

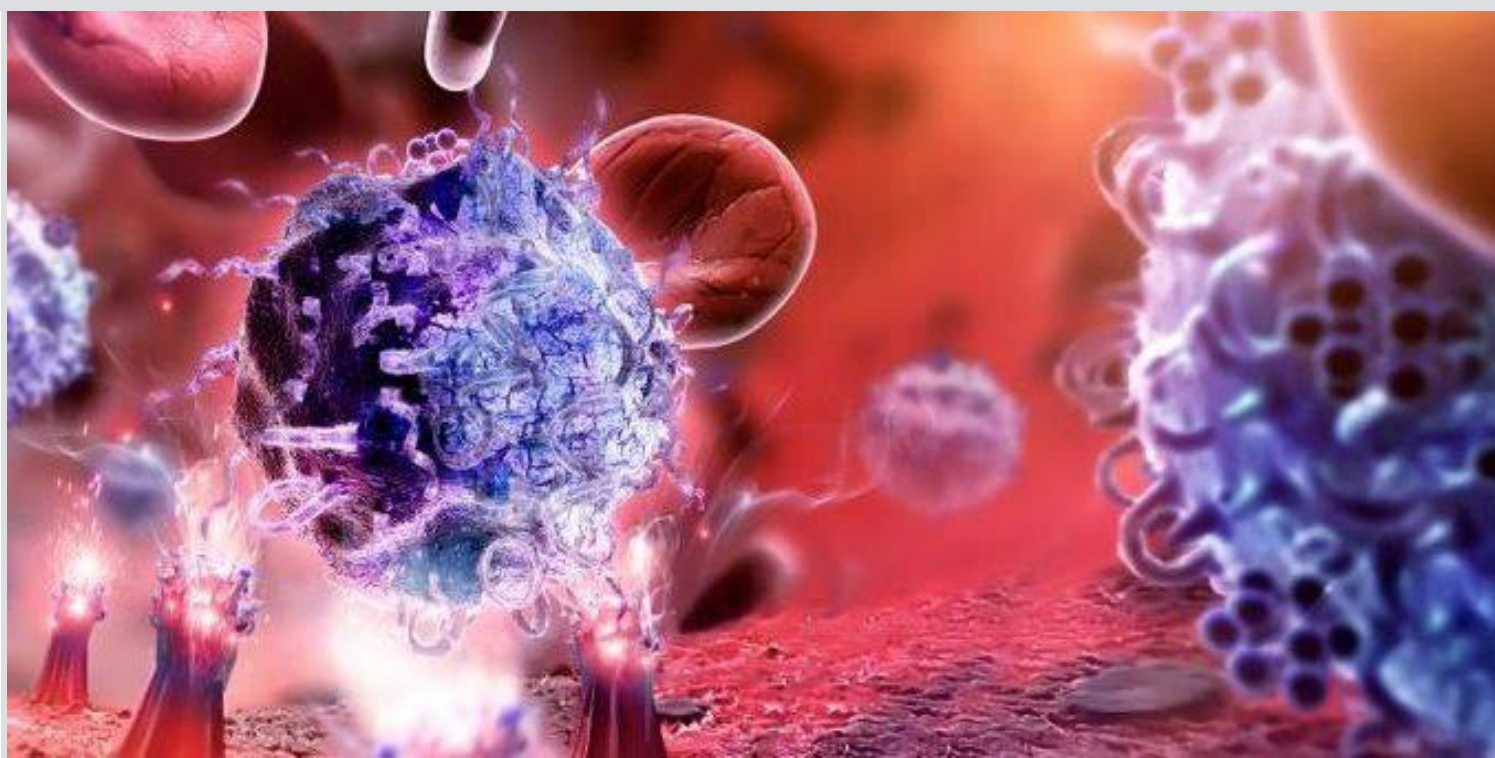


Кафедра мікробіології, вірусології та імунології



Дисципліна «Клінічна імунологія та алергологія»,
спеціальність Технології медичної діагностики та лікування

ТЕМА ЛЕКЦІЇ «Діагностика порушень функціонального стану імунної системи»



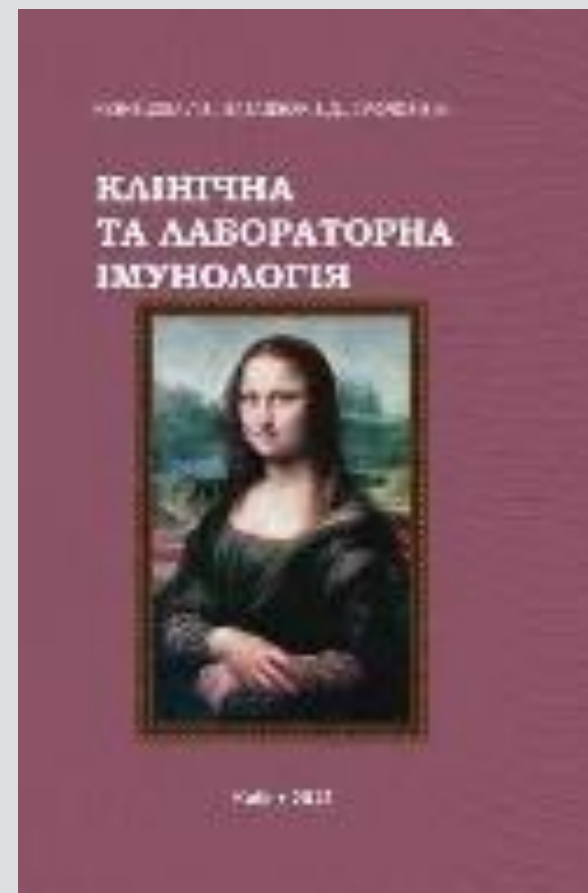
*Морозенко Дмитро Володимирович
доктор ветеринарних наук, доцент кафедри*

ПЛАН ЛЕКЦІЇ

1. Імунограма та клінічні показання до її проведення.
2. Методи дослідження імунологічних показників.
3. Імунологічні маркери та їх клініко-діагностичне значення.



СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ



- Імунологія: учебник. Кузнецова Л.В., Бабаджян В.Д., Харченко Н.В. Вінниця, 2013. 565 с. <https://nmapo.edu.ua/images/FakTer/KafKlimAle/Imunologiy.pdf>
- Клінічна імунологія та алергологія: посібник для практичних занять. В.В. Чоп'як, Г.О. Потьомкіна, А.М. Гаврилюк. Медицина, 2017. 224 с.
- Клінічна та лабораторна імунологія. Кузнецова Л.В., Бабаджан В.Д., Фролов В.М. Киев, Полиграф-плюс, 2012. 992 с. <https://nmapo.edu.ua/images/FakTer/KafKlimAle/KlinihLaborImunolog.pdf>
- Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. Електронний журнал для лікарів-практиків. Виходить 8 разів на рік. <https://kiai.com.ua>

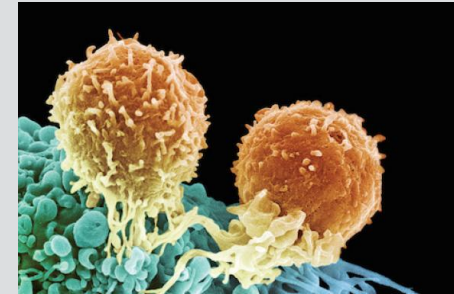
Імунограма – лабораторне дослідження крові, яке дозволяє оцінити стан імунної системи за відповідними показниками. Імунограма є комплексним дослідженням, яке має оцінювати імунний статус пацієнта.

