

**лимфоциттердің абсолюттік және
салыстырмалы санын есептеу**

Лейкограмманы сараптау

**Клиникада иммунитеттің Т- және
В-жүйелерін бағалаудың
зертханалық әдістері**

Дәрігер-иммунологқа қаралу себептері:

- Жиі қайталанатын және созылмалы қабыну процесстері (бронхит, пневмония, жедел респираторлық аурулар, ЛОР-мүшелерінің созылмалы аурулары, фурункулез)
- Жедел қабыну ауруларының, травмалардың ұзақ жазылуы
- Дене қызуының белгісіз себептермен көтерілуі ($37,5\text{ C}^0$ -тан жоғары, әлсіздік, тез шаршау, терлегіштік, сүйек және бұлшық еттердің құрысуы, буындардың ауырсынуы)
- Аллергиялық аурулардың болуы
- Урогениталді инфекциялар (хламидиоз, уроплазмоз, микоплазмоз, трихомониаз, т.б.)

Дәрігер-иммунологқа қаралу себептері:

- Рецидивті герпесвирустық инфекциялар (қарапайым герпес, цитомегаловирустық инфекция, папиллома вирусы, Эпштейн-Барр вирусы)
- Экзематозды дерматит
- Ас қорыту мүшелерінің созылмалы аурулары (жара ауруы, гастрит, холецистит, панкреатит, ішек дисбактериозы)
- Жүктілік
- Егде адамдарда иммундық жүйенің жұмысын жақсарту мақсатында

Лейкоциттік формула - әртүрлі лейкоциттердің (лимфоциттер, моноциттер, нейтрофилдер, эозинофилдер, базофилдер) пайыздық қатынасы.

$$X = \frac{A * 4000 * 20}{1600}$$

X – 1 мкл қандағы лейкоциттер саны;

A – 100 үлкен төртбұрыштардағы лейкоциттер саны;

4000 – бір кіші төртбұрыштың көлемі;

20 – қанды араластыру дәрежесі;

1600 – лейкоциттердың саны анықталған кіші төртбұрыштардың саны

$$X = \frac{a * 250 * 20}{100} = a * 50$$

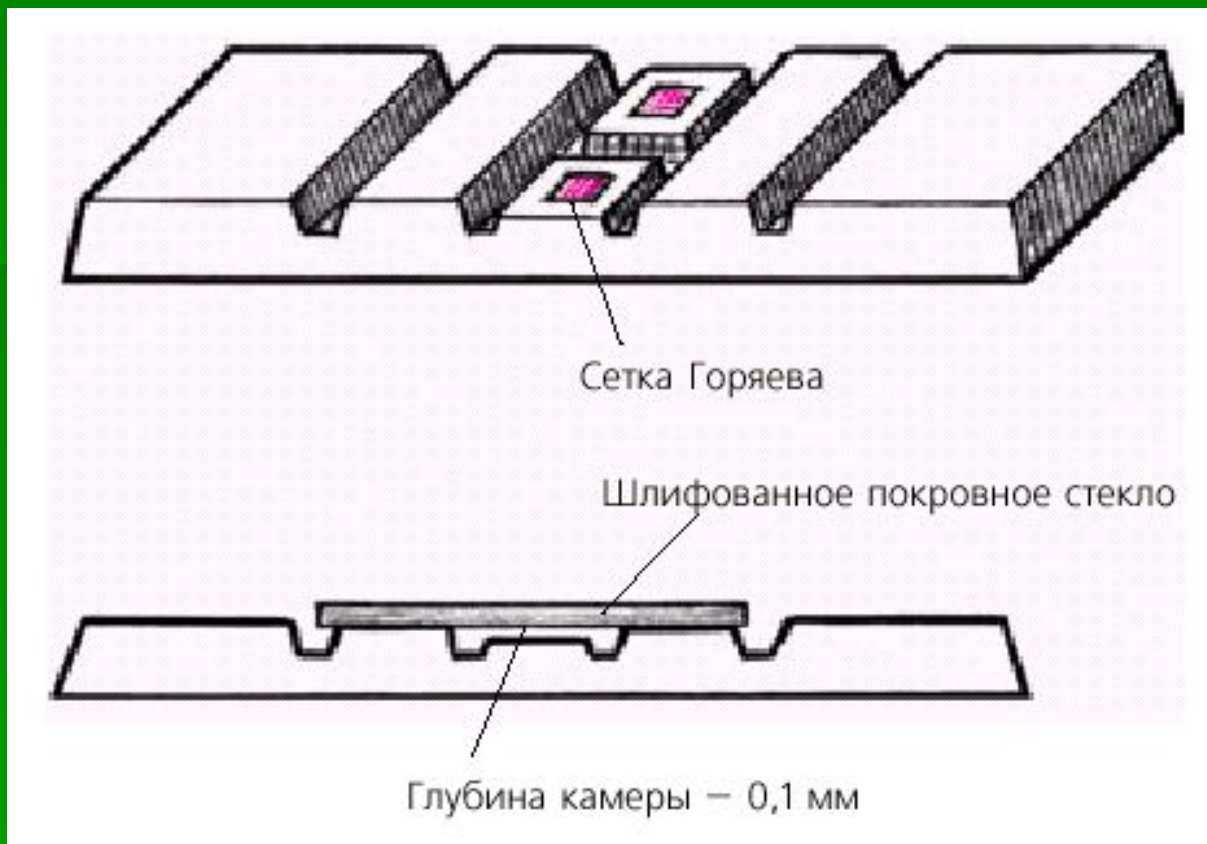
X – 1 мкл қандағы лейкоциттер саны;

a – 100 үлкен төртбұрыштардағы лейкоциттер саны;

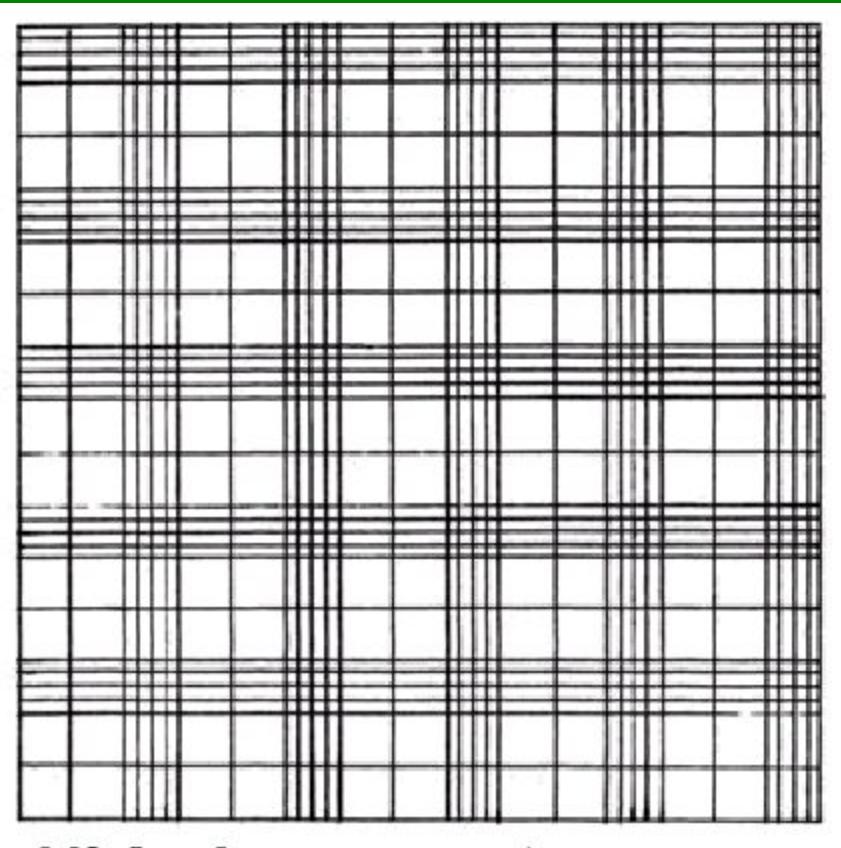
250 – бір үлкен төртбұрыштың көлемі;

20 – қанды араластыру дәрежесі;

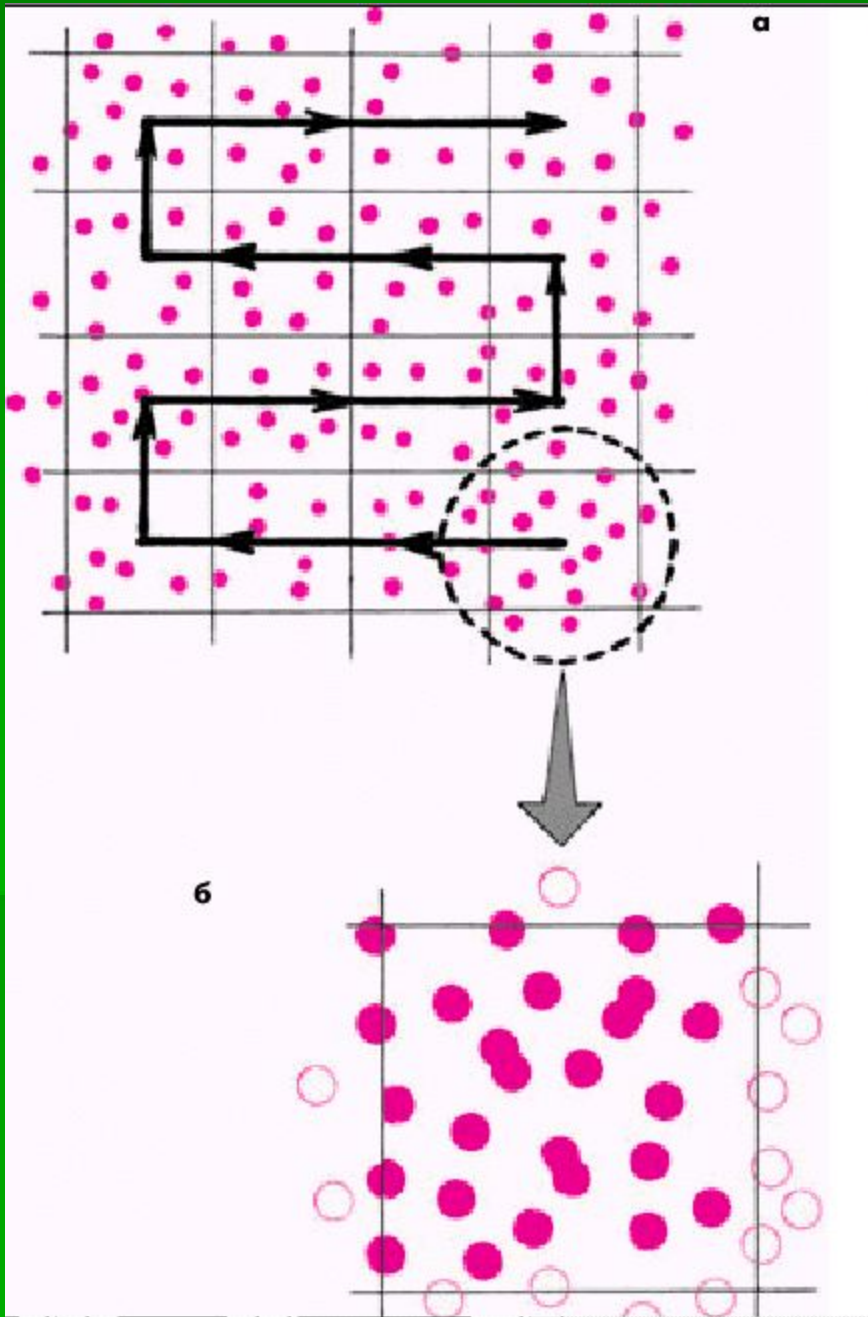
100 – лейкоциттердың саны анықталған кіші төртбұрыштардың саны



Есептеу камерасы ортасында 0,1 мм ойығы бар қалың шыны пластина. Камераның түбінде 2 Горяев торы орналасқан. Тордың жанынада тегіс шыны пластиналары бар, оның үстіне жапқыш шыны қойылады.



