

УДК:616.097.001.8

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СЕКРЕТОРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А В РОТОГЛОТОЧНОМ СЕКРЕТЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЛЮДЕЙ, ПРОВЕДЕННОЕ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ И РЕАКТИВАМИ***МЕЛЬНИКОВ О.Ф., ТИМЧЕНКО М.Д., ЗАБОЛОТНАЯ Д.Д.,  
БРЕДУН А.Ю., РЫЛЬСКАЯ О.Г.*

ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко НАМН Украины»

Секреторный иммуноглобулин класса А (sIgA) является одним из основных гуморальных факторов защиты слизистых оболочек не только от различных микроорганизмов, но и принимает активное участие в формировании аллергических реакций [3, 4, 5, 7, 9, 10, 12] поэтому его определение в различных секретах организма имеет важное значение для формирования представлений об уровне локального иммунитета и даже о системной иммунной недостаточности [5]. При анализе значительного числа работ по изучению этого иммуноглобулина в ротоглоточном секрете обращает на себя внимание высокие уровни флюктуации значений этого иммуноглобулина при определении его концентрации с использованием различных методических подходов [1, 4]. Можно считать целесообразным проведение исследований для сравнения чувствительности различных методов и наборов от различных производителей реактивов для большей стандартизации методов исследования уровня sIgA в секретах организма человека. Определение уровня этого белка в ротоглоточном секрете (РГС) методами современной иммунологии и с использованием наборов реактивов от различных фирм-производителей и определило цель работы.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

В качестве материала для исследований использовали РГС и сыворотку крови от 10 практически здоровых доноров и 12 человек с хроническим заболеванием верхних дыхательных путей в стадии клинической ремиссии (5 больных с хроническим тонзиллитом и 7 человек с хроническим катаральным ринитом). Возраст обследуемых в обеих группах был от 8 до 22 лет.

Ротоглоточный секрет получали натощак без чистки зубов и прополаскиваний ротовой полости, как это рекомендовано в методических рекомендациях по исследованию ротоглоточного секрета (Д.І. Заболотный, О.Ф. Мельников и соавт., 2008). Сыворотку крови также получали натощак. Образцы хранили в холодильнике при -20° в течение 25 дней после чего тестировали на наличие sIgA. Применяли метод радиальной иммунодиффузии (РИД) по Манчини и реактивы «ГНЦ Иммунология» (Москва, РФ), наборы

реактивов для определения секреторного IgA иммуноферментным методом «Хема-Медика (Москва, РФ), «Вектор-Бест» (Новосибирск, РФ) и «Укрмед-Дон» (Донецк, Украина). Использовали иммуноферментный анализатор и линейку вспомогательных приборов к нему «Lab-Line» (Австрия). Результаты обработаны с применением параметрического критерия «t» Стьюдента (Е.В. Гублер, 1978).

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Было установлено, что уровни sIgA в РГС здоровых доноров превышали аналогичные показатели у больных при использовании всех использованных наборов реактивов (табл.1). Наиболее высокие показатели концентрации sIgA выявлены при использовании метода радиальной иммунодиффузии. Концентрация этого иммуноглобулина при применении ИФА-метода была более чем 2-5 раз ниже; наиболее низкой концентрация sIgA в РГС была при использовании набора реактивов ТОВ «Укрмед-Дон», однако и в группе методов от разных производителей эти флюктуации были значительными 102,5 мг/мл, «Укрмед-Дон» и 260,5 при использовании реактивов «Вектор-Бест».

При исследовании содержания секреторного IgA в сыворотке крови (табл.2) было отмечено, что у здоровых доноров при использовании метода ИФА уровни sIgA были на низких отметках от 0,8 до 15 мг/л, тогда как у больных хроническими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей от 8,6 до 39,5 мг/л. При определении методом РИД концентрации sIgA в сыворотке было показано, что она была более высокой в обеих группах и всего в 2-3 раза ниже, чем при определении её в РГС (рис.1).