Діагностичні лабораторії сьогодні пропонують для виконання **комплексне імунологічне обстеження**, яке включає в себе перелік показників, що характеризують клітинні та гуморальні маркери стану імунної системи





Клінічні показання для проведення імунологічного обстеження



1. Інфекційні хвороби з хронічним перебігом;
2. Підозра на присутність генетично обумовлених дефектів імунної системи;
3. Аутоімунні та алергічні захворювання;
4. Підозра на синдром набутого імунодефіциту (СНІД);
5. Злоякісні новоутворення;
6. Обстеження реципієнтів до та після трансплантації органів;
7. Обстеження пацієнтів перед важкими оперативними втручаннями та ускладнений перебіг післяопераційного періоду.
8. Проведення цитостатичної, імунодепресивної та імуномодуючої терапії.

В клінічній медицині виділяють три види патології імунної системи:

**імунодефіцитні стани,
алергічні реакції
аутоалергічні (аутоімунні) процеси.**

Всі три види патологічних порушень імунної системи потребують оцінки за допомогою клініко-імунологічних показників, які характеризують імунний статус.

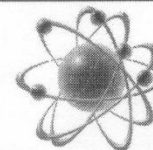
Використання різних імунологічних тестів для обстеження пацієнтів визначається лікарем, проте вважається, що для найбільш повної та комплексної оцінки імунного статусу необхідно проводити саме комплексне імунологічне обстеження.

Суворого переліку діагностичних показників, які мають входити до імунограми, не існує.

Поділ на тести першого рівня та другого рівня хоча й має право на життя, проте вважається застарілим завдяки стрімкому розвитку технологічних можливостей ☺

Бланк імунологічного дослідження, який застосовується у сучасній лабораторії

Міністерство охорони здоров'я України
Ліцензія МЗ України серія
АЕ № 460146 от 22.05.2014р.
Свідоцтво про атестацію
№100-298/2015 від 20.11.2015р.



Код форми за ЗКУД | | | | | | | | | |
Код закладу за ЄДРПУ | 3 | 4 | 6 | 2 | 9 | 7 | 9 | 3 |
МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ
ФОРМА № | 2 | 2 | 8 | / | 0 | | |
Затверджена наказом МОЗ України
| 0 | 4 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | р. | № | | 1 | |

Лабораторний аналіз №10131022

Пациент: проб а
Направляющий врач:
Дата направления: 04.09.2018 13:28:08
Примечание исполнителя:

Пол: Не определен
Место забора:

Показатель	Ед. изм.	Результат	Норма
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ			
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ			
Лейкоциты	10 ⁹ /л		4,0 - 8,8*10 ⁹ /л
Лимфоциты (%)	%		19 - 37 %
Лимфоциты (абс)	10 ⁹ /л		1,2 - 3,0*10 ⁹ /л
CD3-клетки общ.(%)	%		50 - 60 %
CD3 (абс)	10 ⁹ /л		0,6 - 1,6*10 ⁹ /л
CD4 - Т хелп (%)	%		20 - 40 %
CD4 (абс)	10 ⁹ /л		0,40 - 0,8*10 ⁹ /л
CD8 - Т супр. (%)	%		12 - 20 %
CD8 (абс)	10 ⁹ /л		0,2 - 0,4*10 ⁹ /л
CD4/CD8			1,5 - 2,5
CD16 - NKклетки (%)	%		5 - 15 %
CD21 - В клетки общ. (%)	%		8 - 20 %
CD21 (абс)	10 ⁹ /л		0,19 - 0,38*10 ⁹ /л
О - клетки (%)	%		24 - 36 %
О - клетки (абс)	10 ⁹ /л		0,4 - 0,8*10 ⁹ /л
Т - активные (%)	%		32 - 41 %
Т - активные (абс)	10 ⁹ /л		0,6 - 0,850*10 ⁹ /л
ЦИК с 3,5% ПЭГ	%		До 0,06
ЦИК с 7,0% ПЭГ	%		До 0,06
Комплемент (CH50)			40 - 80
Иммуноглобулин Ig A	г/л		1,32 - 2,68 г/л
Иммуноглобулин Ig M	г/л		0,72 - 1,26 г/л
Иммуноглобулин Ig G	г/л		8,5 - 14,5 г/л
Аутоантитела	%		До 10%
Фагоцитарный индекс (ч/з 30 мин)	%		40 - 70 %
Фагоцитарное число			2 - 8
ИЗФ (индекс заверш. фаг)			
НСТ спонт. (%)	%		8 - 12 %
НСТ стим. (%)	%		40 - 80 %
Гетерофильные гемолизины	ЕД. ОП		0,6 ЕД. ОП

До лабораторних імунологічних тестів 1-го рівня відносять:

Показники Т-клітинного імунітету: кількість Т-клітин та їх субпопуляції (CD2, CD3, CD4, CD8, CD16, CD4/CD8);

Показники гуморального імунітету: кількість В-лімфоцитів та їх субпопуляції (CD19, CD20, CD22, CD24), спектр сироваткових імуноглобулінів – Ig M, Ig A та Ig G;

Оцінка фагоцитарної активності: кількість фагоцитуючих клітин, активність фагоцитозу, кисневозалежний метаболізм-НСТ-тест;

Оцінка системи комплементу: визначення фракцій комплементу та вмісту **циркулюючих імунних комплексів (ЦІК)**: маркер порушення захисної реакції імунної системи від антигенів.

До лабораторних імунологічних тестів 2-го рівня відносять:

Проліферативна здатність – реакція бластної трансформації (РБТ) на мітоген з фатогемаглютинином (ФГА), лаконосом, чи конканаваліном (КонА) та антигени;

HLA-фенотип, функцію НК-К клітин (CD16/CD56);

Цитокіновий спектр: прозапальні (IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF- α , інтерферон- γ) та протизапальні (IL-4, IL-5, IL-10 та IL-13), ростові фактори, рецептори, адгезивні молекули;

Рівень специфічних антитіл: антитіла до збудників конкретних захворювань та аутоантитіла – за аутоімунних захворювань;

Рівень специфічної клітинної сенсibiliзації;

Шкірні проби, ГСТ, ГНТ;

Виявлення активованих Т- та В-клітин (DR CD25 CD69)

Тести міграції лейкоцитів, чутливості клітин імунної системи до імуотропних препаратів.

Кожен з вищевказаних лабораторних тестів має відповідне клініко-діагностичне значення, а їх комплексна оцінка дає нам повну інформацію про **іmunний статус** пацієнта.