Әрбір Горяев торы 225 үлкен төртбұрыштардан тұрады, олардың 25 тағы да 16 кіші төртбұрыштарға бөлінген. Үлкен төртбұрыштың жаны 0,2 мм-ге тең, кіші төртбұрыштың жаны - 4 есе кем (0,05 мм). Сонымен, үлкен төртбұрыштың көлемі $0,04 \text{ мм}^2$ ($4 \times 10^{-2} \text{ мм}^2$), кіші төртбұрыштың көлемі - $0,0025 \text{ мм}^2$ ($25 \times 10^{-4} \text{ мм}^2$) құрайды.



Әрбір кіші төртбұрышта оның ішінде, төртбұрыштың сол және жоғары шегарасында орналасқан лейкоциттер саналады. Бұл бір лейкоцитті екі рет санап кетпеу үшін маңызды.

Адамның қалыпты лейкоциттік формуласының көрсеткіштері:

1 мкл-ғы лейкоциттер саны	Б	Э	Н				Лф	М
			Мц	Мтм	Тн	Сн		
6000	0-1%	2-4%	-	0-1%	3-5%	51-67%	21-35%	4-8%

Б – базофилдер

Э – эозинофилдер

Н – нейтрофилдер

Мц – миелоциттер

Мтм – метамиелоциттер

Тн – таяқша ядролы нейтрофилер

Сн – сегментті ядролы нейтрофилдер

Лф – лимфоциттер

М - моноциттер

Лейкоциттердің жасқа байланысты көрсеткіштері

Жасы	Лейкоциттер, мың/мкл	Жасы	Лейкоциттер, мың/мкл
12 сағат	13,0 - 38,0	2 жас	6,0 – 17,0
1 күн	9,4 – 34,0	4 жас	5,5 – 15,5
1 апта	5,0 – 21,0	6 жас	5,0 – 14,5
2 апта	5,0 – 20,0	8-12 жас	4,5 – 13,5
4 апта	5,0 – 19,5	14-16 жас	4,5 – 13,0
2 ай	5,5 – 18,0	18 жас	4,5 – 12,5
4-12 ай	6,0 – 17,5	20 жас	4,5 – 11,5
		Ересек адамдар	4,4 – 11,3

Лейкоцитоз

Физиологиялық лейкоцитоз:

ауырсыну, тоңу,
физикалық күш түсу,
эмоциялық күш түсу,
менструация, босану
кезінде, күн және
ультракүлгін
сәулелерінің әсері

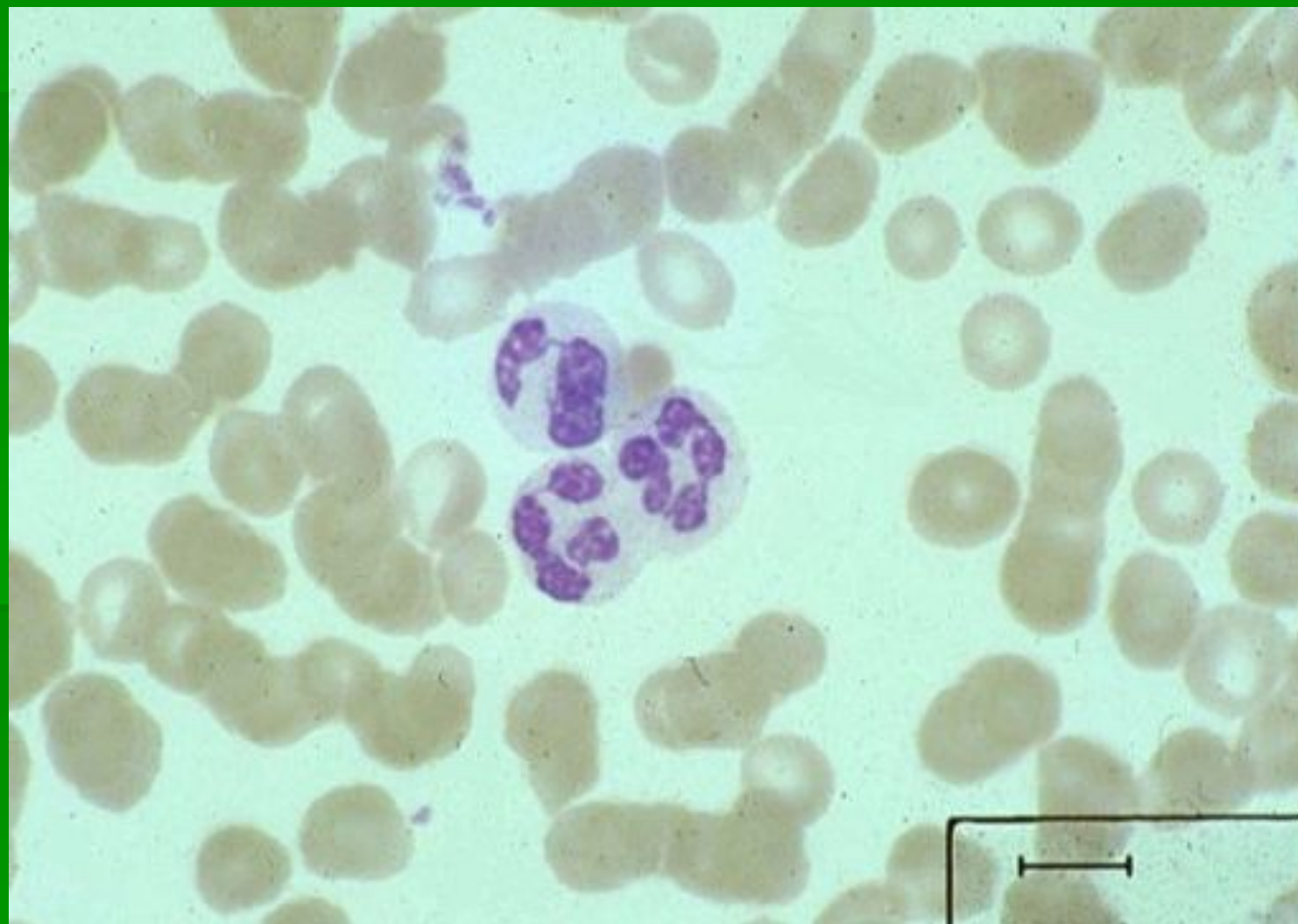
Патологиялық лейкоцитоз:

қабыну процестері,
жедел бактериялық
және
вирустық
инфекциялар,
күйік, травма, шок,
операциялар, қатерлі
ісіктер,
жедел лейкоздар

Лейкопения:

- Жүйелі қызыл жегі, ревматоидтық артрит
- Сульфаниламидтерді, левомецетинді, анальгетиктерді, стероидтық емес қабынуға қарсы дәрілік заттарды, тиреостатиктерді, цитостатиктерді қабылдау
- Иондық сәуленің әсері
- Лейкоздың кейбір түрлері (жедел лейкоздың алейкемиялық кезеңі және т.б.)
- Спленомегалия
- Сүйек кемігінің гипо- немесе аплазиясы
- Мегалобласттық анемиялар
- Анафилаксиялық шок
- Кахексия

Нейтрофил



Нейтрофилдердің (сегментті ядролы) жасқа байланысты көрсеткіштері

Жасы	Нейтрофилдер, %	Жасы	Нейтрофилдер, %
<2 апта	30 - 50	7-9 жас	41 - 60
2 апта - 1 жас	16 - 45	9-11 жас	43 - 60
1-2 жас	28 - 48	11-15 жас	45 - 60
2-5 жас	32 - 55	>15 жас	47 - 72
5-7 жас	38 - 58		

