимфоцитов (ИГЛФ, ИМЛФ, ИДЛФ). Эпителиоцитограмму исследовали по величинам индексов деструкции, цитолиза, вакуолизации, метаплазии и микробной колонизации эпителиоцитов (ИДЭц, ИЦЭц, ИВЭц, ИМЭц, ИМКЭц). Исследование лимфоцитограммы и эпителиоцитограммы отражало эпителиально – лимфоцитарную структуру миндалин [4].

Результаты исследований.

1. Способ иммуно- цитологического анализа НАЛТ.

Технология цитологического анализа НАЛТ усовершенствуется за счёт последующего выполнения ряда технических приёмов - определения общей клеточности биосреды, дифференцированного состава и соотношений основных клеточных элементов, качественных цитологических показателей, заключительной оценки полученных данных.

Способ осуществляется следующим образом. Подготовительная часть технологии к проведению цитологического анализа НАЛТ состоит из получения материала с поверхности миндалин, приготовления цитологических препаратов, их фиксации (в смеси Никифорова 10 мин) и окрашивания по методу Романовского – Гимзе (20 – 30 минут), проведения исследования окрашенных препаратов НАЛТ при световой микроскопии (10 × 90) под иммерсией.

Собственная часть технологии цитологического анализа НАЛТ предусматривает последовательное выполнение ряда технических приёмов:

1. Определяют общее содержание клеток (ОСК) в биосреде в зависимости от интенсивно-

сти клеточной реакции (1 усл. ед. – до 25 клеток в п/з, 2 усл. ед. – 25–50 клеток в п/з, 3 усл. ед. – 50 – 100 клеток в полях зрения и по преобладающему числу соответствующих оценок судят об общем содержании клеток (или величине цитолиза).

2. Определяют клеточный состав общей цитогаммы и проводят дифференцированный подсчёт содержания популяций клеточных элементов в относительных показателях при исследовании 100 – 200 клеток. В общих цитогаммах чаще всего определяют относительные показатели содержания Эц, Лц (Э, Н, ЛФ), Пц, МФ.

3. Вычисляют соотношение между основными популяциями клеток. Рассчитывают индекс эпителиально-лимфоцитарного соотношения (Эц/ЛФ).

4. Исследуют парциальные цитогаммы: лимфоцитогамму и эпителиоцитогамму. Парциальную лимфоцитогамму, исследуют по комплексу следующих показателей:

- по степени зрелости ЛФ в ряду основных их генераций (определение содержания макро-, мезо- и микрогенераций и / или Бл.К, БЛФ, СЛФ, МЛФ в %, расчёт ИГЛФ);

- по локализации ЛФ относительно клеток эпителиального покрова (определение содержания ИЭЛФ, ЭЭЛФ, расчёт ИЭЛФ/ЭЭЛФ);

- путём идентификации основных популяций Лф (Т-ЛФ, В-ЛФ, О-ЛФ, Т-/В – ЛФ);

- по митотической активности или пролиферации Лф (расчёт ИМЛФ);

- по степени повреждения (альтерации) ЛФ (расчёт ИДЛФ и СПДЛФ).

На основании полученных результатов цитологических исследований представляется возможным прижизненно оценить состояние процессов повреждения (альтерации), созревания (генерации), эпителиального транспорта, митоза (цитопродукции), дифференцировки популяций Лф.

Парциальную эпителиоцитогамму исследуют по комплексу следующих показателей:

- по степени повреждения Эц (расчёт ИДЭц, СПДЭц, ИЦЭц),

- по степени вауолизации Эц (расчёт ИВЭц),

- по степени метаплазии Эц (расчёт ИМЭц),

- по степени и интенсивности микробной колонизации (расчёт ИМКЭц, СПМКЭц).

Полученные результаты позволяют прижизненно оценить состояние процессов повреждения (альтерации), вауолизации (вауоальной дистрофии), метаплазии, микробной колонизации Эц.

5. Оценивают результаты исследований и формулируют заключение по цитологическому анализу.

Пример 1. У ребёнка В., 5 лет, страдающего бронхиальной астмой (БА), проведено цитологическое исследование НАЛТ. Результаты реализации способа цитологического анализа представлены ниже.