Іmunний статус — це сукупність кількісних і якісних ознак, які відображають стан іmunної системи людини в конкретний період часу. Іmunний статус постійно змінюється під впливом внутрішніх та зовнішніх чинників, тому його необхідно оцінювати за клінічної картиною на даний момент та **за показниками імунограми до та після лікування в динаміці.**





«Імуностимулятори – це препарати, які стимулюють в переважній більшості випадків лише появу грошей у гаманцях тих людей, які їх виробляють і продають»

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ

Основними методиками, якими користуються сучасні імунологічні лабораторії, є *проточна цитометрія (цитофлуориметрія), імуноферментний аналіз (в тому числі імуноблотинг) та полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).*

Використання цих методів можливо не лише в діагностиці імунологічних порушень та оцінці імунного статусу пацієнтів, а й в діагностиці різних захворювань.



Методи імунологічних досліджень та їх характеристика

Назва методу	Принцип методу	Імунологічні тести або захворювання
Електрофорез	Сироватка крові наноситься на агарозний гель, на який подається струм. Білки розділяються залежно від поверхневого заряду.	Імуноглобуліни
Імуноелектрофорез	Проводиться так само, як і звичайний електрофорез, але паралельно електрофоретичній смужці вирізається жолоб, який заповнюється антисироваткою, яка може дифундувати у бік розділених білків	Моноклональні імуноглобуліни (антитіла) – ті, які мають походження від одної плазматичної клітини-попередника
Імунофіксація	Антисироватка наноситься на білки, розділені методом електрофорезу, а білки, які не вступили у реакцію, змиваються перед фарбуванням білок-зв'язуючим барвником	Моноклональні імуноглобуліни

Імуноферментний аналіз (ІФА), англ. enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA	Основний принцип – реакція антиген-антитіло. Якщо антиген (молекула-мішень) являє собою білок, то його очищений препарат звичайно використовують для одержання антитіл, за допомогою яких потім і виявляють дану мішень. Раніше використовувались первинні антитіла, що були за своєю природою поліклональними. Розробка і застосування моноклональних антитіл дало змогу значно покращити специфічність імуноферментного аналізу.	Виявлення антитіла/або антигенів до збудників інфекційних та паразитарних захворювань, діагностика онкологічних процесів, визначення цитокінів, токсинів, метаболізму лікарських засобів
Імуноблотинг	Є різновидом ІФА. Проводиться електрофорез антигенів у матриці, або їх нанесення на матрицю в певних точках, потім вони інкубуються з ферментами, які вкриті антисироваткою із субстратом. Результат – утворення кольорової смуги.	Антитіла до екстрагованих ядерних антигенів, антигенів печінки, нервових клітин, гангліозидам, підтвердження діагнозу ВІЛ-інфекція

Аглютинація	На сьогодні майже не використовують, окрім скринінгового визначення ревматоїдного фактору. Антиген наноситься на частинки інертного носія (желатин або латекс), при змішуванні з сироваткою, які містять відповідні антитіла, частинки аглютинують.	Ревматоїдний фактор
Імуно-преципітація	Характеризується утворенням нерозчинних імунних комплексів, у яких антитіла взаємодіють з оптимальною концентрацією антигену.	Ревматоїдний фактор, антитіла до щитоподібної залози
Пряма імуно-флуоресценція	Тканина, одержана від пацієнта, швидко заморожується, потім з неї роблять зрізи, які далі інкубують з ФІТА-кон'югованою антисироваткою. Це дозволяє визначити у пацієнта антитіла, зв'язані з тканинами	Аутоімунні захворювання шкіри та нирок

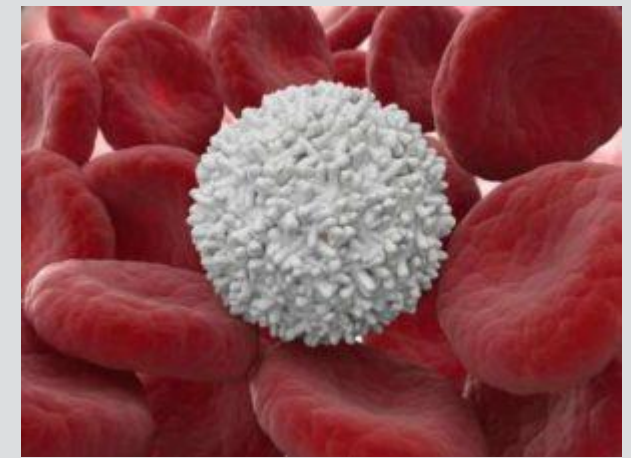
Непряма імуно-флуоресценція	Використання зрізів з тканинних блоків швидкого заморожування, які нарізають за допомогою кріостату (товщина до 4 мм), закріплюють на склі та сушать на повітрі. Скло інкубують з відповідними розведеннями контрольних та дослідних сироваток, відмивають, а потім інкубують з людською імуноглобуліновою антисироваткою, яка кон'югована із флуоресцином. Потрібен флуоресцентний мікроскоп.	Антинуклеарні антитіла, антитіла до гладенької мускулатури, антиміто-хондріальні антитіла, антиретикулінові антитіла, антитіла до рибосом, антитіла до парієтальних клітин шлунка, печінково-ниркові мікросомальні антитіла
Проточна цитометрія (цито-флуориметрія)	Проходження клітин, які помічені флуоресцентними барвниками, повз збуджуючого лазера, а потім через детектори. Є найбільш точним методом дослідження клітинної ланки імунітету.	Імунокомпетентні клітини крові та їх популяції, суспендовані клітини органів і тканин (паренхіматозних органів, пухлин, культури клітин)

Полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР)	Значне збільшення малих концентрацій бажаних фрагментів ДНК в біологічному матеріалі (пробі). Крім простого збільшення числа копій ДНК (цей процес називається ампліфікацією).	Діагностика захворювань (спадкових, інфекційних), ідентифікації малих кількостей ДНК, встановлення батьківства.
Бластна трансформація лімфоцитів (РБТЛ)	Дозволяє досліджувати проліферативну реакцію лімфоцитів за імуногенезу та ступінь сенсibilізації організму до даного антигену. Дослідження проводиться на культурі клітин	Визначення функціональної активності імунокомпетентних клітин
Імуномагнітна сепарація	Метод на основі застосування парамагнітних полістирольних мікрочасток, покритих моноклональними антитілами до тих чи інших антигенних маркерів клітин.	Дає можливість проводити повне фенотипіювання всіх субпопуляцій лімфоцитів. Має високу собівартість

Не слід плутати поняття **«імунологічний метод дослідження»** та **«метод для оцінки імунного статусу»**. Адже метод може бути імунологічним, проте може не характеризувати стан імунної системи пацієнта. А може бути навпаки – досліджуючи пацієнта на інфекційне захворювання, ми можемо встановити його імунний статус



