

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ
МЕДИЧНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ ТА КУРОРТОЛОГІЇ

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ ЛІВОСОМАЛЬНО-КАТІОННИХ ВІЛКІВ І АКТИВНОСТІ МІЄЛОПЕРОКСИДАЗИ ІОЛІМОФНОЯДЕРНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ У ДУОДЕНАЛЬНОМУ ВМІСТІ ХВОРИХ, ПЕРЕНІСЛИВИХ ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ

Одеса 1995

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ МЕДИЧНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ
ТА КУРОРТОЛОГІЇ

"УЗГОДЖЕНО"

Головний фахівець МОЗ України
з проблем медичної реабілітації

К.Д.Бабов

Головний фізіотерапевт МОЗ України

І.П.Шамаков

РІК "Курортологія і фізіотерапія",
протокол № 4 від 27 квітня 1994 р.

"ЗАТВЕРДЖЕНО"

Вченою Радою Української
НДІ медичної реабілітації
та курортології

Протокол № 17
від 25.10.94 р.

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ ЛІЗОСОМАЛЬНО-
КАТІОННИХ ВІЛКІВ І АКТИВНОСТІ МІСЛОПЕРОКСИДАЗИ
ПОЛІМОРФНОЯДЕРНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ У ДУОДЕНАЛЬНОМУ
ВМІСТІ ХВОРИХ, ПЕРЕНІСЛИВИХ ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ

Основная установа-розробник: Український науково-дослідний
інститут медичної реабілітації та курортології

Установа-опіввиконавець: Одеський медичний університет
ім. М.І.Пирогова

Автори: к.м.н. Н.В.Драгомирецька, д.м.н., проф. Ю.І.Бажора

Рецензент: д.м.н. Т.А.Золотарьова

До найбільш поширених несприятливих наслідків вірусних гепатитів належать ураження жовчовивідної і гастродуоденальної систем.

В періоді реконвалесценції вірусного гепатиту найбільш часто до патологічного процесу залучаються жовчовивідні шляхи, набуваючи переважно характер функціональних порушень. Дискінетичні порушення жовчовивідних шляхів при вірусному гепатиті зумовлені зміною нервово-гуморальної регуляції жовчовиділення. Ці патологічні зміни мають місце в перші дні захворювання вірусним гепатитом і пов'язані з його патогенезом. Функціональні зміни жовчовивідних шляхів, виникаючи в перші дні захворювання, в подальшому носять упорний характер і є провідним етапом патологічного процесу в розвитку запалення. Запальні зміни жовчовивідних шляхів виникають на фоні дискінетичних і виявляються, в основному, через 6 - 12 місяців після перенесеного захворювання.

За даними класичного дуоденального зондування і серійної холецистографії в ранньому відновному періоді вірусного гепатиту здається можливим діагностувати тільки наявність функціональних порушень жовчовивідної системи без ознак запальних явищ, що не дає можливості прогнозувати виникнення хронічного холециститу у хворих, перенісших вірусний гепатит.

В відновний період вірусного гепатиту для більшої частини хворих характерні ознаки ураження шлунка і 12-типалої кишки, які виявляються больовим і диспептичним синдромом, порушенням моторної, кислотоутворюючої і ферментативної функцій.

Далі ці патологічні зміни можуть стійко зберігатися і призвести до формування дуоденіту і виразкової хвороби 12-типалої кишки. Однак чітких діагностичних критеріїв щодо виникнення дуоденітів у ранні строки після перенесеного вірусного гепатиту не розроблено.

Формування несприятливих наслідків вірусних гепатитів залежить від стану імунологічної реактивності організму. При цьому важливу роль відіграють фактори неспецифічної резистентності організму. В локальних імунологічних реакціях певне значення має мікрофлора шлунково-кишкового тракту. Склад мікрофлори може змінюватися при патологічних процесах, що відбуваються в кишечнику, обумовлюючи розвиток дисбактеріоза. Останній може оприяти зриву імунної толерантності і розвитку аутоімун-

сих реакцій, сприяючи хронізації процесу в печінці, біліарній та гастродуоденальній системах.

В оцінці безпосередньої резистентності організму важлива роль належить визначенню лізосомальних катіонних білків поліморфноядерних нейтрофілів і мієлопероксидази катіонних гранул. За сучасними уявленнями, поліморфноядерні лейкоцити /ПЯД/ - одна з провідних ланок імунітету. Беручи участь у поглинанні та знищенні інфекційних осередків, поліморфноядерні лейкоцити разом з іншими клітинами крові утворюють противірусні й бактерицидні речовини, різноманітні медіатори запалення. Крім того, ПЯД, беручи активну участь у формуванні реакції запалення, інтегрують їх з реакціями імунітету.