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что метод ИФА для определения уровня sIgA в РГС демонстрирует большую стабильность показателей даже при использовании реактивов различных производителей. Высокие показатели содержания sIgA в РГС и, особенно, в сыворотке крови при использовании метода РИД могут свидетельствовать о дополнительном вовлечении мономерной формы IgA в реакцию преципитации в агарозе и, соответственно, увеличении показателя уровня данного иммуноглобулина. Определение РИД

в РГС уровня мономерной формы IgA показало, что у больных хроническими воспалительными заболеваниями концентрация его выше, чем у практически здоровых лиц (рис.2). Это может быть связано как с повышением проницаемости сосудов вследствие воздействия факторов воспаления так и активации трансцеллюлярной функции эпителиальных клеток [11]. Некоторые авторы считают, что повышенное содержание IgA связано с действием микробных гидролаз,

способных разрушать димерную структуру sIgA на мономерные формы [8].

Проведенные исследования свидетельствуют о достаточной высокой флюктуации показателя уровня sIgA даже при использовании более современного метода иммуноферментного анализа, поэтому при проведении многократных исследований, особенно в динамике, целесообразно применять реактивы одного изготовителя.

Таблица 1

**Содержание sIgA в РГС здоровых доноров и больных хроническими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей при использовании различных методов и реактивов**

Группы	n	Концентрация sIgA, мг/л				p <sub>t</sub> по горизонтали
		1	2	3	4	
Больные	12	530±50,7	260,5± 54,2	148,8 ±36,2	102,5±23,5	1-2,3,4 <0,01 2-3,4<0,05
Доноры	10	880,0±55,6	445,5±33,6	300,0±33,3	184,5 ± 32,2	1-2,3,4 <0,05
по вертикали p <sub>t</sub>		<0,02	<0,05	<0,05	>0,05	

Обозначения: 1- метод РИД, изготовитель ГНЦ Иммунология.  
2. – Метод ИФА, изготовитель «Вектор-Бест»  
3. – Метод ИФА, изготовитель «Хема-Медика»  
4. – Метод ИФА, изготовитель «Укрмед-Дон»

Таблица 2

**Содержание sIgA в сыворотке крови здоровых доноров и больных хроническими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей при использовании различных методов и реактивов**

Группы	n	Концентрация sIgA, мг/л				p <sub>t</sub> по горизонтали
		1	2	3	4	
Больные	12	430±8,7	39,5± 14,2	8,6 ±1,2	29,5 ±10,2	1-2,3,4 <0,01, 2-3<0,05, 2-4>0,05,
Доноры	10	180,0±15,6	15,5±3,5	0,8±0,3	0,9±0,2	1-2,3,4 <0,02, 2-3,4<0,02
по вертикали p <sub>t</sub>		<0,01	>0,05	<0,02	<0,001	

Обозначения: 1. – Метод РИД, изготовитель ГНЦ Иммунология.  
2. – Метод ИФА, изготовитель «Вектор-Бест»  
3. – Метод ИФА, изготовитель «Хема-Медика»  
4. – Метод ИФА, изготовитель «Укрмед-Дон»  
n – число наблюдений

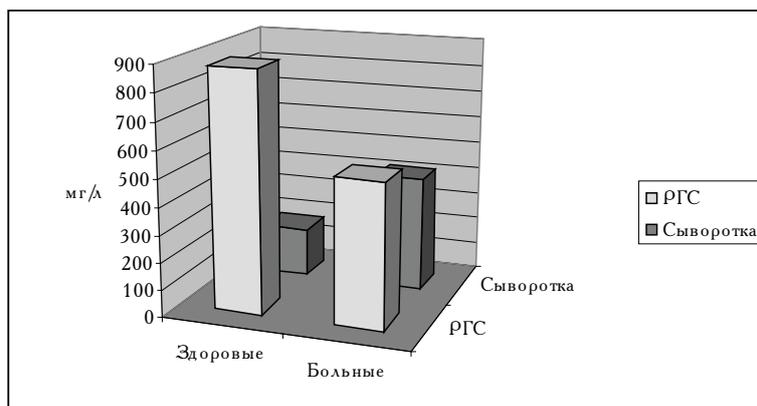


Рис. 1. Определение уровня sIgA в РГС и сыворотке методом РИД.