Загальна кількість лейкоцитів

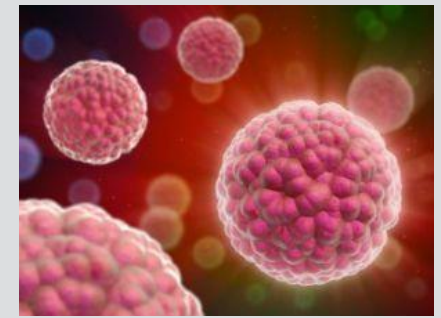


зростає – при інфекційних захворюваннях (бактеріальних, вірусних, грибкових), запальних процесах різної локалізації, злоякісних патологіях крові, травматичному пошкодженні тканин, злоякісних пухлинах, уремії, еклампсії, захворюваннях щитоподібної залози, гострих кровотечах та після спленектомії

знижується – за важкого перебігу вірусних та бактеріальних інфекцій, гіперспленомегалії, інтоксикації важкими металами, дії іонізуючого випромінювання, на фоні хіміотерапії, первинних захворюваннях кісткового мозку, мегалобластній анемії, мієлодиспластичних синдромах, апластичній анемії, спадкових захворюваннях (синдром Факоні, спадковий дизкератоз), вторинних захворюваннях кісткового мозку

В нормі загальна кількість лейкоцитів в крові наступна: у дітей до 1 року 6,5–12,5 Г/л, 1–3 роки – 5,0–12,0 Г/л, 3–6 років – 4,5–10,0 Г/л, 6–16 років – 4,3–9,5; дорослі – 4,0 – 9,0 Г/л. В різних лабораторіях нормативні показники загальної кількості лейкоцитів можуть трохи відрізнятись.

Лімфоцити – популяція клітин, які відрізняються між собою залежно від походження, тривалості життя, локалізації в лімфоїдних органах і тканинах.



Збільшення кількості лімфоцитів відбувається при вірусних інфекціях (інфекційний мононуклеоз, цитомегаловірусна інфекція, краснуха, вітряна віспа), токсоплазмозі, деяких бактеріальних захворюваннях (туберкульоз, кашлюк), онкологічних захворюваннях червоного кісткового мозку (хронічний лімфолейкоз, неходжкінська лімфома), гострому вірусному гепатиті, макроглобулінемії Вальденстрема, травматичному пошкодженні тканин, злоякісних пухлинах (особливо карциномі бронхів), уремії, еклампсії, захворюваннях щитоподібної залози, гострій кровотечі, після спленектомії.

Зменшення кількості лімфоцитів відбувається при важких вірусних захворюваннях (грипі), гострих бактеріальних інфекціях, ВІЛ-інфекції, системному червоному вовчаку, гіперспленомегалії, інтоксикації важкими металами, дії іонізуючого випромінювання, первинних та вторинних (гранульоми та метастази) захворюваннях кісткового мозку, мегалобластній і апластичній анемії, нирковій недостатності, недостатності кровообігу, вторинному імунodefіциті, злоякісних новоутвореннях.

Показники Т-клітинного імунітету
включають кількість Т-клітин та їх субпопуляції – CD2, CD3, CD4, CD8, CD16, CD4/CD8

Позначення маркеру	Назва	Функції та клініко-діагностичне значення в імунограмі
CD2	Т-клітинний поверхневий антиген	Стимулює активність Т-лімфоцитів та натуральних кілерів
CD3	Мультипротеїновий комплекс на поверхні Т-лімфоцитів	Специфічний для всіх популяцій Т-лімфоцитів. Функція – передача сигналів у Т-клітину через клітинних рецептор
CD4	Мономерний трансмембранний глікопротеїн надродина Ig	Експресуються на тимоцитах та зрілих Т-лімфоцитах (65 % – Т-хелпери), розпізнає молекули антигенів, є рецептором до ВІЛ
CD8	Кластер диференціювання 8	Маркер цитотоксичних Т-клітин, Т-лімфоцитів (Т-кілерів) – основних компонентів протівірусного імунітету
CD16	Маркер натуральних кілерів (НК-клітин)	Компонент рецепторів, зв'язаних з імуноглобулінами, опосередкує фагоцитоз, продукцію цитокінів та антитілозалежну клітинну токсичність
CD4/CD8	Імунорегуляторний індекс: співвідношення Т-хелперів і Т-кілерів	В нормі від 1,2 до 2,6 (в середньому близько 2). Якщо значення менше 1, це може свідчити про наступні процеси: вроджений імунодефіцит, ВІЛ-інфекція, стрес, анемія, онкологічне захворювання. Якщо значення більше 2,6 – бактеріальна інфекція, Т-клітинний лейкоз.

ІМУНОРЕГУЛЯТОРНИЙ ІНДЕКС

підвищення співвідношення CD4/CD8
характерно майже для всіх аутоімунних
захворювань: аутоімунної гемолітичної анемії,
імунної тромбоцитопенії, тиреоїдиту Хашимото,
перніціозної анемії, синдрому Гудпасчера,
системного червоного вовчака, ревматоїдного
артриту

Нормативні показники T-лімфоцитів CD3 (%):
дорослі – 54-83. Діти: 1-2 місяців – 60-85; 3-5
місяців – 48-75; 6-9 місяців – 50-77; 10-12 місяців
– 54-76; 1-2 роки: 47-77; 3-4 роки: 50-76; 5-10
років: 57-80; 11-14 років: 58-82.

Показники гуморального імунітету:

кількість В-лімфоцитів (CD21) та їх субпопуляції – CD19, CD20, CD22, CD24 (табл. 6), спектр сироваткових імуноглобулінів, Ig M, Ig A та Ig G;

Позначення маркеру	Назва	Функції та клініко-діагностичне значення в імунограмі
CD21	Білок, який бере участь у системі комплементу	Маркер зрілих В-лімфоцитів. Здатен взаємодіяти з вірусом Епштейна – Бара під час інфікування
CD19	Трансмембранний глікопротеїн	Маркер В-лімфоцитів на ранніх етапах їх розвитку. Мутації його спричиняють важкий імунодефіцит. Використовується у діагностиці В-лімфом та В-лейкозів.
CD20	В-лімфоцитарний антиген	Точна функція не встановлена. Є дані, що він бере участь в проліферації та активації В-лімфоцитів
CD22	Мембранний білок-рецептор В-лімфоцитів	Знижує чутливість В-клітинного рецептору та запобігає стимуляції клітини антигеном.
CD24	Глікопротеїн-передатчик сигналу	Виграє певну роль в адаптивному імунітеті, запаленні, аутоімунних реакціях та злоякісному переродженню клітин, а саме – в апоптозі В-лімфоцитів

Специфічний маркер моноцитів і макрофагів (CD14).

Підвищення числа моноцитів спостерігається при одужанні від інфекційних захворювань. Довготривале підвищення зустрічається при гранулематозних захворюваннях (сифіліс, туберкульоз, бруцельоз, саркоїдоз).

Загальний лейкоцитарний антиген (CD45) –

тірозинфосфатаза – відноситься до групи ферментів. CD45 експресується всіма типами гемопоетичних клітин, крім зрілих еритроцитів та їх безпосередніх попередників. Рівень експресії CD45 нарастає в міру диференціювання гемопоетичних клітин від незрілих попередників до зрілих форм. Максимальний рівень CD45 представлений на зрілих лімфоцитах. Загальний лейкоцитарний антиген регулює зростання, диференціювання, мітотичний цикл і злоякісне переродження клітини.