Таяқша ядролы нейтрофилдер: 1-5%

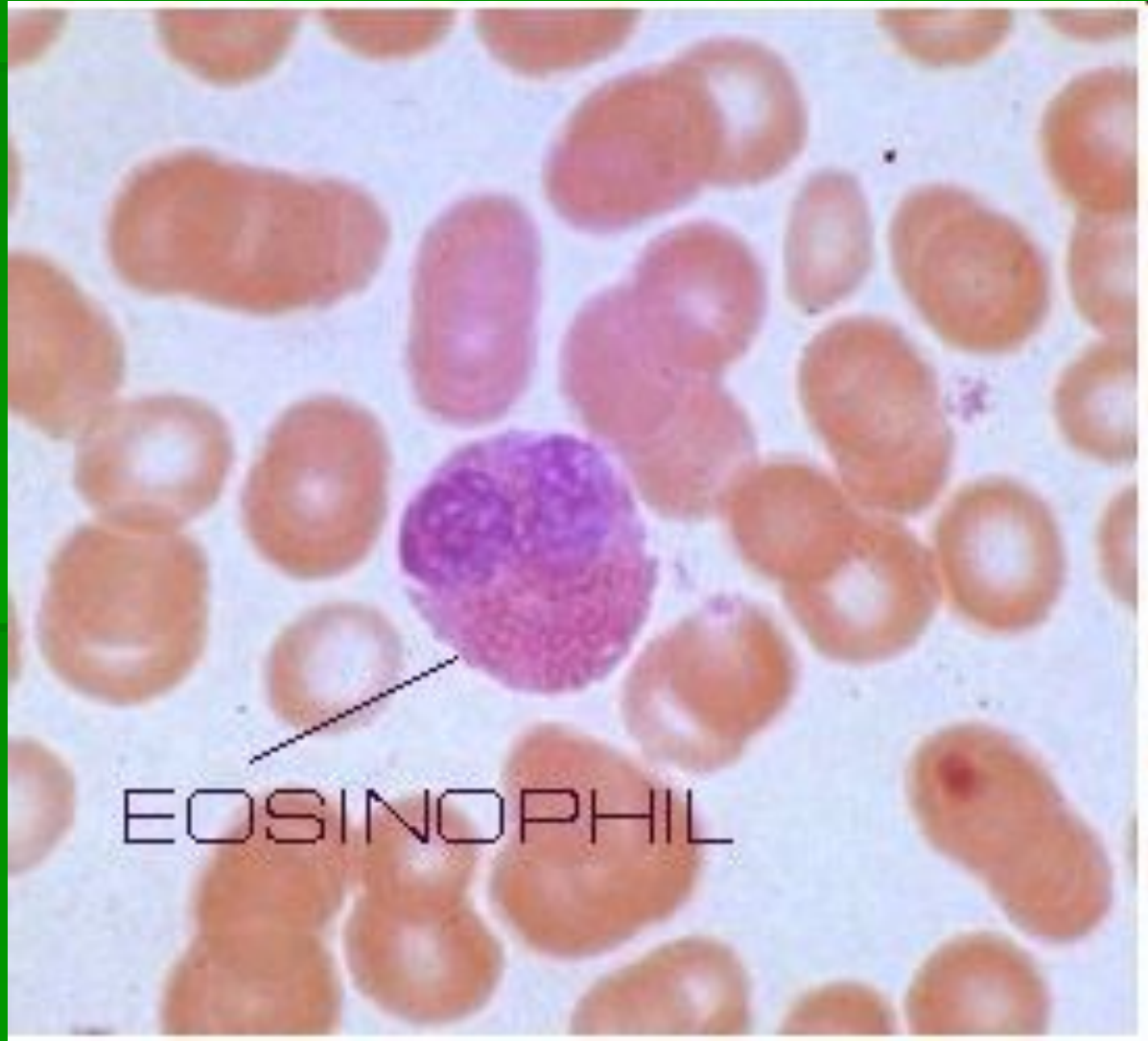
Нейтрофилез (нейтрофилия):

- Бактериялық, саңырауқұлақты, спирохетті, кейбір вирустық, риккетсиозды, паразиттік инфекциялар
- Қабыну процестері
- Операциядан кейінгі жағдай
- Ұлпалардың ишемиялық некроздалуы
- Эндогенді интоксикациялар (қант диабеті, уремия, эклампсия, гепатоциттердің некроздалуы)
- Физикалық және эмоциялық күш түсу, стресс, ыстық пен суықтың әсері, ауырсыну, күйік, босану, жүктілік, қорқу, ашулану, қуану
- Қатерлі ісіктер
- Кейбір дәрілік заттарды қабылдау, мысалы, кортикостероидтар, гепарин, ацетилхолин
- Қорғасынмен, инсектицидтермен улану

Нейтропения:

- Кейбір бактериялық (іш сүзегі, паратиф, бруцеллез), вирустық (грипп, қызылша (корь), желшешек (ветряная оспа), вирустық гепатит, қызамық (краснуха)) инфекциялар, егде жасатағы және әлсіз адамдарда ұзаққа созылған инфекциялар
- Қан жүйесінің аурулары
- Гиперспленизм
- Туа біткен нейтропения
- Чедиак-Хигаси синдромы
- Дәрілік нейтропения

Эозинофил



Эозинофилдердің жасқа байланысты көрсеткіштері

Жасы	Эозинофилдер, %
<2 апта	1 - 6
2 апта - 1 жас	1 – 5
1-2 жас	1 – 7
2-5 жас	1 – 6
>5 жас	1 – 5

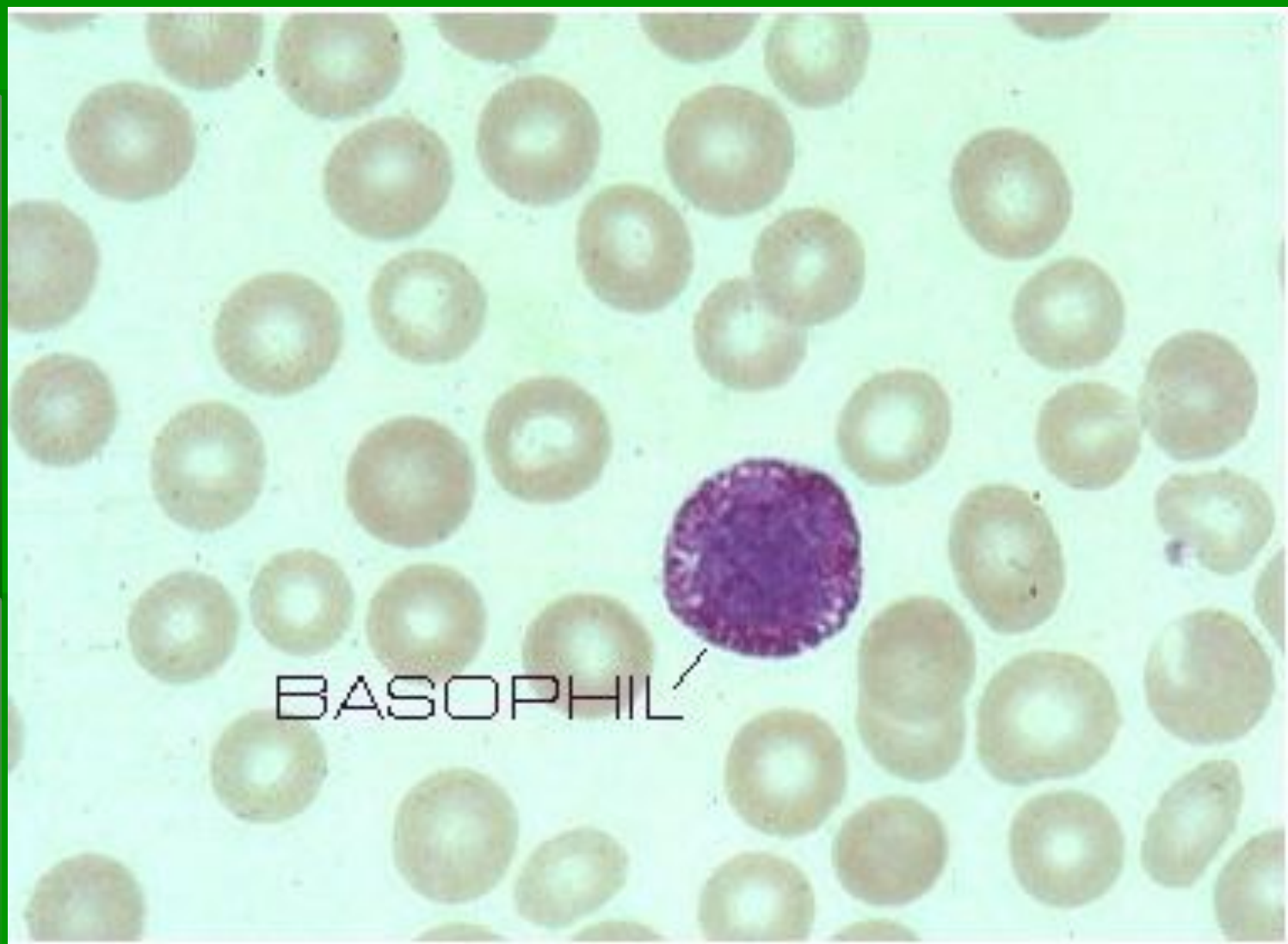
Эозинофилия:

- Организмнің аллергиялық сенсibiliзациялануы
- Дәрілік аллергия
- Тері аурулар (экзема, герпес тәрізді дерматит)
- Паразиттік инвазиялар (лямблиоз, эхинококкоз, аскаридоз, трихинеллез, описторхоз, т.б.)
- Жұқпалы аурулардың жедел кезеңі (скарлатина, желшешек, туберкулез, жұқпалы моноклеоз, гонорея)
- Қатерлі ісіктер (әсіресе метастаздалған және некроздалған).
- Қан түзу жүйесінің пролиферативті аурулары (лимфогрануломатоз, миелопролиферативті аурулар, спленэктомиядан кейінгі жағдай, гиперэозинофилді синдром)
- Дәнекер ұлпаның қабынуы (түйінді периартериит, ревматоидтық артрит, жүйелі склеродермия)

Эозинопения:

- Қабыну ауруының бастапқы кезеңі
- Ауыр іріңді инфекциялар
- Шок, стресс
- Өртүрлі химиялық қосындылармен, ауыр металдармен улану