Цитогамма НАЛТ ребёнка В., 5 лет. Диагноз: БА, лёгкая форма, приступный период.

1. Общее содержание клеток (ОСК) – 2,0 усл. ед.;

2. Общая цитогамма: Эц 35% (снижено), Э 1%, Н 3% (повышено), Лф 55% (повышено), Пц 3% (повышено), МФ 3%;

3. Эц/ЛФ = 0,64 (снижено);

4. Парциальные цитогаммы:

Цитогамма ЛФ: Бл.К 2% (повышено), БЛФ 9% (повышено), СЛФ 59%, МЛФ 30%, ИГЛФ 0,11 (повышено), ИЭЛФ 25% (повышено), ЭЭЛФ 75% (снижено), ИЭЛФ / ЭЭЛФ 0,33 (повышено), Т-ЛФ 32% (снижено), В-ЛФ 40%, О-ЛФ 28% (повышено), Т-/ЛФ/В-Лф 0,80 (снижено), ИМЛФ 0,10 (повышено), ИДЛФ 0,15 (повышено), СПДЛФ 0,25 (повышено).

Цитогамма Эц: ИДЭц 0,80 (повышено), СПДЭц 1,90 (повышено), ИВЭц 0,15 (повышено), ИМЭц 0,14 (повышено), ИМКЭц 0,65 (повышено), СПМКЭц 1,45 (повышено).

Заключение: ОСК повышено, в общей цитогамме – снижение Эц, повышение Н, ЛФ Пц, Эц/ЛФ- дисбаланс; в парциальной цитогамме ЛФ – активация процессов генерации, митозов, эпителиально-лимфоцитарного транспорта, Т-ЛФ - дефицит, Т-ЛФ / В-ЛФ- дисбаланс, повышение процессов повреждения; в парциальной цитогамме Эц – усиление процессов повреждения, вауолизации, метаплазии и микробной колонизации Эц.

Положительный эффект предлагаемого способа цитологического анализа НАЛТ состоит в следующем: отличается методической простотой и доступностью выполнения в ЛПУ любого типа и НИУ, высокой точностью и воспроизводимостью, характеризуется комплексным и системным подходом к исследованию НАЛТ, предусматривает унификацию и стандартизацию способа, способствует объективизации и количественной оценке полученных качественных показателей, повышает диагностические возможности способа и качество диагностики нарушений НАЛТ - системы. Точность способа – 95%, воспроизводимость – 90%.

2. Способ определения эпителиально-лимфоцитарного соотношения в цитогамме.

Определение эпителиально-лимфоцитарного соотношения проводится на основании результа-

тов цитологического исследования Эц и ЛФ в НАЛТ и количественного выражения их соотношения соответствующим индексом соотношения Эц и ЛФ (Эц/ЛФ).

Соотношение Эц и ЛФ (Эц/ЛФ) позволяет определять структурно-функциональные взаимоотношения эпителиального покрова и лимфоидной ткани. В лимфоидных органах (миндалины и др.) происходит активная миграция ЛФ в эпителиальный покров, образуя на его поверхности клеточный (эпителиально-лимфоцитарный) комплекс защиты. В результате значительного содержания ЛФ в эпителиальном покрове НАЛТ образуется своеобразный эпителиально-лимфоцитарный пласт, который рассматривается эпителиально-лимфоцитарным симбиозом. Инfiltrация эпителиального покрова лимфоцитами в НАЛТ происходит в связи с антигенным действием попадающих на их поверхность чужеродных веществ, микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности. Движение ЛФ направлено в сторону микробного, антигенного воздействия. ЛФ, мигрировавшие в эпителиальный покров, вступают в контакт с антигенами, а затем возвращаются в лимфоидную ткань и выполняют иммунологическую функцию. Следовательно, миграция лимфоцитов является ответом на антигенное воздействие [4].