Імуноглобулін А (Ig A) – фракція γ-глобулінів, яка синтезується в основному плазматичними клітинами слизових оболонок у відповідь на місцеву дію антигену.

Ig A складають близько 15 % від усіх імуноглобулінів сироватки крові. В організмі людини представлені двома фракціями: сироватковою (забезпечує місцевий імунітет) та секреторною (міститься у молоці, секретах кишкового і респіраторного тракту, слині, слюзі), створюючи разом із неспецифічними факторами імунітету захист слизових оболонок від мікроорганізмів та вірусів.

Показання для визначення Ig A:

- оцінка місцевого гуморального імунітету;
- діагностика імунодефіцитних станів;
- діагностика причин рецидивів бактеріальних, вірусних, грибкових і паразитарних інфекцій;
- діагностика стану імунної системи при аутоімунних патологіях, захворюваннях крові, новоутвореннях, лімфопроліферативних захворюваннях;
- анафілактичні посттрансфузійні реакції;
- діагностика і моніторинг лікування мієломи Ig A.

Підвищення в крові вмісту Ig A спостерігається при наступних патологічних станах і захворюваннях:

- гострі і хронічні бактеріальні, грибкові та паразитарні інфекції шкіри, органів дихання, кишечника, уrogenітального тракту;
- новоутворення (карциноми, ендотеліома);
- множинна мієлома (Ig A-тип);
- макроглобулінемія Вальденстрема;
- системні захворювання сполучної тканини (ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, васкуліти);
- бессимптомная моноклональна (Ig A) гаммапатія;
- хронічні ураження печінки (гепатит, цироз, алкогольне ураження печінки);
- муковісцидоз;
- синдром Віскотта-Олдріча;
- фізичні навантаження;
- імунізація в попередні 6 місяців.

Зниження в крові вмісту Ig A спостерігається при наступних патологічних станах і захворюваннях:

- **новоутворення лімфатичної системи, лімфопроліферативні захворювання;**
- селективний Ig A дефіцит;
- гіпер-Ig M-синдром;
- **стан після видалення селезінки;**
- **кишкові та ниркові синдроми втрати білка;**
- вроджена недостатність (синдром Луї-Барр, агамаглобулінемія);
- **атопічний дерматит, хронічний кандидоз шкіри і слизових оболонок;**
- **злаякісні анемії, гемоглобінопатії;**
- **паразитарні захворювання (лямбліоз);**
- **хронічні захворювання органів дихання;**
- **стани, що супроводжуються загальним імунодефіцитом;**
- опромінення іонізуючою радіацією;
- тривалий контакт з бензолом, толуолом, ксилолом;
- **вагітність;**
- фізіологічна гіпоагамаглобулінемія у дітей у віці 3-6 місяців

Імуноглобуліни М (Ig M) – основні антитіла, вироблені в процесі первинної імунної відповіді.

Ig M синтезується плазматичними клітинами, складають 5–10 % від загальної кількості імуноглобулінів у сироватці крові, час напіввиведення становить 5 діб. До Ig M відносяться ізогемаглютиніни, антибактеріальні, гетерофільних антитіла, ревматоїдний фактор. Антитіла мають високу комплементарну активність, причому молекули Ig M пов'язують комплемент ефективніше, ніж Ig G. В-лімфоцити мають поверхневі рецептори до Ig M і секретують Ig M першими. Після трансформації В-лімфоцитів в плазматичну клітину наступні стимуляції тим же самим антигеном викликають виражену «вторинну відповідь» тепер уже з секрецією Ig G. Ig M не проникають через плаценту. Це єдиний клас антитіл, синтез яких починається до народження дитини.

Підвищений вміст Ig M в пуповинній крові – діагностичний критерій внутрішньоутробної інфекції плода.

Визначення специфічних антитіл Ig M є корисним при оцінці стадії інфекційного процесу і ймовірності виникнення вроджених інфекцій.

Показання для визначення Ig M:

оцінка гуморального імунітету; діагностика і моніторинг лікування при макроглобулінемії; оцінка ймовірності виникнення внутрішньоутробної інфекції.

Підвищення в крові вмісту Ig M спостерігається при наступних патологічних станах і захворюваннях:

- гострі вірусні та бактеріальні інфекції;
- паразитарні інфекції (малярія);
- макроглобулінемія Вальденстрема;
- захворювання печінки (гепатит, цироз);
- аутоімунні захворювання (системний червоний вовчак, ревматоїдний поліартрит);
- дисгамаглобулінемія;
- внутрішньоутробні інфекції у новонароджених;
- бессимптомная моноклональна Ig M гамапатія;
- наявність холодкових аглютинінів;
- множинна мієлома (Ig M-тип).

Зниження в крові вмісту Ig M спостерігається при наступних патологічних станах і захворюваннях:

- Агамаглобулінемії, гіпогамаглобулінемії, дисгамаглобулінемії;
- синдроми втрати білка (ентеропатії, опік);
- селективний дефіцит Ig M;
- Не-Ig M мієлома;
- лімфоїдна аплазія, хронічна лімфатична лейкемія;
- стан після спленектомії;
- вплив іонізуючого опромінення;
- ранній дитячий вік.

Імуноглобуліни G (Ig G) складають близько 75 % від сироваткових імуноглобулінів і 10-20 % загального білка сироватки крові, синтезуються зрілими В-лімфоцитами і є основними антитілами, які виробляються у відповідь при вторинному контакті з антигеном. Імуноглобулін G (Ig G) антитіла беруть участь в нейтралізації бактеріальних, вірусних токсинів, стимуляції фагоцитозу, реакціях зв'язуванні комплекменту.

Наявність специфічних Ig G разом з визначенням специфічного Ig M використовується в серологічній діагностиці при гострих або хронічних інфекціях

Основною причиною поліклонального збільшення Ig G є синдром набутого імунодефіциту. Поліклональні збільшення Ig G також враховуються при розсіяному склерозі і деяких хронічних гепатитах. Моноклональне зростання Ig G проявляється, в більшості випадків, множинною мієломою, рівень Ig G > 3 г/дл є основним діагностичним критерієм.

Показання для визначення Ig G: рецидивуючі бактеріальні інфекції; захворювання печінки (хронічний вірусний і аутоімунний гепатити, цироз печінки); дифузні захворювання сполучної тканини (ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, дерматоміозит); мієломна хвороба; ВІЛ-інфекція, СНІД; онкопатологія; контроль замісної терапії імунодефіцитів.

Підвищення в крові вмісту Ig G:

- бактеріальні гострі інфекції (сепсис, бешиха, скарлатина, ангіна, піодермія, інфекційний мононуклеоз, краснуха) і хронічні інфекції (бруцельоз та інші);
- паразитарні захворювання (малярія, ехінококоз);
- аутоімунні захворювання (ревматоїдний артрит, ВКВ);
- хронічні захворювання печінки (хронічний гепатит, цироз);
- саркоїдоз;
- гіперімунізації;
- важка мальабсорбція;
- диспротеїнемія;
- мієлома Ig G.