Відкриття в гранулах нейтрофілів бактерицидної мієлопероксидазної системи і неферментних катіонних білків призвело до нового напрямку досліджень з проблеми фагоцитозу і бактерицидної активності цих клітин.

Мієлопероксидаза /лейкоцитарна пероксидаза/ разом з перекисом водню та йодом утворює в лейкоцитах сильну антибактеріальну систему. Лізосомні катіонні білки володіють також сильним бактерицидним впливом і можуть бути названі модифікаторами ферментативних процесів у клітині і медіаторами запалення.

Для визначення функціональної активності нейтрофілів і долі мікробів у запальних осередках запропоновано лізосомально-катіонний тест, який знаходить активне застосування в лабораторній та клінічній практиці.

На основі застосування лізосомально-катіонного тесту розроблена методика дуоденального зондування, яка дає змогу проводити ранню діагностику хронічного холециститу і хронічного дуоденіту у хворих, перенісших вірусний гепатит.

Методика дуоденального зондування з визначенням кількості лізосомально-катіонних білків і активності мієлопероксидази поліморфноядерних лейкоцитів у дуоденальному вивісі

Перед дослідженням пацієнти повинні полоскати ротову порожнину фізіологічним розчином температури 37 °С для найменшої ймовірності попадання еритроцитів та лейкоцитів ротоглотки в секрет дванадцятипалої кишки.

Дуоденальний вміст отримують так. Враховуючи можливість добових коливань досліджуваних показників, дослідження проводять тільки в ранкові години, натще. Після введення дуоденального зонда шприцем відсмоктують вміст дванадцятипалої кишки і тут же через зонд вводять 20 мл розчину Хенкса температури 37 °С. Через 10 хвилин шприцем відсмоктують вміст дванадцятипалої кишки. Отриману порцію дуоденального вмісту вносять в 6 пластикових пробірок /в кожному по 10 мл /, негайно центрифугують 10 хвилин при 1500 об/хв., потім зливають надосадкову рідину, а до осадка додають 10 мл охолодженого до 4 °С розчину Хенкса. Осадок суспензують, двічі відмивають у такому ж режимі. Таку обробку дуоденального вмісту проводять з метою створення сприятливих умов для мікроскопіювання осадка, враховуючи руйнівальні дії ферментів на форменні елементи. Із осадка приготровляють 4 мазка, один з них фарбують за методом Романовського для обліку цитогранів і диференціації клітинних елементів. Другий мазок фарбують на катіонні білки за методиком Писаревського Б.С., Моринга Е.А. /Методика застосування лізосомально-катіонного тесту в лабораторній практиці // Лабор. дело.- 1981.- № 10.- С.99 - 105 /.

Активність міслопероксидази визначають за методиком З.А.Бутенко і описавт. /1974/. Кількість катіонних білків і активність міслопероксидази оцінюють напівкількісним методом за методиком Astaldi і Verga. В кожному мазку підраховують 100 клітин, враховуючи кількість активних клітин. Ступінь активності клітин визначають напівкількісним методом і виражають в балах /0, 1, 2, 3 /. На підставі цих даних обчислюють цитохімічний коефіцієнт.

В цитограмах осадка дуоденального вмісту, отриманого згаданим способом, переважають 2 групи клітин: клітини епітелію і поліморфноядерні лейкоцити. У 70 % реконвалесцентів вірусного гепатиту в мазках мають перевагу типові для 12-типалої кишки клітини висового циліндричного каймистого епітелію. Іноді в мазках зустрічаються клітини багаторовного плоского епітелію, типові для слизової оболонки рота і ротоглотки. Кількість епітеліальних клітин в мазках значно варіює. Їхня структура неоднорідна. Це зв'язане з локалізацією патологічного процесу в біліарній або гастродуоденальній системах.

У здорових людей в мазках осадка дуоденального вмісту переважають поліморфноядерні лейкоцити /92 % /. Епітеліальні клітини складають всього 8 %. У реконвалесцентів вірусного гепатиту кількість поліморфноядерних лейкоцитів у мазках зменшене в порівнянні з такою у здорових /88,2 ± 3,8 % /. Діаметрально протилежна картина спостерігається в мазках осадка дуоденального вмісту хворих виразковою хворобою І2-типалої кишки /які 6 - 12 місяців назад перенесли вірусний гепатит/. У цих хворих переважають епітеліальні клітини /88,4 ± 4,1 % /.