Способ осуществляется следующим образом. В зависимости от характера объекта из исследуемой биосреды получают материал, готовят цитологические препараты по общепринятым правилам, фиксируют в смеси Никифорова 10 мин, окрашивают по методу Романовского – Гимзе 20 – 30 мин и проводят световую микроскопию (10 × 90) под иммерсией. Затем осуществляется цитологический анализ с подсчётом цитогаммы на 100 клеток (в %). Состояние структурно-функциональной межклеточной системы «Эц – ЛФ» оценивают величиной Эц/ЛФ, которая определяется частным от деления относительного числа Эц и ЛФ, подсчитанных в общей цитогамме (в %) НАЛТ. $ЭЦ / ЛФ = Эц(\%) : Лф(\%)$. Средние значения Эц, Лф у здоровых детей колеблются в пределах 1,0 – 2,5 (в среднем 0,5 – 2,0). Отклонения индексов соотношения Эц/ЛФ от нормы свидетельствуют о нарушениях эпителиально-лимфоцитарных взаимоотношений и о развитии эпителиально-лимфоцитарного дисбаланса в НАЛТ - системе. Повышение средних величин Эц/ЛФ свидетельствует о повышении пролиферативной активности клеток эпителия, а их снижение – об активации процессов миграции Лф на поверхности эпителиального покрова.

Пример 1. У ребёнка С., 12 лет, страдающего респираторным аллергозом, в периоде рецидива заболевания было проведено цитологическое ис-

следование НАЛТ – системы. При цитологическом анализе была получена следующая цитогамма: Эц 55 % (снижено), Э 1 %, Н 2 %, ЛФ 34 % (повышено), Пц 3 % (повышено), Мф 5 %; Эц/ЛФ – 1,62. Заключение: величина Эц/ЛФ резко снижена (в 1,5 раза по сравнению с нормой), что свидетельствует об активации лимфоидного звена НАЛТ (усиление миграции ЛФ в клетки эпителиального покрова) у обследованного больного.

3. Способ идентификации популяций лимфоцитов в цитогамме.

Идентификация популяций ЛФ (Т-, В-, О-ЛФ) в биосистемах осуществляют с помощью цитохимического метода, ранее предложенного Л. А. Ивановой, Е. В. Васильевой, В. В. Соколовым (1979) для исследования популяций Лф в периферической крови, путём выявления активности кислой фосфатазы (КФ). По характеру распределения химического продукта в клетках косвенно судят об их принадлежности к той или иной популяции [2].

Сущность способа заключается в следующем. Вначале получают материал различных локусов для цитологического исследования и готовят цитологические препараты на предметных стеклах. В последующем в препаратах НАЛТ проводят цитохимическую реакцию на определение активности КФ в ЛФ методом азосочетания по Р.П. Нарцисову (1970) с использованием нафтол-AS – Вi – фосфата в качестве субстрата и азотированного парарозанилина в качестве красителя. Цитохимическая реакция протекает 2 часа [3].

При окраске цитологических препаратов на КФ выделяют три типа реакции в ЛФ:

1. единичные (1-4, реже больше) яркие, чётко очерченные; крупные или средних размеров гранулы (Т – ЛФ);
2. множественные мелкие, нечёткие очерченные гранулы, часто на фоне диффузного окрашивания (О – ЛФ)
3. отсутствие продукта реакции на КФ, ферментоотрицательные клетки (В – ЛФ).

Содержание КФ определяют в 100 клеточных элементах и подсчитывают дифференцированное число ЛФ с разным характером цитохимической реакции: Т – ЛФ, В – ЛФ, О – ЛФ и соотношение Т – ЛФ/ В- ЛФ.

Пример 1. У больного ребёнка Т., 5 лет, из группы риска по развитию БА были проведены исследования цитологических препаратов НАЛТ с целью идентификации популяций Лф. Цитологические препараты были окрашены по методу азосочетания для выявления активности КФ в ЛФ. При цитологическом анализе установлено следующее: Т – ЛФ 42 %, В – ЛФ 42 %, О – ЛФ 16

%, Т – ЛФ/ В- ЛФ-1,0. Заключение: содержание популяций Лф и их соотношение соответствует норме.