Зниження в крові вмісту Ig G:

- синдром втрати білка (великі опіки, захворювання нирок, ексфоліативний дерматит, ентеропатії);
- лімфоїдна аплазія, хронічна лімфатична лейкемія;
- селективний дефіцит Ig G;
- вроджена недостатність (агаммаглобулінемія, синдром Віскотта-Олдріча);
- іонізуюча радіація;
- вагітність.

Оцінка фагоцитарної активності:

кількість фагоцитуючих клітин, активність фагоцитозу, кисневозалежний метаболізм-НСТ-тест. Про **якість фагоцитозу** можна судити при визначенні функціональної активності імунних клітин. Дане дослідження проводиться в двох варіантах: спонтанна і індукована.

Спонтанна – відображає метаболічний потенціал фагоцитуючих клітин крові, **індукована (стимульована)** – при використанні спеціальних індукторів характеризує активність внутрішньоклітинних ферментів фагоцитуючих клітин, наприклад, **тест поглинання нітросинього тетразолію (НСТ-тест), *E. Coli*.**

Фагоцитарна активність нейтрофілів зазвичай підвищується на початку розвитку запального процесу, її зниження веде до хронізації запального процесу та підтримці аутоімунного процесу, так як при цьому порушується функція руйнування і виведення імунних комплексів з організму.

Зниження функціональної активності фагоцитуючих клітин крові спостерігаються при хронічних, часто рецидивуючих захворюваннях бактеріальної і грибкової етіології різної локалізації, фурункульозі, туберкульозі, хронічних захворюваннях лімфоглоткового кільця і дихальних шляхів, пієлонефритах, піогенних інфекціях, atopічному дерматиті, бронхіальній астмі, ревматизмі, ряді онкопроліферативних захворювань.

Фагоцитарний індекс – кількість нейтрофілів, яка вступила в реакцію фагоцитозу. У нормі у здорових людей становить 40 – 80 %.

Фагоцитарне число (ФЧ) – середня кількість мікробних клітин, поглинених одним нейтрофілом. $ФЧ = \frac{\text{загальне число порахованих мікробів}}{\% \text{ фагоцитозу}}$. У нормі цей показник складає від 4 – 10.

Система комплементу (лат. *Complementum* — доповнення) — це група білків сироватки крові, що складається з протеаз та їхніх активаторів, є важливою частиною гуморального імунітету. Збільшення або зменшення кількості комплементу у крові спостерігається при багатьох захворюваннях (запальні процеси, аутоімунні та онкологічні захворювання). Препарати комплементу (сироватка крові морської свинки) використовують у діагностиці при проведенні реакції зв'язування комплементу – визначення кількості антитіл у крові (зокрема реакція Васермана).

3 основні функції комплементу:

**Опсонізація
мікроорганізмів
для їх
подальшого
фагоцитозу**

**Перфорація
мембран
бактеріальних
клітин**

**Ініціація
судинних реакцій
запалення**

Циркулюючі імунні комплекси (ЦІК)

Утворення циркулюючих імунних комплексів є фізіологічним механізмом захисту організму, що призводить до швидкого видалення ендогенних і екзогенних антигенів з організму шляхом фагоцитозу і через ретикуло-ендотеліальну систему.

ЦІК – комплекси, що складаються з антигену, антитіл і пов'язаних з ними компонентів комплементу C3, C4, C1q.

Однак при збільшенні їх розміру (при надлишку антигену і наявності в їх структурі Ig M, C1q-компонента комплементу) комплекси можуть відкладатися в периваскулярному просторі і кірковій речовині нирок, викликаючи активацію комплементу і запальні процеси.

Підвищення рівня ЦІК в крові характерно для: гострих бактеріальних, грибкових, паразитарних і вірусних інфекцій; аутоімунних захворювань, колагенозів, ревматизму, гломерулонефриту, алергічного альвеоліту, васкулітів, феномена Артюса; імунокомплексних захворювань, сироваткової хвороби; алергічних реакцій 3-го типу.

Проліферативна активність лімфоцитів (реакція бластної трансформації лімфоцитів, РБТЛ) з мітогеном Кон. А.

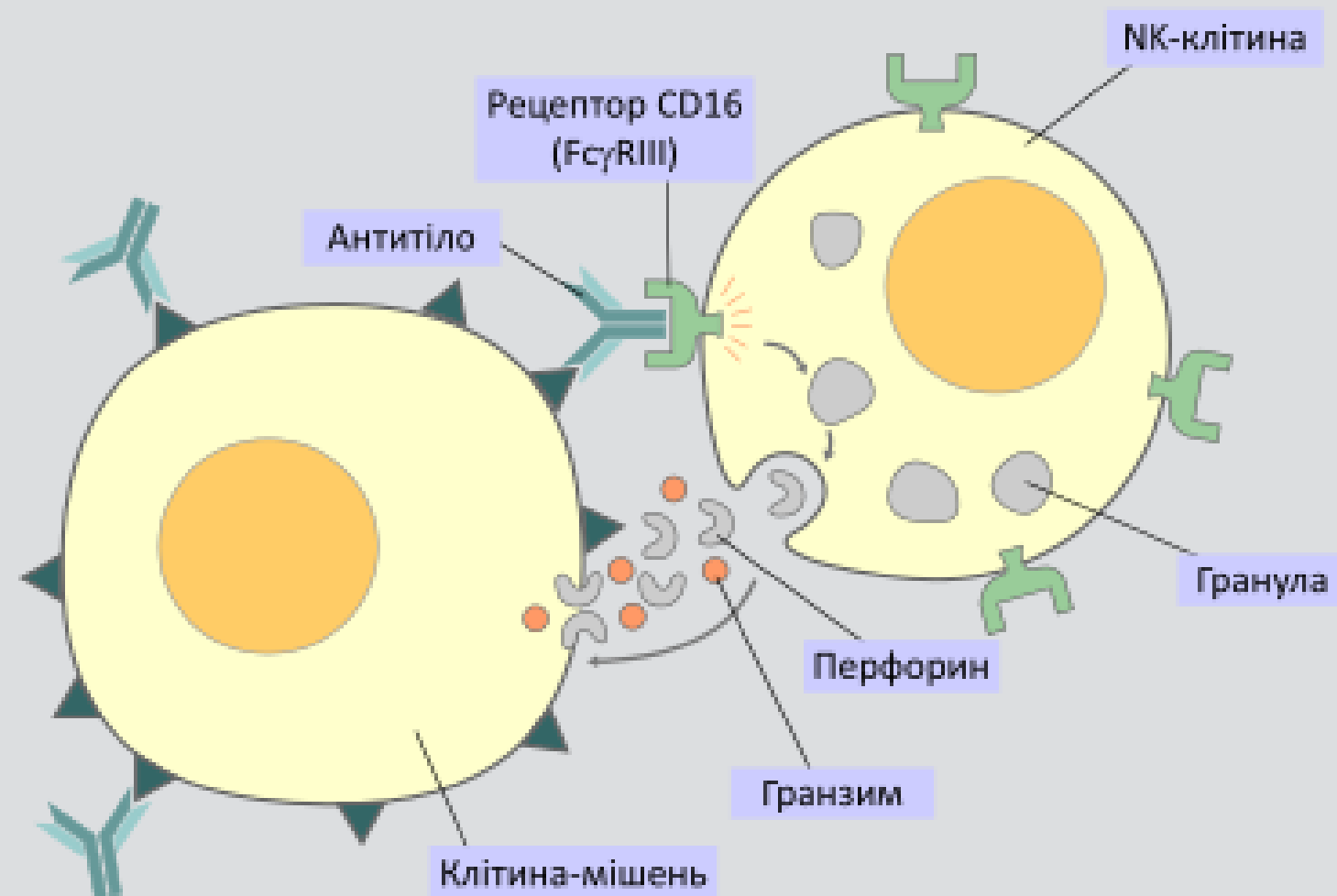
Масова загибель активованих лімфоцитів лежить в основі феномена «апоптозу, індукованого активацією». **Цей феномен відіграє велику роль в патогенезі багатьох захворювань людини, включаючи ВІЛ-інфекцію.** Виникає парадоксальна ситуація: виражена активація клітин імунної системи призводить до розвитку імунодефіциту. Для дослідження проліферативної активності імунокомпетентних клітин використовують тест по визначенню здатності Т- і В-лімфоцитів посилювати проліферацію у відповідь на різну стимуляцію (митогенами, антигенами). Для цього використовують **реакцію бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ)**. Для Т-лімфоцитів РБТЛ проводиться в присутності митогена конканаваліну, А (Кон-А). Дане дослідження дозволяє оцінити проліферативний потенціал імунокомпетентних клітин і виявити дефекти імунітету, пов'язані з недостатньо інтенсивним розмноженням лімфоцитів.