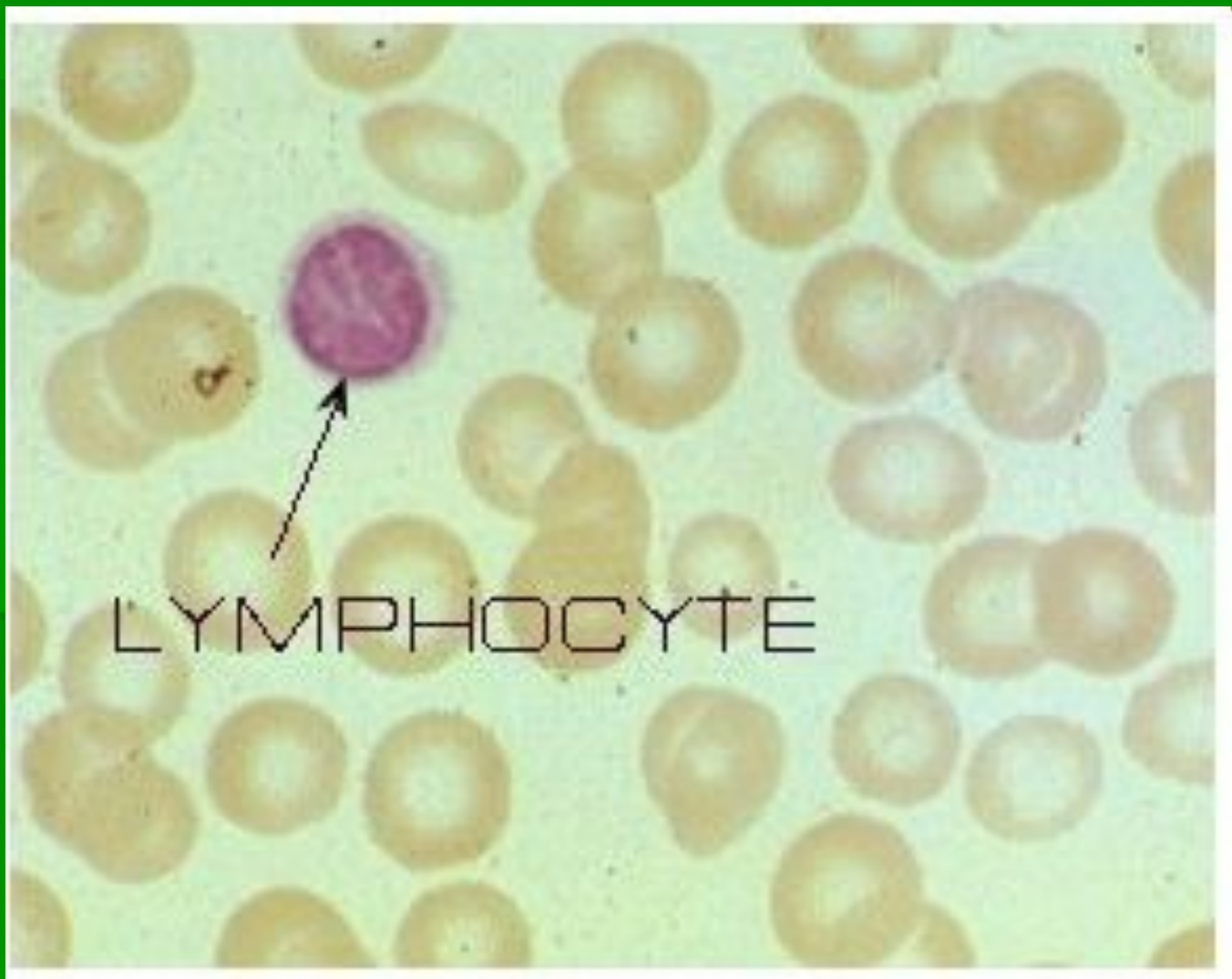
Базофил – 0-1%



Базофилия:

- Желшешек
- Тағамдық және дәрілік заттарға жоғары сезімталдық
- Бөгде ақуызға қарсы реакция
- Нефроз
- Созылмалы гемолизистік анемия
- Спленэктомиядан кейінгі жағдай
- Ходжкин ауруы
- Созылмалы миелолейкоз
- Микседема (гипотиреоз)

Лимфоцит



Лимфоциттердің жасқа байланысты көрсеткіштері

Жасы	Лимфоциттер, %	Жасы	Лимфоциттер, %
<2 апта	22 - 55	6-8 жас	30 – 50
2 апта - 1 жас	45 – 70	9-15 жас	30 – 46
1-2 жас	37 – 60	>15 жас	19 - 37
2-5 жас	33 – 55		

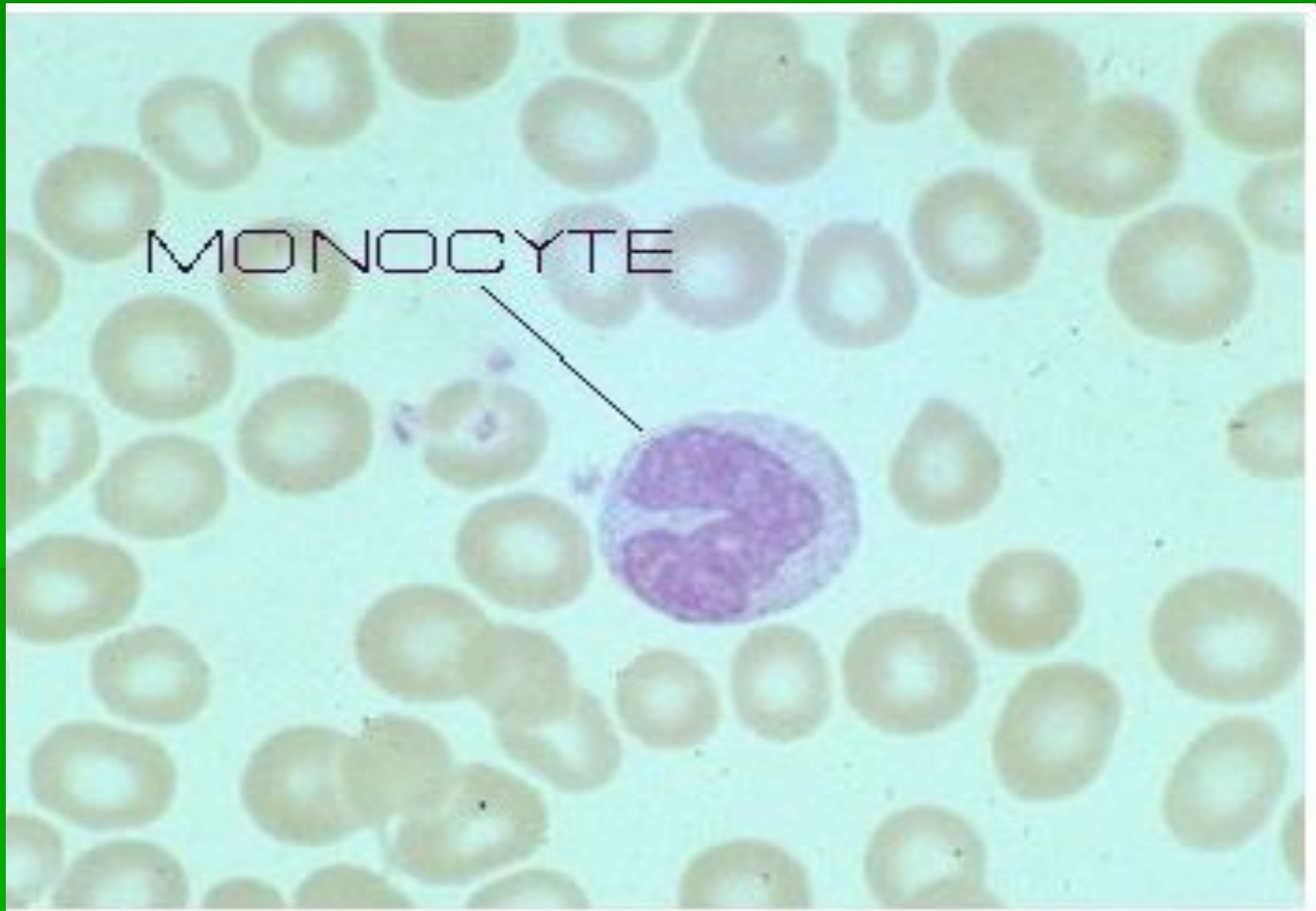
Лимфоцитоз:

- Жұқпалы аурулар: жұқпалы мононуклеоз, вирустық гепатит, цитомегаловирустық инфекция, көкжөтел, жедел респираторлық вирустық инфекция, токсоплазмоз, герпес, қызамық, АИВ-инфекция
- Қан жүйесінің аурулары: созылмалы лимфолейкоз, лимфома
- Тетрахлорэтанмен, қорғасынмен, мырышпен улану
- Кейбір дәрілік заттардың әсері: леводопа, фенитоин, наркотикалық анальгетиктер

Лимфопения:

- Жедел инфекциялар
- Милиарлы туберкулез
- Лимфогрануломатоз
- Жүйелі қызыл жегі
- Бүйрек жетіспеушілігі
- Қатерлі ісіктердің терминалді кезеңдері
- Иммунтапшылықтар
- Рентгенотерапия
- Дәрілік заттар: хлорамбуцил, аспарагиназа, глюкокортикоидтар, антилимфациттік сары су

Моноцит



Моноциттердің жасқа байланысты көрсеткіштері

Жасы	Моноциттер, %
<2 апта	5 - 15
2 апта - 1 жас	4 – 10
1-2 жас	3 – 10
2-15 жас	3 – 9
>15 жас	3 - 11

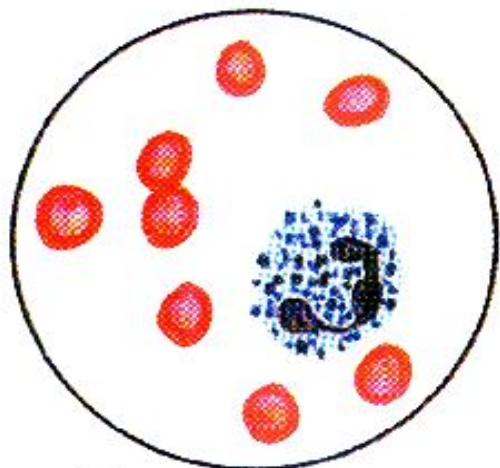
Моноцитоз:

- Вирустық, саңырауқұлақты, протозойлы, риккетсиозды инфекциялар
- Грануломатоздар: туберкулез, сифилис, бруцеллез, саркаидоз
- Жүйелі коллагеноздар: ревматоидтық артрит, түйінді периартрит
- Қан жүйесінің аурулары: созылмалы моноциттік және миеломоноциттік лейкоз, лимфогрануломатоз
- Фосформен, тетрахлорэтанмен улану

Моноцитопения:

- Апластикалық анемия (сүйек кемігінің зақымдануы)
- Лейкоз
- Пиогенді инфекциялар