Пример 2. У ребёнка С., 10 лет, страдающего тяжёлой формой БА, при исследовании НАЛТ была проведена идентификация популяций Лф. При этом было установлено следующее: Т - ЛФ 29 %, В – ЛФ 42 %, О – ЛФ 21 %, Т-ЛФ/ В-ЛФ 0,58. Заключение : нарушение Т – клеточного звена иммунитета (снижение числа Т – ЛФ) и дисбаланс основных популяций (Т - ЛФ рабочего времени на выполнение данной технологии в 3-4 раза, доступность выполнения в широкой сети ЛПУ, не требуется специальной иммунологической лаборатории и подготовленных специалистов, значительное упрощение технологии идентификации ЛФ значительное сокращение затрат дорогостоящих материально - технических средств, расширение диагностических возможностей и возможностей выявления дефектов клеточных звеньев иммунитета, повышение качества лечебно-диагностической помощи пациентам с нарушениями систем местной защиты.

4. Способ оценки степени генерации лимфоцитов в цитограмме.

Оценка степени генерации (созревания) ЛФ проводится на основании результатов цитологического исследования биосред НАЛТ путём подсчёта различных генераций ЛФ (Бл, К, БЛФ, СЛФ, МЛФ) в % и вычисления соответствующего индекса генерации ЛФ (ИГЛФ) и его оценки.

Способ осуществляется следующим образом. Получают материал для исследования, готовят цитологические препараты по общепринятым правилам, фиксируют их в смеси Никифорова (0 мин) и окрашивают методом Романовского-Гимзе (20 -30 мин), проводят исследование цитологических препаратов при помощи световой микроскопии (10 × 90) под иммерсией. В процессе цитологического анализа подсчитывают 100 ЛФ разных генераций. Сущность технологии заключается в дифференцированном подсчёте генераций ЛФ (ИГЛФ). В лимфоцитогамме по степени зрелости клеточных элементов выделяют бластные клетки (Бл.К), большие, средние и малые ЛФ(БЛФ, СЛФ, МЛФ). В этом случае Бл.К и БЛФ отождествляют с макрогенерациями ЛФ, СЛФ – с мезогенерациями и МЛФ – с микрогенерациями ЛФ. Бл.К соответствуют полибластам с полипотентной ориентацией дифференцировки, БЛФ – лимфобластам, СЛФ – пролимфоцитам и МЛФ– зрелым Лф. Для расчёта ИГЛФ используют следующую формулу: $(Бл. К + БЛФ) : (СЛФ + МЛФ)$, в которой числитель представлен суммой малодифференцированных клеточных элементов (БЛ.К + БЛФ), а знаменатель – суммой зрелых форм ЛФ (СЛФ + МЛФ).

Величины ИГЛФ в норме могут колебаться от 0,05 до 0,15 (в среднем 0,10). Увеличение ИГЛФ свидетельствует о сдвиге в сторону созревающих (малодифференцированных) клеток (Бл.К, БЛФ), а снижение ИГЛФ указывает на преобладание зрелых форм ЛФ (СЛФ, МЛФ). Следовательно, значения ИГЛФ указывает на преобладание зрелых форм ЛФ: чем выше величины ИГЛФ - тем меньше степень зрелости ЛФ. ИГЛФ позволяет судить о характере и интенсивности процессов генерации клеточных элементов.

Пример 1. У ребёнка Т., 12 лет, перенёвшего острую пневмонию, в периоде реконвалесценции провели цитологическое исследование НАЛТ. При проведении цитологического анализа было установлено следующее: Бл.К. - 1%, БЛФ- 9%, СЛФ- 50%, МЛФ- 40 %, ИГЛФ = 0,11 (норма 0,05). Заключение: изменения в лимфоцитогамме связаны с увеличением содержания малодифференцированных клеток (Бл. К., БЛФ, СЛФ) и уменьшением количества зрелых ЛФ – МЛФ, повышением значений ИГЛФ в 2,0 раза. Полученные данные указывают на активацию процессов генерации ЛФ в НАЛТ.

Положительный эффект предлагаемого способа оценки степени генерации ЛФ в цитологических препаратах состоит в следующем: методическая простота и доступность выполнения в ЛПУ всех типов, атравматичность и безопасность для обследованных больных, высокая точность и информативность способа, возможность количественной и интегральной оценки процессов созревания ЛФ, расширение диагностических возможностей цитологических исследований и повышение качества лечебно-диагностического процесса и цитологических исследований. Точность способа – 92 % и воспроизводимость способа – 90.