**Провідна роль в регуляції імунної відповіді
належить генам головного комплексу
гістосумісності**

**(major hysto compatibility complex – МНС),
до якого відноситься *і система HLA*
(human leukocyte antigen).**

Клініко-діагностичне значення системи HLA:
полягає у захисті від хвороб, які можуть бути
причиною відторгнення органів після пересадки,
можуть захищати від раку або збільшувати його
ймовірність (якщо їх кількість знижено через часті
інфекцій). Вони можуть впливати на розвиток
аутоімунних захворювань (наприклад, цукрового
діабету I типу, целіакії). HLA можуть бути пов'язані з
деякими індивідуальними запахами, що грають роль
при виборі статевих партнерів.

НК-клітини, натуральні кілери (CD16/CD56) – це великі гранулярні лімфоцити, що є частиною вродженого (неспецифічного) імунітету, оскільки, на відміну від Т- і В-лімфоцитів, на їхній поверхні відсутні антиген-специфічні рецептори. Природні кілери становлять 5–10 % від загальної кількості лімфоцитів у крові людини. Вони відіграють важливу роль у захисті організму від вірусних інфекцій та є невід’ємною складовою протипухлинного імунітету.



Цитокиновий спектр

прозапальні – IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF- α , інтерферон- γ

протизапальні – IL-4, IL-5, IL-10 та IL-13

Цитокіни – білки активованих клітин імунної системи, які забезпечують міжклітинні взаємодії. Інтерлейкіни (IL) є одним із видів цитокінів, які є імунними регуляторами локальної дії.

Цитокіни мають три основні функції:

- регуляція захисних функцій організму на місцевому та системному рівні;**
- регуляція окремих нормальних фізіологічних функцій;**
- регуляція ембріогенезу, закладки і розвитку органів імунної системи**

Показники	Біологічна роль цитокінів та клініко-діагностичне значення
IL-1β	Стимулює проліферацію фібробластів, синтез білків гострої фази запалення в гепатоцитах, колагенази у синовіальних оболонках суглобів. Індукує синтез IL-6, який опосередковує дію IL-1 на імунну регуляцію
IL-2	Продукується зрілими Т-хелперами у результаті їх стимуляції антигеном. Посилює як клітинний, так і гуморальний імунітет
IL-6	Багатофункціональний неспецифічний медіатор, який продукується макрофагами, фібробластами, активованими Т-хелперами. Основний індуктор реакції гострої фази запалення. Підвищена продукція відбувається при аутоімунних захворюваннях
IL-12	Продукується В-лімфоцитами, моноцитами і макрофагами. Діє на НК-клітини та моноцити, індукуючи проліферацію і синтез інтерферону- γ
TNF-α	Фактор некрозу пухлин-альфа має виражену протизапальну дію та виграє важливу роль у патогенезі тканинного пошкодження
Інтерферон-γ	Продукується Т-лімфоцитами і НК-клітинами, індукує апоптоз активованих макрофагів, гепатоцитів, клітин кісткового мозку, кератиноцитів, ендотеліоцитів
IL-4	Стимулює та бере участь у активації В-лімфоцитів, бере участь у реакціях гіперчутливості негайного типу, є фактором росту Т-лімфоцитів
IL-5	Секретується Т-лімфоцитами, лаброцитами і еозинофілами. Відповідає за проліферацію та дозрівання еозинофілів, сприяє дозріванню плазмоцитів
IL-10	Інгібує синтез інших цитокінів, секрецію інтерферону, інактивує макрофаги
IL-13	Продукується Т-лімфоцитами, пригнічує функцію мононуклеарних фагоцитів, інгібує синтез протизапальних цитокінів моноцитами і макрофагами

Рівень специфічних антитіл: антитіла до збудників конкретних захворювань – бактеріальних, вірусних, грибкових, протозойних, а також аутоантитіла для діагностики аутоімунних хвороб.

Білки гострої фази запалення – синтезуються активованими клітинами-макрофагами, концентрація їх збільшується в крові під час активації запального процесу, ушкодженні тканин, деяких аутоімунних та інфекційних захворюваннях, оперативних втручаннях (С-реактивний білок, гаптоглобін, церулоплазмін та інші.). Також певну інформативність при аутоімунних хворобах мають ревматичний фактор і антистрептолізини-О.

С-реактивний білок (СРБ) – білок, здатний опсонізувати бактерії та зв'язують вільну ДНК. Рівень СРБ підвищується упродовж декількох годин з моменту розвитку запалення або інфекційного процесу після початку лікування

Рівень С-реактивного білка	Захворювання
Нормальний рівень або незначне підвищення (від 4,0 до 100 мг/л)	Більшість вірусних інфекцій Активний системний червоний вовчак Розсіяний склероз Неактивний ревматоїдний артрит Мієлома Більшість пухлин
Помірне підвищення (100 – 200 мг/л)	Вірус Епштейн-Бара / Цитомегаловірус Бактеріальна інфекція Активний ревматоїдний артрит Ревматична поліміалгія Висковий артеріїт Лімфома Гіпернефрома
Виражене підвищення (більше 200 мг/л)	Важкий бактеріальний сепсис Легіонельоз Активний васкуліт (Вегенера, ревматоїдний)
Дуже виражене підвищення (більше 400 мг/л)	Блискавичний сепсис (глибокі абсцеси тканин) Фульмінантний легіонельоз За такого рівня зазвичай кінцем є смерть

Гаптоглобін (в нормі в сироватці крові дорослих – 1,0–3,0 г/л) – α_2 -глобулін, який бере участь в утилізації гемового заліза шляхом зв'язування вільного гемоглобіну. Рівень гаптоглобіну помітно знижується при наявності гемолізу, а також за серпоподібноклітинної анемії, дефіциті глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази. Показанням для дослідження гаптоглобіну є підозра на присутність гемолізу. Існують дані про генетично обумовленій нестачі гемоглобіну. *Підвищення гаптоглобіну спостерігається при непрохідності* жовчних шляхів, апластичній анемії, а також в гостру фазу запальної відповіді.