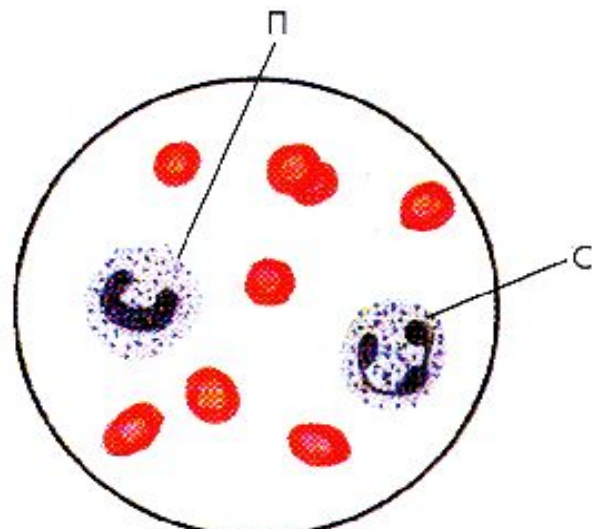
ГРАНЦЛОЦИТЫ



Базофил

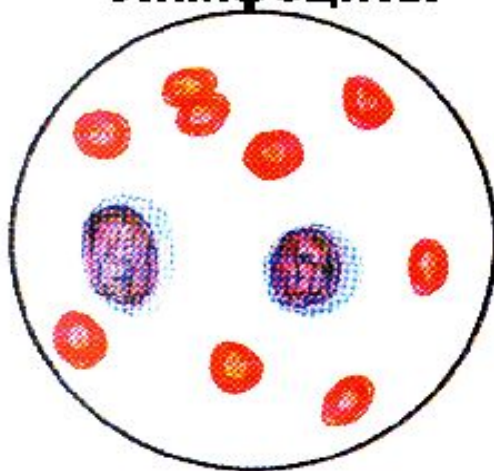


Эозинофилы

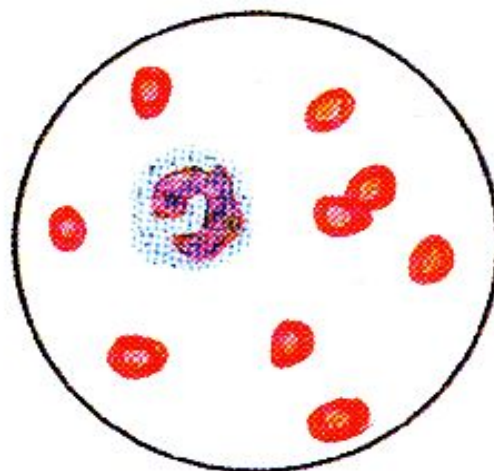


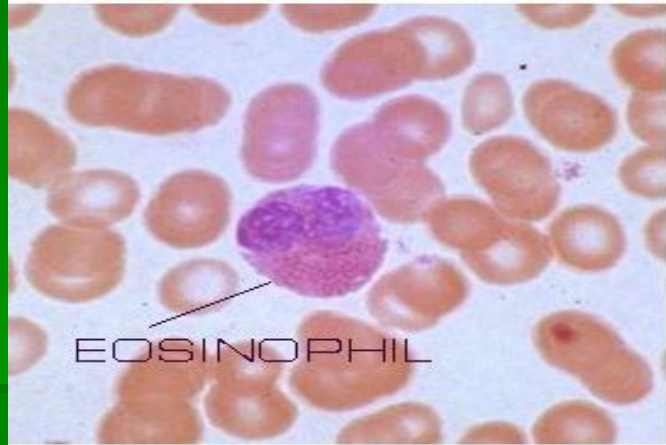
Нейтрофилы

Лимфоциты

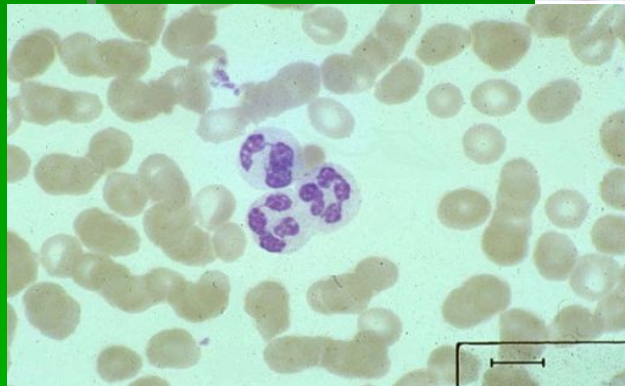


Моноцит





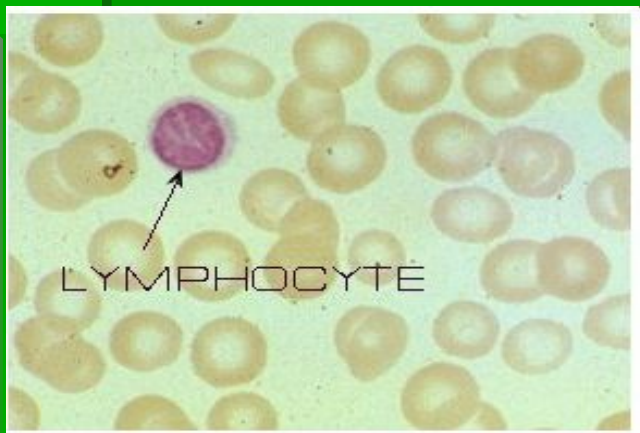
Эозинофил



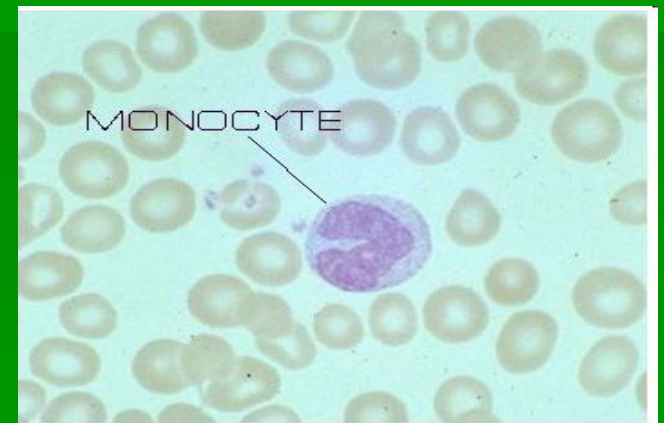
Нейтрофил



Базофил



Лимфоцит



Моноцит

Иммундық статус – бұл иммундық жүйе жағдайының кешенді көрсеткіші, иммундық жүйе мүшелерінің функционалдық белсенділігінің сандық және сапалық сипаттамасы

Иммундық статусты бағалауға көрсеткіштер:

- Адамның денсаулық жағдайын (денсаулық куәлігін) зерттеу
- Иммундық жүйенің біріншілік және екіншілік тапшылықтары
- Жедел және созылмалы бактериялық, вирустық, паразиттік инфекциялар
- Аутоиммундық ауруларды диагностикалау
- Аллергиялық аурулар
- Қатерлі, иммунопролиферациялық ауруларды диагностикалау
- Іріңді-қабыну процестердің барысын бақылау (мониторинг)
- Иммуносупрессиялық, иммуностимуляциялық терапия бақылау
- Ұлпалар мен мүшелерді көшіруге донорларды таңдау және трансплантациядан кейінгі асқынуларды диагностикалау

Лейкограмманы сараптау ережелері:

1. Лейкограмманы кешенді талдау әрбір көрсеткіштерді бөлек бағалағаннан аса ақпаратты болып табылады
2. Лейкограмманы талдау клиникалық көріністерді байқаумен бірге жүргізіледі
3. Иммунограмманы бір рет бағалағаннан динамикада зерттеген өте маңызды: аурудың басында, емдеу барысында және емдеу аяқталғаннан кейін
4. Диагностика үшін науқастың жеке денсаулық куәлігі мен өмір сүретін ортасы маңызды: радиация аймағы

Иммунитеттің Т-жүйесін бағалаудың зертханалық әдістері

Иммунитеттің Т-жүйесін бағалаудың 1-деңгейдегі сынамалары:

- Лимфоциттердің жалпы санын анықтау
- Жетілген Т-лимфоциттердің (CD3) және екі негізгі субпопуляцияларының (хелпер/индуктор CD4 және киллер/супрессор CD8) пайызы мен абсолюттік санын анықтау

Иммунитеттің Т-жүйесін бағалаудың 2-деңгейдегі сынамалары:

- Цитокиндердің (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, гамма-интерферон, ИНФ және т.б.) бөлінуін анықтау
- Т-лимфоциттердің беткей мембранасындағы белсенді молекулаларды анықтау
- Адгезия молекулаларын анықтау
- Тері сынамалары арқылы аллергиялық реакцияларды анықтау

Иммунитеттің Т-жүйесін бағалаудың әдістері:

- Е-розетка түзу (Е-РОК)
- Теофилинмен жүтеме жасау әдісі: Т-хелперлер мен Т-супрессорларды анықтау әдісі
- Лимфоциттердің бласты трансформациялану реакциясы (РБТЛ)
- Лейкоциттердің миграциялануын тежеу реакциясы (РТМЛ)
- Цитокиндердің өндірілуін анықтау

Т-лимфоциттердің ерекшеліктері:

1. Бласты трансформациялануға қабілетті
2. Мембранасында қой эритроциттеріне рецепторлар бар
3. Иммуноглобулиндердің Fc-фрагментіне рецепторлары бар, Т-супрессорларда IgG Fc-фрагментіне және теофиллинге, ал Т-хелперлерде IgM Fc-фрагментіне рецепторлар бар

Т-лимфоциттердің санын анықтау

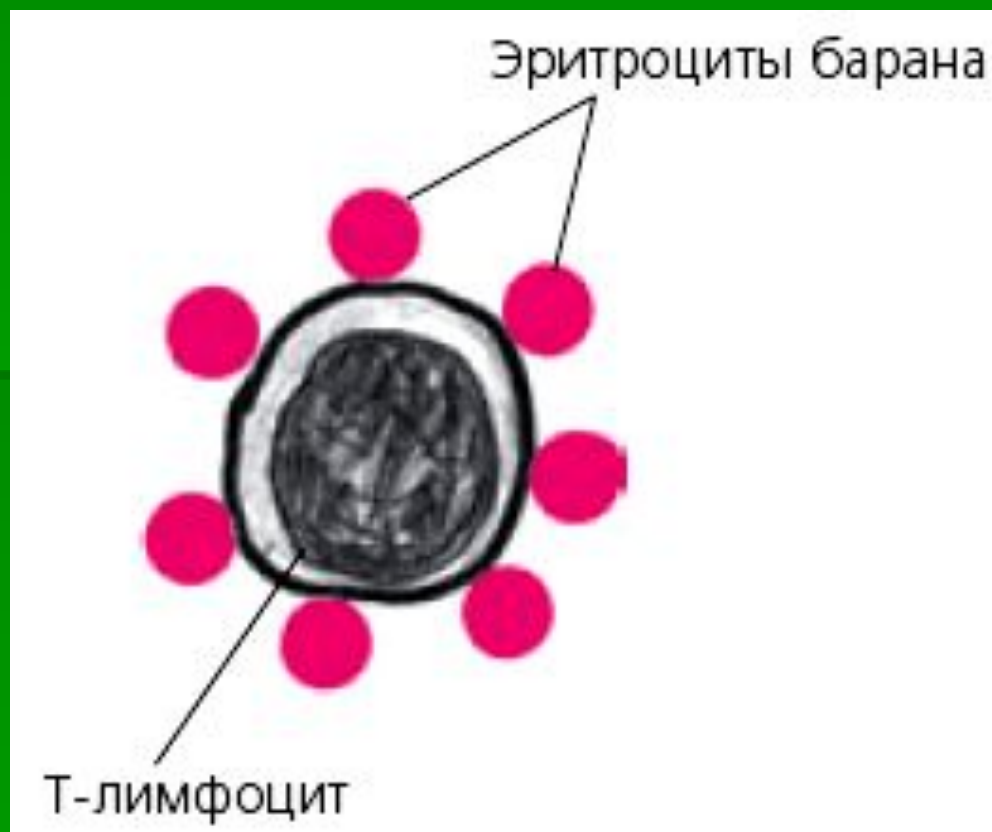
1. науқастың 10 мл қаны гепарині бар пробиркаға алынады
2. фиколл-верографин (лимфоциттерді бөліп алу үшін) қоспасына жаймен құйылады
3. центрифугада айналдырылады
4. эритроциттер пробирканың түбіне шөгеді, ал лимфоциттер фиколл-верографин және плазманың шегарасында жіңішке қабат болып орналасады
5. лимфоциттер қабаты жаймен алынады
6. $2-4 \times 10^9$ /мл концентрациясына дейін жеткізіледі
7. 1:1 қатынаста қой эритроциттері қосылады
8. 10 минут 37°C температурада инкубацияланады
9. қайта центрифугада айналдырылады
10. бірнеше сағатқа 4°C мұздатқышқа салынады
11. Горяев камерасында люминесцентті микроскоп астында лимфоциттердің абсолюттік саны есептеледі

Т-лимфоциттердің қалыпты деңгейі – лимфоциттердің жалпы санының 50-70% құрайды.