5. Способ оценки репродукции клеток (цитопродукции) в цитограмме.

Оценка репродуктивной функции клеток проводится на основании результатов цитологического исследования биосред путём подсчёта числа клеток, содержащих картины митозов в %, вычисления индекса митоза клеток (ИМК) и их оценки.

Репродуктивная функция клеток в цитологии исследуется по митотической их активности. Митоз, как наиболее распространённый способ репродукции клеток обеспечивает возможность образования генетически равноценных клеток и сохраняет преемственность хромосом в ряду клеточных генераций. Это достигается сочетанием процессов идентичной редупликации хромосом и их равномерным распределением между дочерними клетками. При цитологическом исследовании определяют процесс митоза в клетке

на разных его стадиях. Чаще всего выделяют 4 стадии собственного процесса митоза:

1. профазу – стадию формирования хромосом и расхождения центриолей,
2. метафазу – стадию перемещения хромосом и экваториальной плоскости делящейся клетки и формирования «материнской звезды»,
3. анафазу – стадию расхождения хромосом к полюсам, формирования 2-х групп хромосом и образования фигуры «дочерних звёзд»,
4. телефазу – заключительная стадия митоза, стадия реконструкции (формирования) дочерних ядер из групп хромосом и разделения тела на 2 части.

В период интерфазы (между процессами митозов) определяются процессы дифференцировки, роста и функционирования клеток, а стадии митозов не определяются [4].

Способ осуществляется следующим образом. Вначале получают материал для исследования, готовят цитологические препараты по общепринятым правилам, фиксируют их в смеси Никифорова (10 мин) и окрашивают методом Романовского – Гимзе (20–30 мин), проводят исследование цитологических препаратов при световой микроскопии (10 × 90) под иммерсией. Количественная оценка цитопродукции осуществляется по степени митотической активности клеток. Для этого используется индекс митозов клеток (ИМК), который вычисляют по следующей формуле:

$$\text{ИМК} = \frac{n \text{ митоз}}{n \text{ митоз} + n^0}$$

При расчёте ИМК определяют число клеток с фигурами митоза (n митоз) и количество точных элементов, не содержащих фигур митоза (n⁰). Теоретически величины ИМК могут колебаться в пределах 0,01 – 0,05. Величина ИМК находится в прямой зависимости от митотической активности клеток. Высокие значения ИМК указывают на повышение митотической активности ЛФ и активацию процессов пролиферации лимфоидной ткани.

Пример 1. В результате окончания лечения ребёнка Т., 10 лет, больного БА, было проведено цитологическое исследование НАЛТ. При этом было установлено следующее. Число ЛФ с фигурами митозов – 8 % (n митоз), число ЛФ без картин митозов (интерфаза) – 92 % (n⁰). ИМЛФ = 8: (8 + 92) = 0,08. Заключение: в результате проведенного лечения в НАЛТ – системе определяется усиленная (в 2-3 раза) цитопродукция лимфоидной ткани.

Положительный эффект предлагаемого способа оценки репродуктивной функции клеток в

цитологических препаратах различных биосистем состоит в следующем: методическая простота и доступность выполнения в ЛПУ любого типа, атравматичность и безопасность для обследования больных, высокая токсичность и информативность способа, возможность количественной и интегральной оценки процессов цитопродукции, расширение диагностических возможностей цитологических исследований и повышение информативной их ценности, объективизация полученных данных, возможность сравнения результатов исследования, повышение качества лечебно-диагностического процесса и цитологических исследований. Точность способа составляет 90 %, воспроизводимость способа – 98 %.

5. Способ оценки взаимодействия эпителиальных М-клеток и лимфоцитов в цитограмме.

Оценка взаимодействия эпителиальных М-клеток и ЛФ проводится на основании результатов цитологического исследования биосред путём подсчёта количества эпителиальных М-клеток, соответствующего числа интра- и экстраэпителиальных ЛФ (ИЭЛФ, ЭЭЛФ) в % и вычисления соотношения ИЭЛФ/ ЭЭЛФ и его оценки.