Церулоплазмін (в нормі в сироватці крові дорослих – 0,19–0,71 г/л) – є важливим показником для проведення дослідження за підозри на хворобу Вільсона. Церулоплазмін є Купрум-зв'язуючим білком. Рівень церулоплазміну знижується у більшості випадків хвороби Вільсона (гепатолентикулярна дегенерація). Оскільки він синтезується в печінці, то його вміст в крові буде знижений при важких її захворюваннях – первинний біліарний цироз і гепатит. Рівень церулоплазміну знижується при синдромі мальабсорбції, які перебігають з дефіцитом Купруму. *Рівень церулоплазміну підвищується* при розвитку гострофазових відповідей, особливо при ревматоїдному артриті та васкуліті, під час вагітності, тиреотоксикозі. Також його можна розглядати як фактор нейроендокринної регуляції та захисту організму у стресових ситуаціях, запаленнях та алергічних процесах.

Ревматоїдний фактор – специфічні білки, вміст яких в крові значно збільшується, в першу чергу, за ревматоїдного артриту, а також хронічному активному гепатиті, системному червоному вовчаку, вузликовому періартеріїті, дерматоміозиті. У здорових людей ревматоїдний фактор може бути знайдений у 2-5 % випадків. Його наявність в крові за відповідної клінічної картини ревматоїдного артриту підтверджує діагноз, однак негативна реакція не свідчить про відсутність ревматоїдного артриту. Це може визначатись індивідуальними особливостями хворого, а також раннім терміном захворювання. У більшості хворих на ревматизм ревматоїдний фактор у крові негативний.

Антистрептолізин-О (АСЛ-О) – антитіла до стрептолізину бета-гемолітичного стрептокока групи А. Він є маркером сенсibilізації організму до стрептококових антигенів. **Стійке і тривале підвищення АСЛ-О може бути передвісником ревматичного процесу.** У клінічній практиці використовується для спостереження за динамікою ревматичного процесу. **Показання для призначення:** діагностика захворювань стрептокової етіології (тонзиліт, скарлатина, рожа, ін. Гнійно-запальні захворювання); діагностика ускладнень стрептокової інфекції (ревматична лихоманка, гломерулонефрит, міокардит); динаміка перебігу і оцінка ступеня активності ревматичного процесу.

Лізоцим – фермент, який має бактерицидну дію. Відноситься до важливих факторів неспецифічного імунного захисту слизових оболонок, зокрема, ротової порожнини. Міститься у секретах травних залоз, в тому числі слинних. Рівень лізоциму найвищий у період новонародженості. У сироватці крові здорових людей становить 9 – 10 мг/мл.

Антинуклеарні антитіла (ANA) – група аутоантитіл, що реагують з різними компонентами ядра. Визначення антитіл до нуклеарних антигенів в сироватці – тест на системні захворювання сполучної тканини. Основна мета дослідження – виключити системний червоний вовчак, оскільки при цьому захворюванні ANA виявляються у 95 % хворих протягом 3 місяців після його початку. Визначення ANA має велике значення для діагностики захворювань сполучної тканини, наявність даних антитіл може бути пов'язано з системним червоним вовчаком, ревматоїдним артритом, склеродермією, поліміозитом, дерматоміозитом. При системному червоному вовчаку тест на виявлення антинуклеарного фактору має високу чутливість (89 %), але помірну специфічність (78 %), в порівнянні з тестом на **визначення антитіл до нативної ДНК** (чутливість – 38 %, специфічність – 98 %). Кореляції між висотою титру і клінічним станом хворого немає.

Антиспермальні антитіла (ASA) – синтезуються до різних частин сперматозоїда (головки, хвоста, середньої частини). Можуть синтезуватися як у чоловіків, так і у жінок, і призводять до зниження рухливості сперматозоїдів, їх аглютинації, порушення функціональної активності, блокування проходження через цервікальний слиз і неможливості запліднити яйцеклітину. Тому наявність даних антитіл розглядається як одна з причин імунологічного безпліддя (як чоловічого, так і жіночого).

Антитіла до двоспіральної нативної ДНК – високоспецифічні для системного червоного вовчака. Вони можуть бути виявлені у 40–50 % хворих на системний червоний вовчак. Існує кореляція між активністю системного червоного вовчака, наявністю гломерулонефриту і рівнем антитіл до двохспіральної ДНК в сироватці крові.

LE-клітини – це зрілі нейтрофільні лейкоцити, які містять фагоцитований гомогенний ядерний матеріал (ядерні білки). Формування LE-клітин відбувається за наявності LE-фактору в плазмі крові та інших біологічних рідинах. LE-клітини виявляються в крові при системний червоний вовчак в 70–80 % випадків і при деяких інших аутоімунних захворюваннях.

Змішана лейкоцитарна реакція (Mixed Leukocytes Reaction, MLR) – спосіб оцінки антиген-презентуючої функції макрофагів та дендритних клітин. Для постановки реакції змішують у різних співвідношеннях антиген-презентуючі клітини і Т-клітини, після чого їх разом інкубують упродовж 3–7 діб. Також цей метод можна використовувати для визначення ступеня розпізнавання антигенів тканинної сумісності подружжя для контролю нормального розвитку плода.

Висновки

1. Імунограма – лабораторне дослідження крові, яке дозволяє оцінити стан імунної системи за відповідними показниками. Імунограма є комплексним дослідженням, яке має оцінювати імунний статус пацієнта.
2. В клінічній медицині виділяють три види патології імунної системи: імунодефіцитні стани, алергічні реакції та аутоалергічні (аутоімунні) процеси. Всі три види патологічних порушень імунної системи потребують оцінки за допомогою клініко-імунологічних показників, які характеризують імунний статус.
3. Основними методиками, якими користуються сучасні імунологічні лабораторії, є проточна цитометрія (цитофлуориметрія), імуноферментний аналіз (в тому числі імуноблотинг) та полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Використання цих методів можливо не лише в діагностиці імунологічних порушень та оцінці імунного статусу пацієнтів, а й в діагностиці різних захворювань.
4. У лабораторній практиці до показників імунологічного дослідження крові окрім вищерозглянутих включають лабораторні тести, які в тій чи іншій мірі віддзеркалюють імунний статус пацієнта і використовуються в клінічній практиці.



Дякую

за

увагу!