Центрифуга

Розетка түзу сынамасы – бұл шеткі қандағы Т-лимфоциттердің санын анықтау әдісі. Әдіс Т-лимфоциттердің барлық субпопуляцияларында қой эритроцитіне рецепторлардың болуымен және Т-лимфоциттердің олармен тығыз байланысу (розетка) қабілетінің болуымен негізделеді



Белсенді Т-лимфоциттерді анықтау

Белсенді Т-лимфоциттер – бұл
инкубациясыз розетка түзе алатын
жасушалар

Қалыпты жағдайда шеткі қанда **23-40%**
белсенді Т-лимфоциттер анықталады

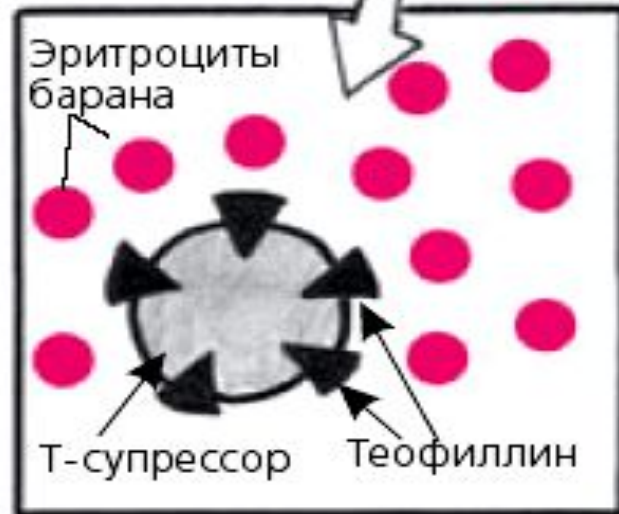
Т-лимфоциттердің субпопуляцияларын анықтау

1. Әдіс теofilлинге сезімтал және резистентті лимфоциттерді анықтауға негізделеді.
2. Т-супрессорлардың мембранасында теofilлинге рецепторлар бар (теofilлинге сезімтал жасуша), олар теofilлинмен байланысқан кезде қой эритроциттерімен розетка түзу реакциясын тежейді.
3. Т-хелперлерде мұндай рецепторлар жоқ (теofilлинге резистентті жасуша), сондықтан теofilлинді қосқан жағдайда да бұл жасушалар қой эритроциттерімен розетка түзеді.

Қалыпты жағдайда Т-супрессорлар мен Т-хелперлердің 1:3 қатынаста болады.

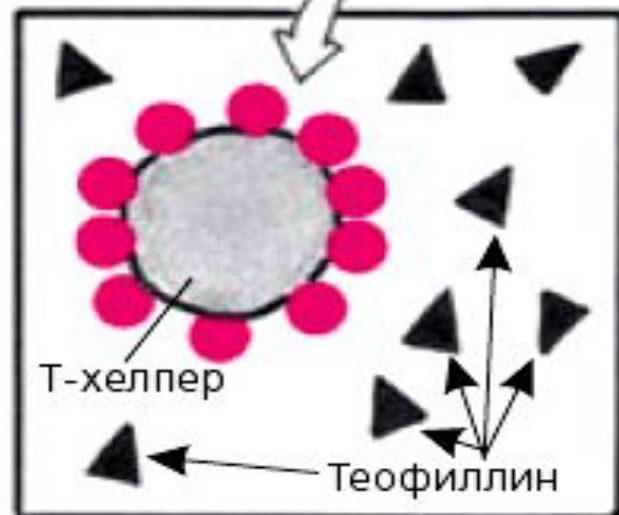
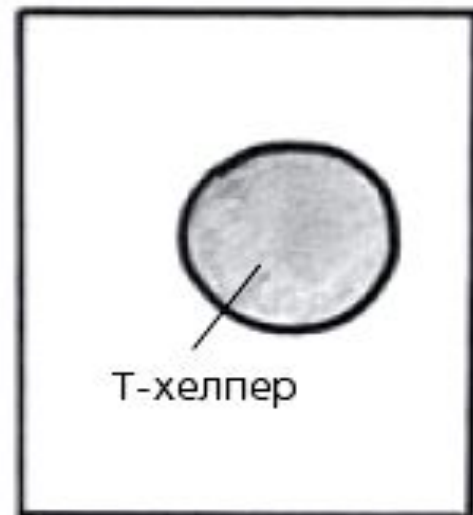
Эритроциты барана + теофиллин

а

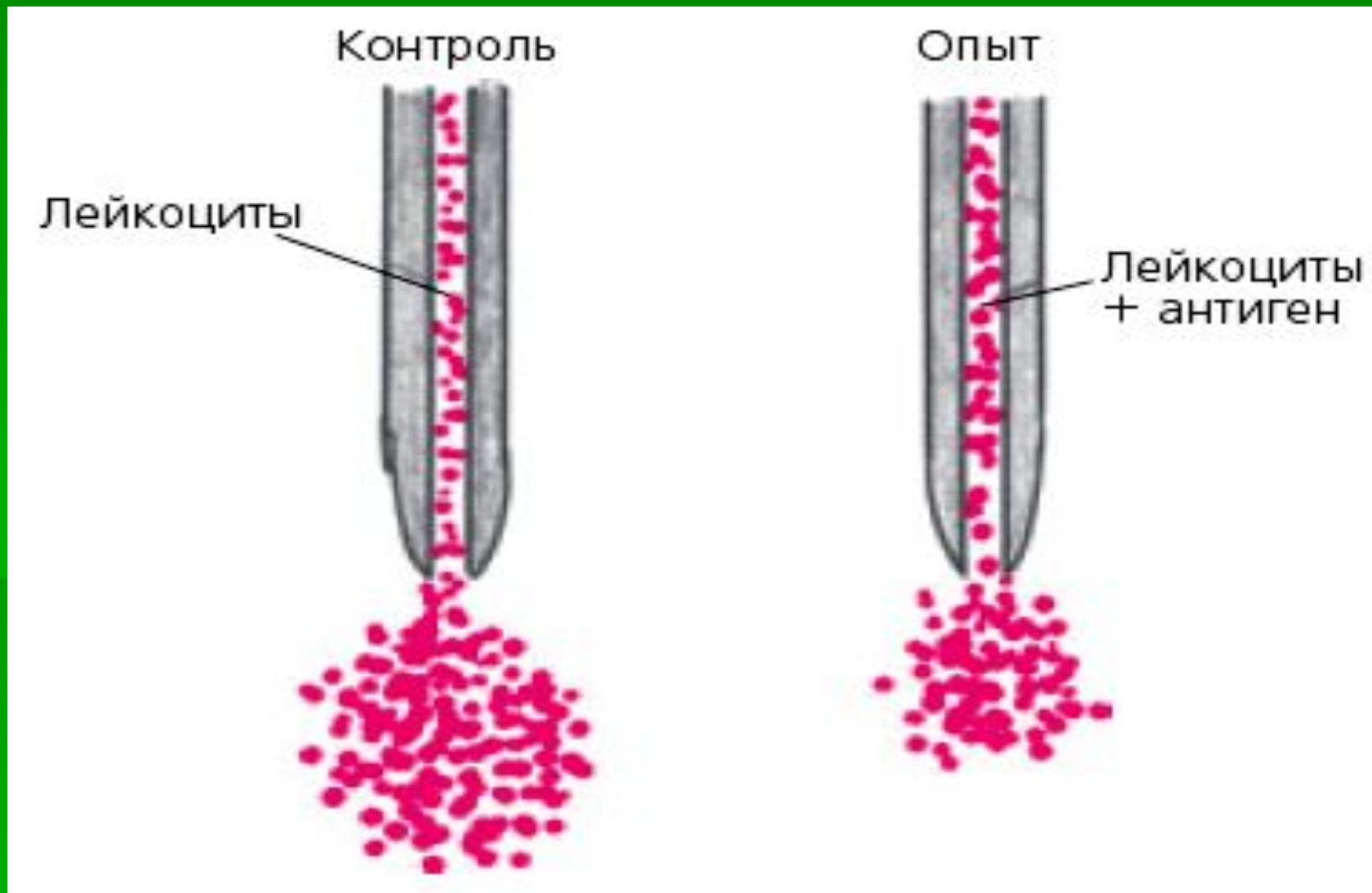


Эритроциты барана + теофиллин

б



Лейкоциттердің миграциялану тежеу реакциясы



Иммунитеттің В-жүйесін бағалаудың зертханалық әдістері

Иммунитеттің В-жүйесін бағалаудың 1-деңгейдегі сынамалары:

- Шеткі қандағы В-лимфоциттердің пайызы мен абсолюттік санын анықтау
- Сары суда G, M, A, E иммуноглобулиндерін анықтау

Иммунитеттің В-жүйесін бағалаудың 2-деңгейдегі сынамалары:

- G иммуноглобулиндерінің субкластарын анықтау
- Секреторлық IgA анықтау
- Ақуызды және полисахаридті антигендерге қарсы спецификалық антиденелерді анықтау
- Пролиферативті қабілетін анықтау

Иммунитеттің В-жүйесін бағалаудың әдістері:

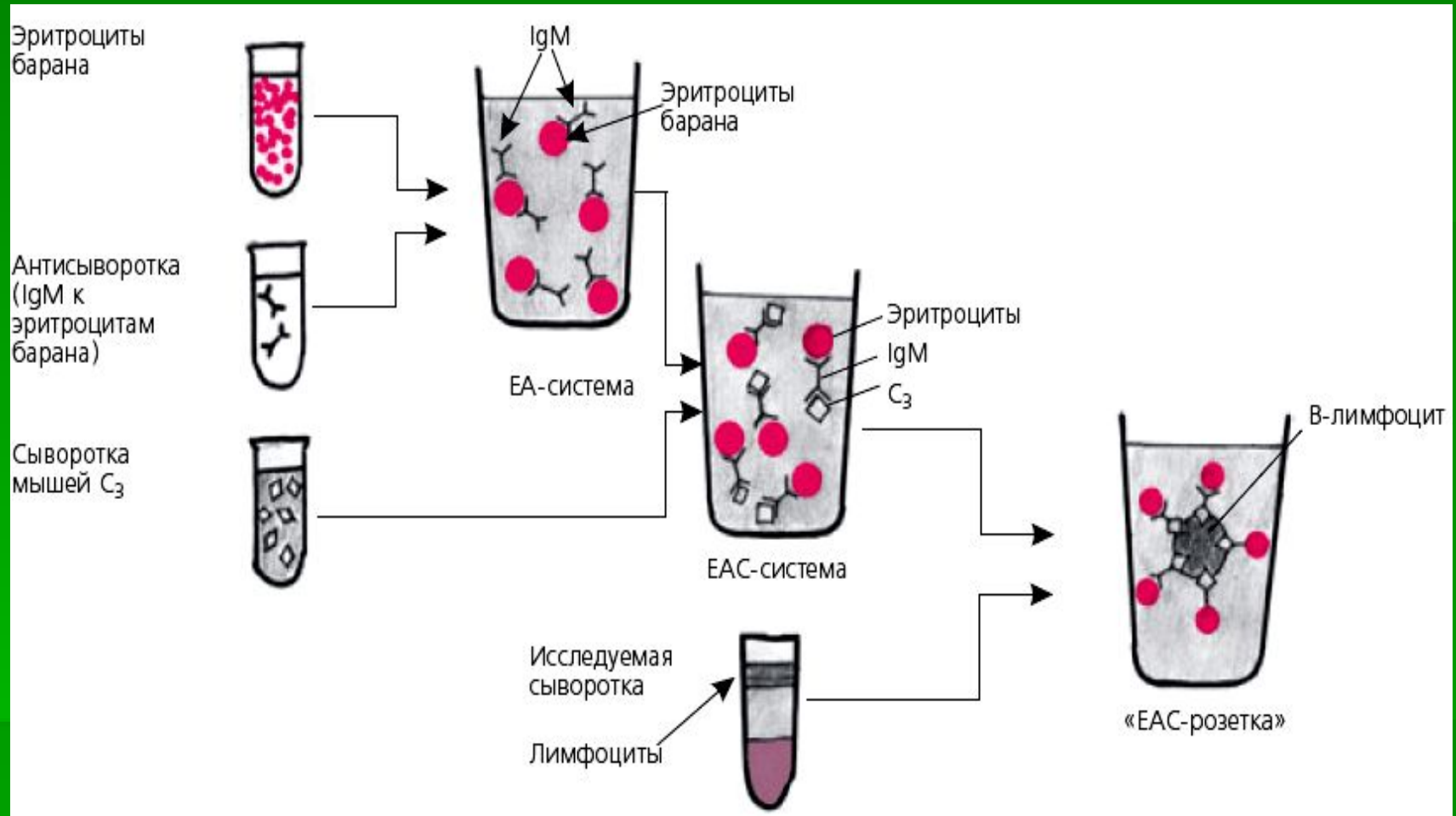
- ЕАК-розетка түзу (ЕАК-РОК)
- ЕТ-розетка түзу (ЕТ-РОК)
- Манчини реакциясы: А, М, G иммуноглобулиндері деңгейін анықтау әдісі
- ИФА: Е иммуноглобулин деңгейін анықтау әдісі
- ИФА: жұқпалы және жұқпалы емес антигендерге қарсы спецификалық антиденелерді анықтау
- Циркуляциядағы иммундық комплекстерді анықтау (ЦИК)

В-лимфоциттердің санын анықтау

В-лимфоциттердің санын анықтау әдісі бұл жасушалардың бетінде иммуноглобулиндерге және комплементке спецификалық рецепторлардың болуымен негізделеді.

Шеткі қанда қалыпты жағдайда В-лимфоциттер 30-35% құрайды.

ЕАК-розетка түзу сынамасы

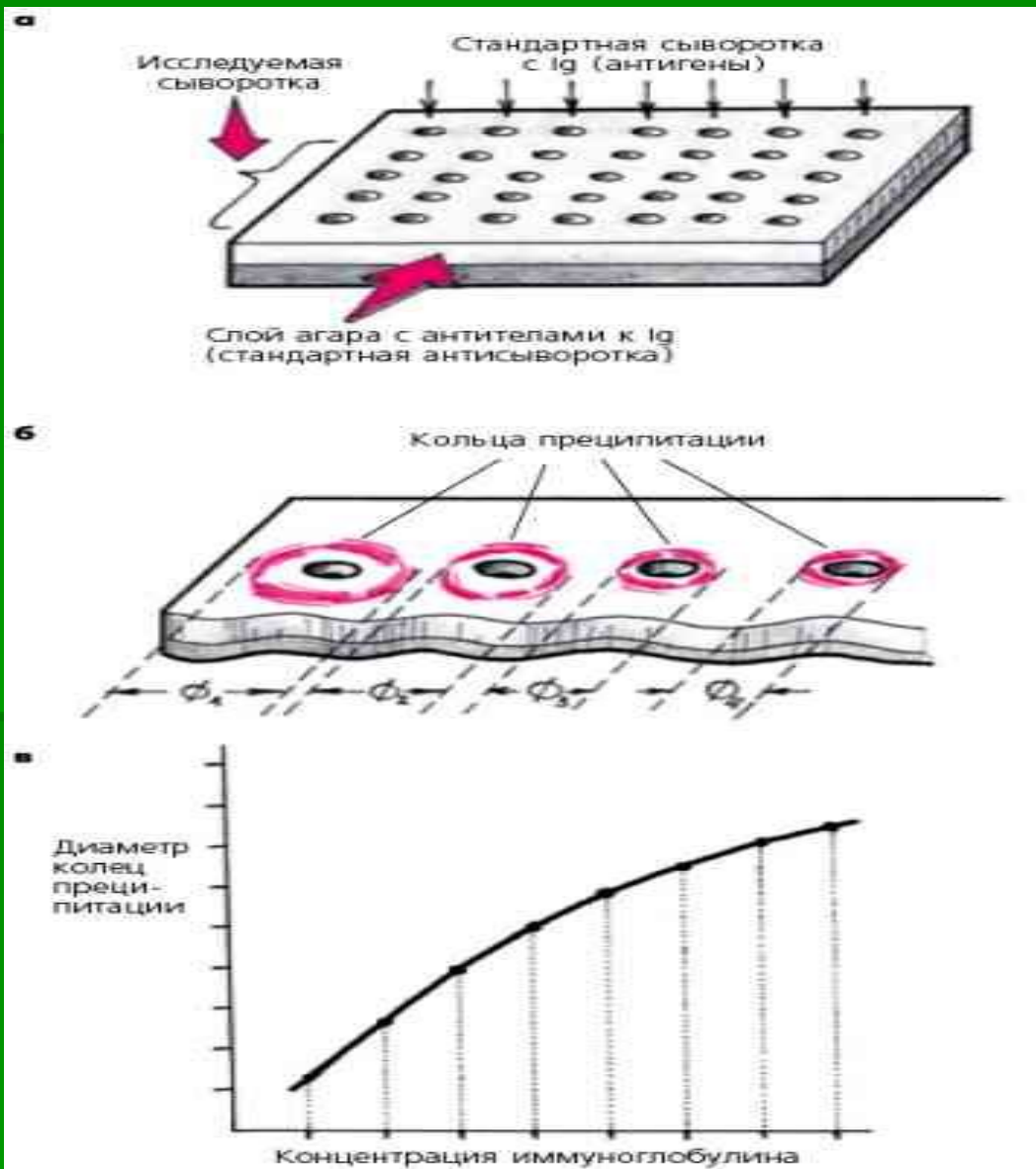


Реакцияны қоюға қой эритроциттеріне қарсы антиденелері (IgM) бар анти сары су (қоянды қой эритроциттерімен иммунизациялау арқылы алынады) және құрамында компонент бар тышқанның сары суы қажет.

Спецификалық гуморалдық иммунитетті зерттеу:

- Қан сары суында әртүрлі иммуноглобулиндердің құрамын анықтау (радиалді иммунодиффузия (РИД))
- Спецификалық антиденелердің құрамын анықтау
- Циркуляциядағы иммундық комплекстерді анықтау