При фарбуванні препаратів осадка на катіонні білки видно, що лейкоцити осадка дуоденального вмісту фарбуються на катіонні білки так само, як і лейкоцити периферичної крові. Серед них зустрічаються клітини з різним ступенем насичення гранулами катіонних білків, однак переважання клітин з різним ступенем насичення гранулами КБ відзначається перш за все у хворих з формуваними виразковою хворобою І2-типалої кишки і хронічним холециститом.

Середній цитохімічний коефіцієнт у них відповідно дорівнює $0,47 \pm 0,07$ і $0,71 \pm 0,14$ /див. табл./ У реконвалесцентів

Цитохімічна активність ПЯЛ /СДК/, виявлених в осадку секрету дванадцятипалої кишки / $M \pm m$ /

| Групи обстежених | КБ | МПО |
|--|-----------------|-----------------|
| Реконвалесценти ВГ, які не мають ознак ураження біліарної та гастродуоденальної систем | $0,88 \pm 0,10$ | $0,89 \pm 0,06$ |
| Реконвалесценти ВГ, що мають ознаки ураження біліарної системи | $0,71 \pm 0,14$ | $0,17 \pm 0,31$ |
| Реконвалесценти ВГ, які мають ознаки ураження гастродуоденальної системи | $0,47 \pm 0,07$ | $0,41 \pm 0,09$ |
| Здорові /контроль/ | $1,88 \pm 0,11$ | $2,31 \pm 0,09$ |

вірусного гепатиту, які не мають ознак ураження гастроудоденальної та біліарної систем, середній цитохімічний коефіцієнт більш високий $/0,88 \pm 0,10/$, але значно менший, ніж у здорових людей $/1,3 \pm 0,11/$.

Атипові клітини циліндричного каймистого епітелію дванадцятипалої кишки на відміну від клітин багат шарового плоского епітелію ротової порожнини і глотки добре фарбуються міцним зеленим, але в порівнянні з поліморфноядерними лейкоцитами забарвлення носить дифузний характер. Крім того, використований метод фарбування дозволяє вивчати мікрофлору дуоденального вмісту, диференціювати серед бактеріальних клітин живі й мертві.

У переважній більшості хворих в препараті зустрічаються як живі, так і вбиті бактерії /стрептококи і стафілококи/, дріжджі і ополучення обох видів бактерій. Переважна більшість стрептококів дріжджів зустрічається вбитими /пофарбування міцним зеленим/. Зазначені зміни мікроорганізмів зв'язані з кисневозалежною бактерицидністю поліморфноядерних лейкоцитів, обумовленою окисленням сульфідрильних груп, зниженням рН, що призводить до ураження бактеріальних структур.

При цьому відзначається низький СЦК $/0,35/$. В той же час у міжклітинному просторі опостерігається велика кількість екзоцитованих гранул катіонних білків, що свідчить про бактерицидну роль поліморфноядерних лейкоцитів.

В деяких препаратах виявляються дріжджові клітини /вбиті/, які фарбуються також зеленим кольором і яким не слід надавати належного діагностичного значення.

В поліморфноядерних лейкоцитах визначають також активність мієлопероксидази. У здорових людей середній цитохімічний коефіцієнт цього ферменту в середньому складає $2,81 \pm 0,09$. В ранньому періоді реконвалесценції вірусного гепатиту активність цього ферменту зникається до $0,89 \pm 0,06$, а при ураженні гастроудоденальної системи і загрозі розвитку виразкової хвороби дванадцятипалої кишки активність цього ферменту зникається в два рази $/0,41 \pm 0,09/$.

Низька активність мієлопероксидази свідчить про втрату клітинних пероксидних гранул, які містять в собі фермент внаслідок бактерицидного діяння останнього.

Нині виявленню лейкоцитів у дуоденальному вмісті не надають належного значення внаслідок того, що ці форменні еле-

менти при звичайній методиці класичного дуоденального зондування швидко руйнуються під дією димішки соляної кислоти, панкреатичного соку і бактерій.

Викладена вище методика дуоденального зондування дає можливість вивчити кількісний склад лейкоцитів, епітеліальних клітин і бактерій, оцінити їхній функціональний стан для вивчення локальних імунологічних реакцій у хворих, перенісших вірусний гепатит, з метою діагностики можливих ускладнень перенесеного захворювання.