Взаимодействие эпителиальных М-клеток и ЛФ определяется на основании оценки образования эпителиальных М-клеток и интраэпителиальной локализации ЛФ в структурах лимфоидной ткани. Мукозальный эпителий является псевдомногослойным или однослойным, его клетки очень плотно соединены между собой. В слизистой оболочке существует 3 типа клеток, взаимодействующих с антигеном: альвеолярные макрофаги (АМ), дендритные клетки и микроворсинчатые эпителиальные клетки или М-клетки находятся в эпителии над лимфоидной тканью [7,8].

Эпителиальные М-клетки транспортируют антиген с поверхности слизистой оболочки в подлежащую лимфоидную ткань. М-клетки не обрабатывают антиген (лизосомальная система не принимается во внимание) и не представляют его. М-клетки захватывают ЛФ путём эндоцитоза (эндоцитобиоза), изолируют их от экзо- и эндогенных влияний в различных слоях слизистой оболочки. Следует полагать, что именно клетки эпителия (М-клетки) служат локусом взаимодействия антигенного материала и лимфоидных клеток. Эпителиальные М-клетки заключают в себе ЛФ, которые инфильтрируют эпителиальный покров (интраэпителиальные ЛФ – ИЭЛФ). В конечном итоге эпителиальные М-клетки и ИЭЛФ составляют структурно-функциональную основу местной защитно-транспортной системы клеток в лимфоидной ткани [7,8].

Способ осуществляется следующим образом. Вначале получают биологический материал для цитологического исследования, готовят цитологические препараты, фиксируют их в смеси Никифорова (10 мин) и окрашивают методом Романовского - Гимзе (20 – 30 мин), проводят световую микроскопию под иммерсией. Собственная часть технологии цитологического анализа включает определение числа интраэпителиальных и экстраэпителиальных ЛФ (ИЭЛФ и ЭЭЛФ) и расчёт индекса соотношения ЛФ интраэпителиальной и экстраэпителиальной локализации (ИЭЛФ/ЭЭЛФ). Средняя величина ИЭЛФ/ ЭЭЛФ в норме у детей чаще составляет 0,15 – 0,30. Величины содержания ИЭЛФ (12,8 – 22,5 %) и значения ИЭЛФ. ЭЭЛФ находятся в прямой зависимости от степени активности процессов кооперации клеточных элементов (Эц – ЛФ).

Пример 1. У ребёнка К., 5 лет, в разгар ОРЗ было проведено цитологическое исследование НАЛТ - системы. При этом было установлено следующее. ИЭЛФ – 16 % (повышено), ЭЭЛФ – 84% (понижено), ИЭЛФ/ ЭЭЛФ = 0,19. Заключение: в НАЛТ – системе была выявлена активация процессов кооперации эпителиальных М-клеток и ЛФ с повышением количества ИЭЛФ и величины ИЭЛФ/ ЭЭЛФ.

Положительный эффект предлагаемого способа оценки взаимодействия эпителиальных М-клеток и ЛФ в цитологических препаратах различных биосистем состоит в следующем: высокая токсичность и информативность способа, методическая простота и доступность выполнения в ЛПУ любого типа, атравматичность и безопасность для обследованных пациентов, возможность количественной и интегральной оценки процессов кооперации эпителиальных М-клеток и ЛФ, расширение диагностических возможностей цитологических исследований и повышение информативной их ценности, объективизация полученных данных, возможность сопоставления результатов исследования и их сравнения, повышение качества цитологической диагностики в лечебно-диагностическом процессе ЛПУ. Точность способа достигает 92%, воспроизводимость способа – 96%.

6. Способ оценки взаимодействия макрофагов и лимфоцитов в цитограмме.

Оценка взаимодействия МФ и ЛФ проводится на основании результатов цитологического исследования биосред путём подсчёта количества МФ и соответствующего числа интрамакрофагальных (ИМФЛФ) и экстрамакрофагальных (ЭМФЛФ) ЛФ в % и вычисления соотношения ИМФЛФ/ ЭМФЛФ и его оценки.