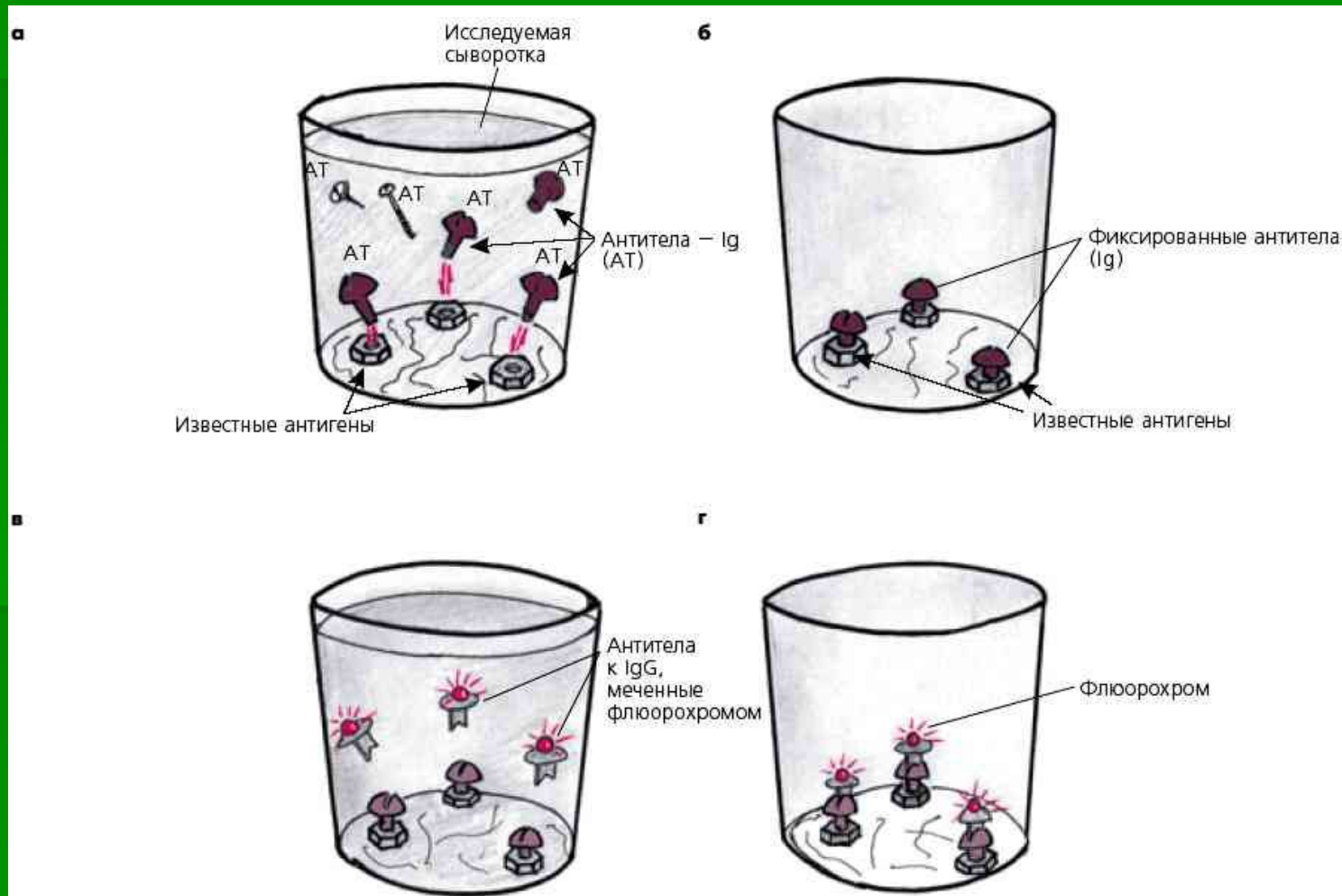
Радиалді иммунодиффузия әдісі



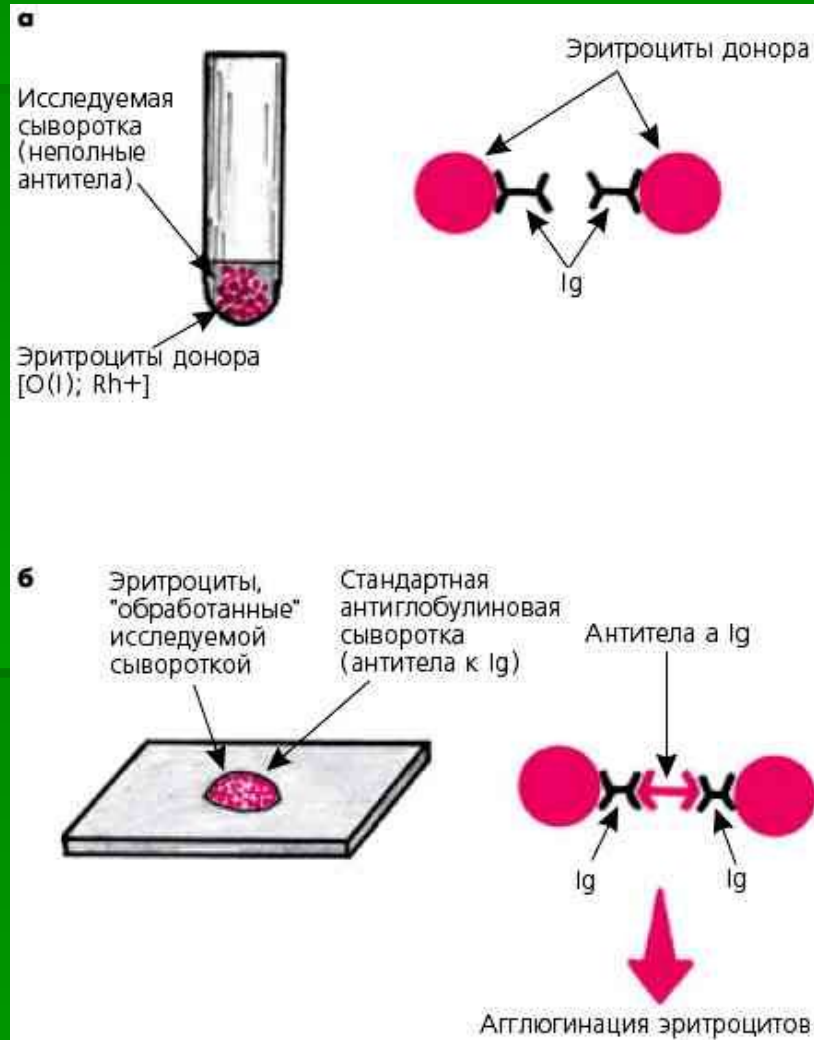
Иммуноглобулиндердің орташа құрамы (ересек адамдарда)

Ig	Қан сары суында мөлшері	%
Ig M	0,5-1,9 г/л	6%
IgG	8-16,8 г/л	75-80%
IgA	1,4-4,2 г/л	13%
IgE	0,00005-0,00003 г/л	0,002%
IgD	0,03-0,04 г/л	1%

Спецификалық антиденелердің құрамын анықтау

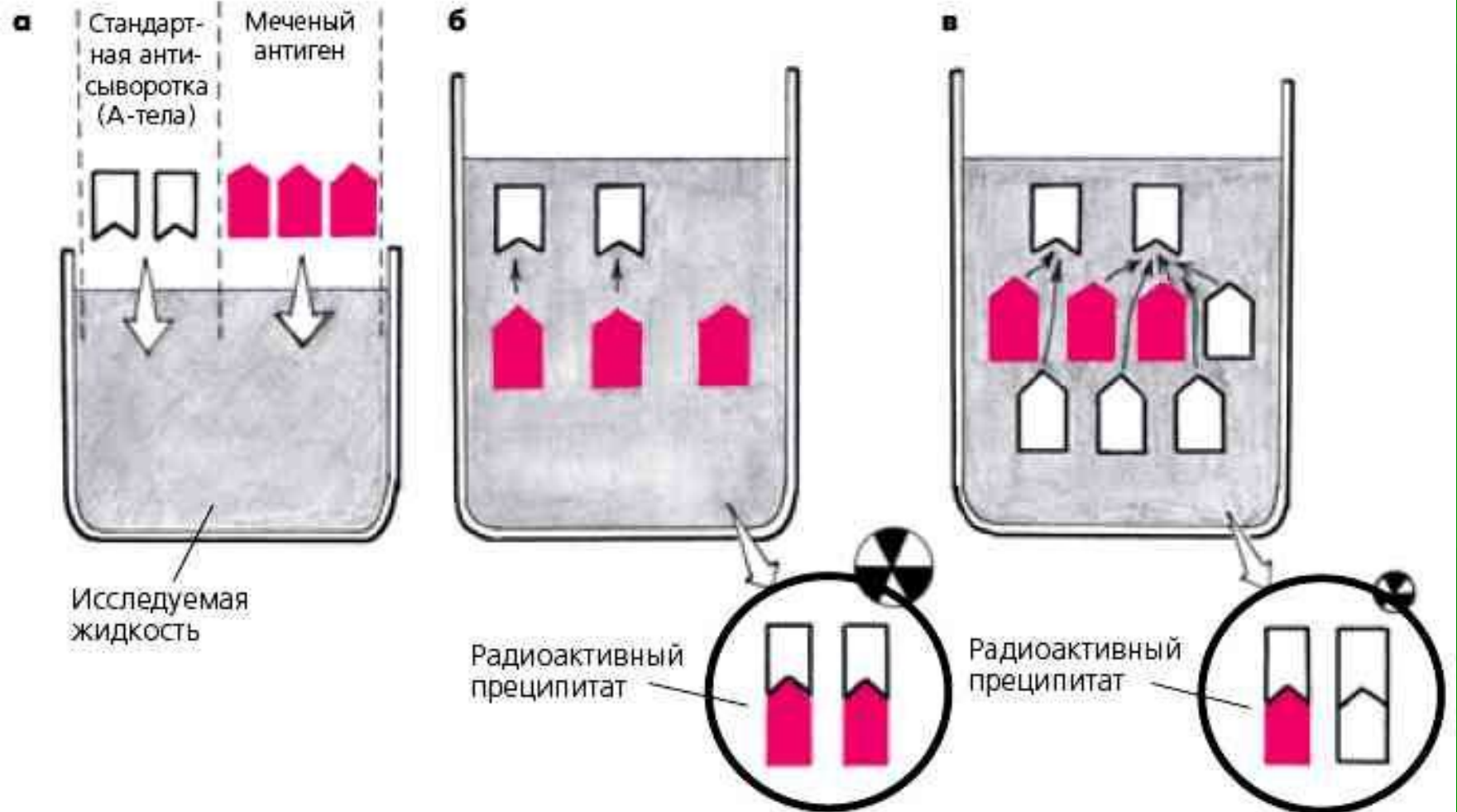


Эритроциттерге қарсы антиденелерді анықтау (Кумбс реакциясы)



Иммундық комплекстерді анықтау

Радиоиммундық әдіс



ЕСЕП 1

Науқас әйел 34 жаста. Қан қысымы жоғарылауына және басының ауруына байланысты 8 күн бойы анальгин, аминазин және резерпиннің жалпы 60 таблеткасын қабылдаған.

Кенеттен жалпы жағдайы нашарлап, дене қызуы көтерілген, жалпы әлсіздік және жұтынғанда тамағында ауырсыну пайда болған. Қан сараптамасын жүргізгенде Эр – $3,9 \times 10^{12}$ /л, Нв – 130 г/л, ЦП – 0,9, Тр – 210×10^9 /л, Л – $0,9 \times 10^9$ /л, лейкоциттік формулада: Сн – 12%, Лф – 73%, М – 15% анықталды.

Өзгерістердің түзілуінің механизмі қандай?

ЕСЕП 2

Науқас 52 жаста. Ауруханаға миокард инфаркты диагнозымен алынған. Түскен кезіндегі қан сараптамасында Эр – $4,4 \times 10^{12}$ /л, Нв – 125 г/л, ЦП – 0,95, Тр – 240×10^9 /л, Л – 18×10^9 /л. Лейкоциттік формулада: Б – 1%, Э – 2%, МТМ – 5%, ТН – 13%, Сн – 55%, Лф – 16%, М – 8% анықталды.

Науқаста қандай гематологиялық және иммунологиялық өзгерістер анықталып отыр?

ЕСЕП 3

Науқастың қанына сараптама жасағанда лейкоциттік формулада келесі өзгерістер байқалды: Б – 0, Э – 0, МТМ – 0, Тн – 1%, Сн – 16%, Лф – 72%, М – 11%.

Лейкоциттік формуладағы көрсеткіштерді түсіндіріңіз және қандай патология болуы мүмкін?