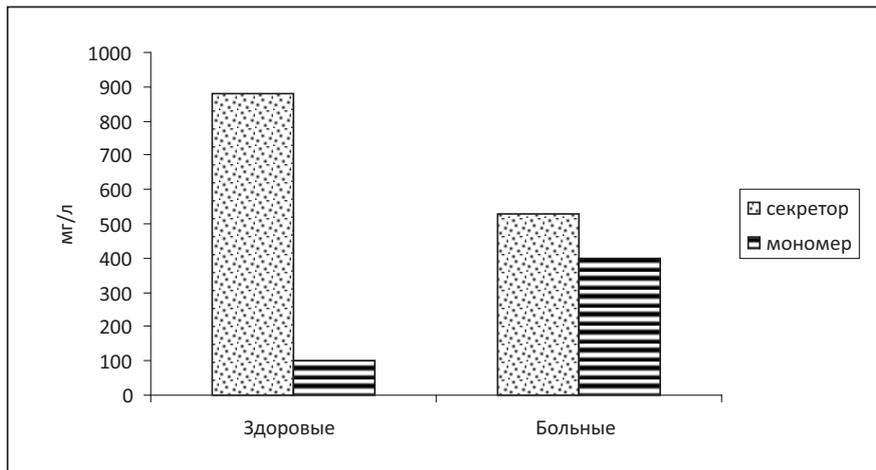


Рис.2. Уровни мономерной формы IgA в РГС здоровых доноров и больных хроническими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Верес В.М. Обґрунтування та апробація імунореабілітації при хірургічному лікуванні хворих на хронічний тонзиліт – Дис канд. мед. наук /14.01.19 - оториноларингологія.- Інститут отоларингології ім., проф. О.С. Коломійченка АМН України.-Київ.-132с.
2. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. -Л.- Медицина,1978.-294 с.
3. Дранник Г.Н. /Г.Н. Дранник, А.И. Курченко, А.Г. Дранник //Иммунная система слизистых, физиологическая микрофлора и пробиотики.- Киев: Полиграф Плюс.-2009.-144с.
4. Мельников О.Ф., Кобицкий М.М., Казанец И.В., Кунах Т.Г., Калуцкий И.В., Бондарчук А.Д. Определение иммуноглобулинов методом радиальной иммунодиффузии в зоне низких концентраций // Імунологія та алергологія.-2003, № 3.-С.13-15.
5. Мельников О.Ф., Заболотный Д.И., Шматко В.И., Бредун А.Ю. Концепция диагностики иммунной недостаточности на основе определения защитных белков в секретах // Імунологія та алергологія.-2011, № 1.- С.3-8.
6. Методичні рекомендації. - Дослідження ротоглоткового секрету у хворих на хронічні запальні та алергічні захворювання верхніх дихальних шляхів // Метод . рекомендації-Киев.-2008.-28с. автори : Д.Д. Заболотный, О.Ф. Мельников, Тимченко С.В., Заболотна Д.Д.).
7. Стасенко А.А. Місцевий імунітет травного тракту // Стасенко А.А., Сценко В.Ф., Діброва Ю.А., Дронов О.І., Литвиненко О.М., Кучерук В.В.- Київ: Три крапки.-2005.-205 с.
8. Суворовцев В.И., Федоров Т.В., Гусев В.В. Бактериальные IgA1 протеазы: получение, свойства перспективы применения // Вестник РАМН.- 2001 .- №12.-С.39-42.
9. Brandtzaeg P. Basic mechanism of mucosa immunity- a major adaptive defense system // The Immunologist. – 1995. – №3. – P.89-96.
10. Brandtzaeg P. Immunology of tonsils and adenoids//Intern.J.PediatricOtorhinolaryngology.- 2003,-6751.- P. 569-576.
11. Lamm M. How epithelial transport of IgA antibodies related to host defense // Amtr. J. Physiol.- 1998.- №4.-P.614-616.
12. Mestecky J., Abraham R., Ogra P.,1994; Handboock of Mucosal Immunol.- San-Diego.- 1994.-P.357-372.;

### РЕЗЮМЕ

#### ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ЗМІСТУ СЕКРЕТНОГО ІМУНОГЛОБУЛІНУ А В РОТОГЛОТКОВОМУ СЕКРЕТІ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ, ЯКЕ ПРОВЕДЕНЕ РІЗНИМИ МЕТОДАМИ І РЕАКТИВАМИ

О.Ф. Мельников, М.Д. Тимченко, Д.Д. Заболотна, А.Ю. Бредун, О.Г. Рильська.