Способ осуществляется следующим образом. Вначале получают материал для цитологического исследования, готовят цитологические препараты, фиксируют их в смеси Никифорова (10 мин) и окрашивают методом Романовского-Гимзе (20 –30 мин), проводят световую микроскопию (10 × 90) под иммерсией. Затем определяют число интра- и экстрамакрофагальных ЛФ(ИМФЛФ и ЭМФЛФ) в % и рассчитывают индекс соотношения ЛФ интра- и экстрамакрофагальной локализации (ИМФЛФ/ ЭМФЛФ). Проводится подсчёт на 100 ЛФ равной локализации. Средняя величина ИМФЛФ/ ЭМФЛФ в норме у детей чаще составляет 0 – 0,05. Величины содержания ИМФЛФ/ ЭМФЛФ находятся в прямой зависимости от активности системы кооперации клеточных элементов (МФ – ЛФ).

Пример 1. Цитологическое исследование НАЛТ было проведено у ребёнка Т., 14 лет, с диагнозом: рецидивирующий обструктивный бронхит, межрецидивный период. При цитологическом исследовании было получено следующее: ИМФЛФ – 8%, ЭМФЛФ- 92 %, ИМФЛФ/ ЭМФЛФ – 0,09. Заключение: в системе НАЛТ была выявлена активация процессов кооперации АМ и ЛФ с повышением количества ИМФЛФ и величины ИМФЛФ/ ЭМФЛФ.

Преимущества и положительные эффекты предлагаемого способа оценки взаимодействия МФ и ЛФ в цитологических препаратах различных биосистем заключается в следующем: высокая токсичность чувствительность и информативность способа, методическая простота и доступность выполнения в ЛПУ любого типа, атравматичность и безопасность для обследования пациентов, возможность количественной и интегральной оценки процессов кооперации МФ и ЛФ, расширение диагностических возможностей, цитологических исследований и повышение информативной их ценности. Объективизация полученных данных, возможность сопоставления результатов исследования и их сравнения, повышение качества цитологической диагностики в лечебно – диагностическом процессе ЛПУ. Точность способа достигает 90 %, воспроизводимость способа - 95 %.

Таким образом, проведённые исследования позволили разработать комплекс иммуноцитологических способов оценки структурно-функционального состояния НАЛТ в норме и при патологии. Показанные преимущества способов перед аналогами позволяют рекомендовать их к применению в лабораторной и клинической практике, в научно - исследовательской деятельности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Завгородняя Е.Г., Ловпаче З.Н. Эффективность метода прижизненной оценки функционального состояния небных миндалин человека //Вестник оториноларингологии. – 1990. - № 3. – С. 27 – 29
2. Иванова Л.А., Васильева Е.В., Соколов В.В. Идентификация В-, Т-, и « нулевых» лимфоцитов окраской на кислую фосфатазу //Лабораторное дело. – 1979. - № 10. – С. 593 – 596.
3. Нарциссов Р.П. Цитохимия ферментов лейкоцитов в педиатрии: Дисс....докт .мед. наук. – М., 1970. – 360 с.
4. Осин А.Я. Местные факторы защиты в патогенезе и первичной профилактике бронхиальной астмы у детей: Автореф. Дисс....докт. мед. наук. – Томск, 2000. – 46 с .
5. Пчельников Ю.В., Шабашов К.С. Популяции и субпопуляции лимфоцитов в миндалинах //Журнал ушных, носовых и горловых болезней. – 1982. - № 4. – С. 5 – 9.
6. Сапин М.Р., Этингер Л.Е. Иммунная система человека. – М.: Медицина, 1996. – 304 с.
7. Lefraicois L. Basic aspects in intraepithelial lymphocyte immunobiology //In Handbook of Mucosal Immunology / eds by Ogra et al. – New York : Academic Press, 1994 . – P. 287 – 297.
8. Sminia T. A review of mucosal immune system : development structure and function of the upper and lower respiratory tract. – Europ. Respiration Revue. – 1995. – Vol. 6. - № 35. – P. 136 –141.

IMMUNE -CITOLOGICAL EXPLORATIJNS OF A NOZAL – ASSOTIATIVE LIMPHA SKIN

Osina A.Y., Klimkina T.N., Osina T.D.

The author ^s imynotsetology methodize of search a nazallimfoid tissue which let to think about the condition of the local cell protection aver represented in this work. The methodizes which aver described here have a number of advantages before the analogs which aver existed and can be used effectively in clinical and lab practice.