В осадку дуоденального вмісту, отриманого вищеописаним методом мають перевагу дві групи клітин: поліморфноядерні лейкоцити й клітини епітелію. У реконвалесцентів вірусного гепатиту, які не мають ознак ураження біліарної і гастродуоденальної систем, кількісне співвідношення ПЯЛ і епітеліальних клітин представлено як 9:1, що незначно зникнене в порівнянні зі здоровими людьми. У віддаленому періоді після перенесеного вірусного гепатиту при розвитку патологічного процесу в дванадцятипалій кишці це співвідношення різко змінюється, переважають клітини циліндричного епітелію.

Функціональна активність поліморфноядерних лейкоцитів, що мігрували на поверхню дванадцятипалої кишки реконвалесцентів вірусного гепатиту, знижена, про що свідчать низькі цифри катіонних білків і мієлопероксидази ПЯЛ.

Ця формація несприятливих наслідків вірусного гепатиту /холецистит, дуоденіт, виразкова хвороба дванадцятипалої кишки/ рівень катіонних білків і мієлопероксидази різко зменшується, що свідчить про зниження функціональної активності ПЯЛ. Останні відіграють неабияку роль у процесах елімінації вірусу з організму, ушкоджуючого впливу на бактеріальну флору за допомогою видалення імунних комплексів шляхом фагоцитозу.

Таким чином, в ранньому періоді реконвалесценції вірусного гепатиту спостерігається зниження показників природної резистентності організму /за даними визначення рівня КБ і активності ИПО/, зміни клітинного складу осадка дуоденального вмісту, що створить сприятливі умови для розвитку патологічного процесу в біліарній і гастродуоденальній системах.

Запропонована методика дуоденального зондування з вивченням осадка дуоденального вмісту може послужити суттєвим доповненням до звичайного дуоденального зондування, проведеному

як в діагностичних, так і в лікувальних цілях, для вивчення стану локального імунітету у хворих, перенісших вірусний гепатит, а також для діагностики ранніх патологічних процесів у новонароджених шляхом і ІЗ-типалії кишці з метою запобігання розвитку несприятливих наслідків вірусного гепатиту.

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

керівник установи, в якій проведено
впровадження

" _____ " _____ 199 р.

АКТ УПРОВАДЖЕННЯ

1. Діагностичне значення кількості лізосомально-катіонних білків і активності мієлопероксидази поліморфноядерних лейкоцитів у дуоденальному вмісті хворих, перенісших вірусний гепатит

/найменування пропозиції для впровадження/

2. Український НДІ медичної реабілітації та курортології

/установа-розробник, її поштова адреса, п.і. та по б. авто-
270014, м.Одеса, Лермонтовський пров., б. Складачі: Н.В.Драго-
рів/
мирецька, В.І.Бажора.

3. Джерело інформації: Медичні рекомендації "Діагностичне значення кількості лізосомально-катіонних білків і активності мієлопероксидази поліморфноядерних лейкоцитів у дуоденальному вмісті хворих, перенісших вірусний гепатит", 1994.

/назва, рік видання методичних рекомендацій/

4. Впроваджено

/ назва лікувально-профі-

лактичної установи/

5. Строки впровадження: з _____ до _____

6. Загальна кількість спостережень _____

7. Ефективність упровадження /зниження процесу діагностичних помилок, скорочення строку встановлення клінічного діагнозу, ранні строки виявлення ознак ураження біліарної і гастродуоденальної систем у реконвалесцентів вірусного гепатиту, зник-

нення або зменшення вираженості залишкових явищ вірусного гепатиту/.

8. Зауваження, пропозиції

" " 199 р.

/відповідальний за впровадження, посада, підпис, п.і. та по б./

- 1. Узагальнені акти впровадження затверджує зам. зав. відділом охорони здоров'я облвиконкому.
- 2. Заповнюється розробником.
- 3. Тільки за пропозиціями, включеними до республіканського плану впровадження.
- 4. Заповнюється організацією, яка впроваджує розробку.
- 5. В акт вдруковуються тільки ті показники, на які вивчалась впроваджувана розробка.

Заказ №760, тираж 500 экз.. Подписано в печать 25.09.1995г.
Бумага газетная, печать офсетная.

Отдел оперативной полиграфии.

г. Одесса, ул.Ришельевская, 28.