ДУ «Інститут отларингології ім. проф. А.І. Коломійченко НАМН України»

Авторами проведено дослідження вмісту секреторної форми імуноглобуліну класу А в ротоглотковому секреті та сироватці крові з використанням методів радіальної імунодифузії в гелі та імуоферментного методу із застосуванням наборів від різних виробників. Показано більшу точність і відтворюваність результатів у методі ІФА, однак для проведення динамічних досліджень рекомендовано користуватися реактивами одного виробника.

**SUMMARY**

**A COMPARATIVE STUDY OF THE CONTENT SECRETION OF IMMUNOGLOBULIN A IN POSTORAL SECRETION AND BLOOD SERUM, WHICH WAS CONDUCTED WITH DIFFERENT METHODS AND REAGENTS.**

*O.F. Melnicov, M.D. Tymchenko, D.D. Zabolotna, A.Y. Bredun, O.G. Rylska*

GA "Institute of otolaryngology by A.I. Kolomyichenco AMS Ukraine

The authors studied the content of secretory immunoglobulin A in postoral secretions and blood serum

using the method of radial immunodiffusion in gel and ELISA method with using kits from different manufacturers. It was also shown an improved accuracy and reproducibility of the ELISA method, but for dynamic studies it is recommended to use reagents of one manufacturer.

УДК 616.12 – 005.4 – 089.168.1 – 076.078.73

**СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ ПРОВЕДЕННОГО СТЕНТИРОВАНИЯ**

*ВОРОНЦОВА Л.Л., БЕЗРУК В.А., ДИДЕНКО С.Н.*

ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины», кафедра клинической лабораторной диагностики

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – очень распространенное заболевание, одна из основных причин смертности, а также временной и стойкой утраты трудоспособности населения в развитых странах мира [4, 6]. В связи с этим проблема ИБС занимает одно из ведущих мест среди важнейших медицинских проблем XXI века.

Исследованиями отечественных и зарубежных авторов убедительно доказано появление нарушений резистентности и иммунологической реактивности на этапах возникновения и течения болезни, а с другой стороны, болезнь так же, в свою очередь, оказывает влияние на состоянии иммунологической реактивности [2, 5].

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что нет единой точки зрения относительно состояния клеточного иммунитета при стенокардии: часть авторов указывает на повышение иммунной активности, другие – на дефицит Т-клеточного звена иммунитета. Таким образом, не смотря на большое количество исследований относительно патогенетической роли иммунной системы в развитии ИБС и ее осложнений много вопросов остается нерешенными, и требующими дальнейшего изучения [1, 3, 7].

**Цель исследования:** установить особенности специфического звена иммунной системы у больных ИБС перед и после проведения стентирования коронарных артерий.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследовано 45 человек: 15 доноров (1 группа); 15 больных ИБС со стенокардией напряжения III-IV ф. кл., которым была проведена коронарография с целью уточнения необходимости проведения стентирования (2 группа); 15 больных ИБС со стенокардией напряжения III-IV ф. кл., которым по показаниям было выполнено стентирование коронарных артерий (3 группа). Показанием к установлению стентов была такая локализация стеноза, при которой баллонная коронароангиопластика дает неудовлетворительные результаты (стенозы устья, бифуркационные стенозы, стенозы в проксимальном сегменте передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии).

Для оценки специфической иммунологической реактивности проводилось определение субпопуляций лимфоцитов с использованием моноклональных антител к антигенам CD3<sup>+</sup> (Т-лимфоциты), CD4<sup>+</sup> (Т-хелперы), CD8<sup>+</sup> (Т-супрессоры), CD16<sup>+</sup> (NK-клетки), CD22<sup>+</sup> (В-лимфоциты), а также путем расчета иммунорегуляторного индекса CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (НПО «Гранум» (г. Харьков).

Для оценки нарушений иммунной системы использовали универсальный метод оценки иммунных расстройств, разработанный профессором Земсковым А.М. [43]. Степень иммунных расстройств, для этой цели, рассчитывалась по предложенной формуле автора:

$$\left( \frac{\text{Показатель конкретного больного}}{\text{Показатель, принятый за норму}} - 1,0 \right) \times 100 \%$$