

НАО «Медицинский университет Астана»
Кафедра педиатрии 2

*Методы исследования иммунного
статуса и принципы его интерпретации*

Выполнила: Ерболсын А. М
Проверила: Кусепова Д. А.

Нур-Султан 2019

Иммунный статус

Иммунный статус — это количественная и качественная характеристика состояния функциональной активности органов иммунной системы и некоторых неспецифических механизмов противомикробной защиты.

Иммунный статус определяется эффективностью и согласованностью работы всех систем и звеньев иммунитета - макрофагов, комплемента, цитокинов, Т- и В-лимфоцитов, главной системы гистосовместимости.

Раздел медицины, изучающий патологию человека в аспекте нарушений функций иммунной системы, называется *клинической иммунологией*.

Исследование иммунного статуса включает в себя:

- 1) определение группы крови и резус-фактора;
- 2) общий анализ крови с развернутой лейкограммой или формулой;
- 3) определение количества иммуноглобулинов;
- 4) исследование лимфоцитов;
- 5) исследование фагоцитарной активности нейтрофилов.
- **Для постановки диагноза иммунопатологического состояния проводят: сбор иммунологического анамнеза, постановку клинико-лабораторных, инструментальных и иммунологических тестов.**

Сбор анамнеза

При опросе определяют вероятный иммунопатологический синдром, основными являются:

- инфекционный синдром;
- аллергический и аутоиммунный синдромы;
- первичный иммунодефицит;
- вторичный иммунодефицит;
- иммунопролиферативный синдром.

- **учет возможных индивидуальных особенностей (возраст, сопутствующие заболевания) и колебаний показателей (физиологических и патологических - прием пищи, физические нагрузки, время суток, действие стрессоров и т.д.);**
- **учет региональных норм;**

Общие правила при оценке иммунограмм :

- комплексный анализ, а не оценка одного показателя;**
- анализ в комплексе с клиническими и анамнестическими данными;**
- оценка резких сдвигов показателей (не менее 20% от нормы);**
- анализ в динамике;**
- анализ не только (и не столько) абсолютных данных, а соотношений показателей (особо- индекс Th/Ts);**

Петров Р.В. с соавт. создали двухэтапный подход к оценке иммунного статуса, в соответствии с которым иммунологические тесты разделены на тесты первого и второго уровня.

На первом этапе с помощью простых методов выявляют “грубые” дефекты фагоцитоза, клеточного и гуморального иммунитета.

К тестам первого уровня относят:

- определение кол-ва лимфоцитов в крови (абс., отн.);
 - определение кол-ва Т- и В- лимфоцитов;
 - определение уровня Ig классов *IgG*, *IgM*, *IgA*;
 - определение фагоцитарной активности лейкоцитов;
- определение титра комплемента.

С учетом анализа результатов определяют дальнейшую тактику исследования.

Лейкоциты

- Норма – $3,5-8,8 \cdot 10^9/\text{л}$. Повышение числа лейкоцитов – это лейкоцитоз, снижение – лейкопения. Лейкоцитоз делится на физиологический и патологический. физиологического лейкоцитоза могут быть прием пищи, физическая работа, прием горячих и холодных ванн, беременность, роды, предменструальный период.
- Патологический лейкоцитоз бывает при инфекционных заболеваниях (пневмонии, менингите, общем сепсисе и др.), инфекционных заболеваниях с поражением клеток иммунной системы. Но имеются и исключения. Например, некоторые инфекционные заболевания протекают с лейкопенией (брюшной тиф, бруцеллез,

Лимфоциты

- Норма: абсолютное содержание – $1,2-3,0 \cdot 10^9/\text{л}$, но чаще в клиническом анализе крови указывается процентное содержание лимфоцитов.
- Этот показатель составляет 19–37 %.
- Лимфоцитоз обнаруживается при хроническом лимфолейкозе, хронической лучевой болезни, бронхиальной астме, тиреотоксикозе, некоторых инфекционных заболеваниях (коклюше, туберкулезе), при удалении селезенки.
- К лимфопении приводят аномалии развития лимфоидной системы, вирусные инфекции, ионизирующее излучение, аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка), эндокринные заболевания (болезнь Кушинга, прием гормональных препаратов), СПИД.



T-лимфоциты

- Норма: относительное содержание 50–90 %, абсолютное – $0,8–2,5 \cdot 10^9 / \text{л}$. Количество T-лимфоцитов повышается при аллергических заболеваниях, в период выздоровления, при туберкулезе. Снижение содержания T-лимфоцитов происходит при хронических инфекциях, иммунодефицитах, опухолях, стрессах, травмах, ожогах, некоторых формах аллергии, инфаркте.

T-хелперы

- Норма: относительное содержание – 30–50 %, абсолютное – $0,6-1,6 \cdot 10^9/\text{л}$. Содержание T-хелперов повышается при инфекциях, аллергических заболеваниях, аутоиммунных заболеваниях (ревматоидном артрите и др.). Снижение содержания T-хелперов происходит при иммунодефицитных состояниях, СПИДе, цито-мегаловирусной инфекции.

В-лимфоциты

- Норма: относительное содержание – 10–30 %, абсолютное – 0,1–0,9 в 10^9 /л. Повышенное содержание бывает при инфекциях, аутоиммунных заболеваниях, аллергиях, лимфолейкозах.
- Снижение количества В-лимфоцитов обнаруживается при иммунодефицитах, опухолях.

Фагоциты (нейтрофилы)

- Их активность оценивают с помощью методов, которые определяют часть клеток, способных формировать внутри себя фагосому.
- Для оценки пищеварительной способности нейтрофилов используют НСТ-тест (НСТ – это краситель нитросиний тетразолий).
- Норма НСТ-теста – 10–30 %. Фагоцитарная активность лейкоцитов повышается при острых бактериальных инфекциях, снижается при врожденных иммунодефицитах, хронических инфекциях, аутоиммунных заболеваниях, аллергиях, вирусных инфекциях, СПИДе.
- Активность работы фагоцитов, оценивается так называемым фагоцитарным числом (в норме клетка поглощает 5-10 микробных частиц), количеством активных фагоцитов, индексом завершенности фагоцитоза (должен быть больше 1,0).

Методы исследования лимфоцитов

Изучение поверхностных CD антигенов основывается на:

методах розеткообразования;
методе проточной цитометрии;
методах иммунофлюоресценции;
иммуноферментном анализе.

К функциональным тестам относят методы оценки пролиферативной активности лимфоцитов на Т- и В-митогены (РБТЛ- реакция бластной трансформации лимфоцитов), синтеза моноклеарами цитокинов.

Для определения количества Т- клеток используют метод розеткообразования с эритроцитами барана.

Метод основан на родстве рецептора CD2 с белками мембраны эритроцитов барана. При смешивании лимфоцитов с эритроцитами барана образуются фигуры в виде розеток.

Количество розеткообразующих клеток (Е-РОК) соответствует количеству Т- лимфоцитов (CD2+ клеток).

Для определения количества В- клеток используют ЕАС- розетки. Лимфоциты смешивают с эритроцитами быка, обработанными комплементом и антителами к эритроцитам.

Современный метод – проточная цитометрия.

Важнейшее значение имеет вычисление иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 (хелперно-супрессорного отношения).

CD8+ несут Т- супрессоры и Т-киллеры, часть НК- клеток.

CD4+ несут Т- хелперы и Т-индукторы, моноциты, Т- клетки ГЗТ.

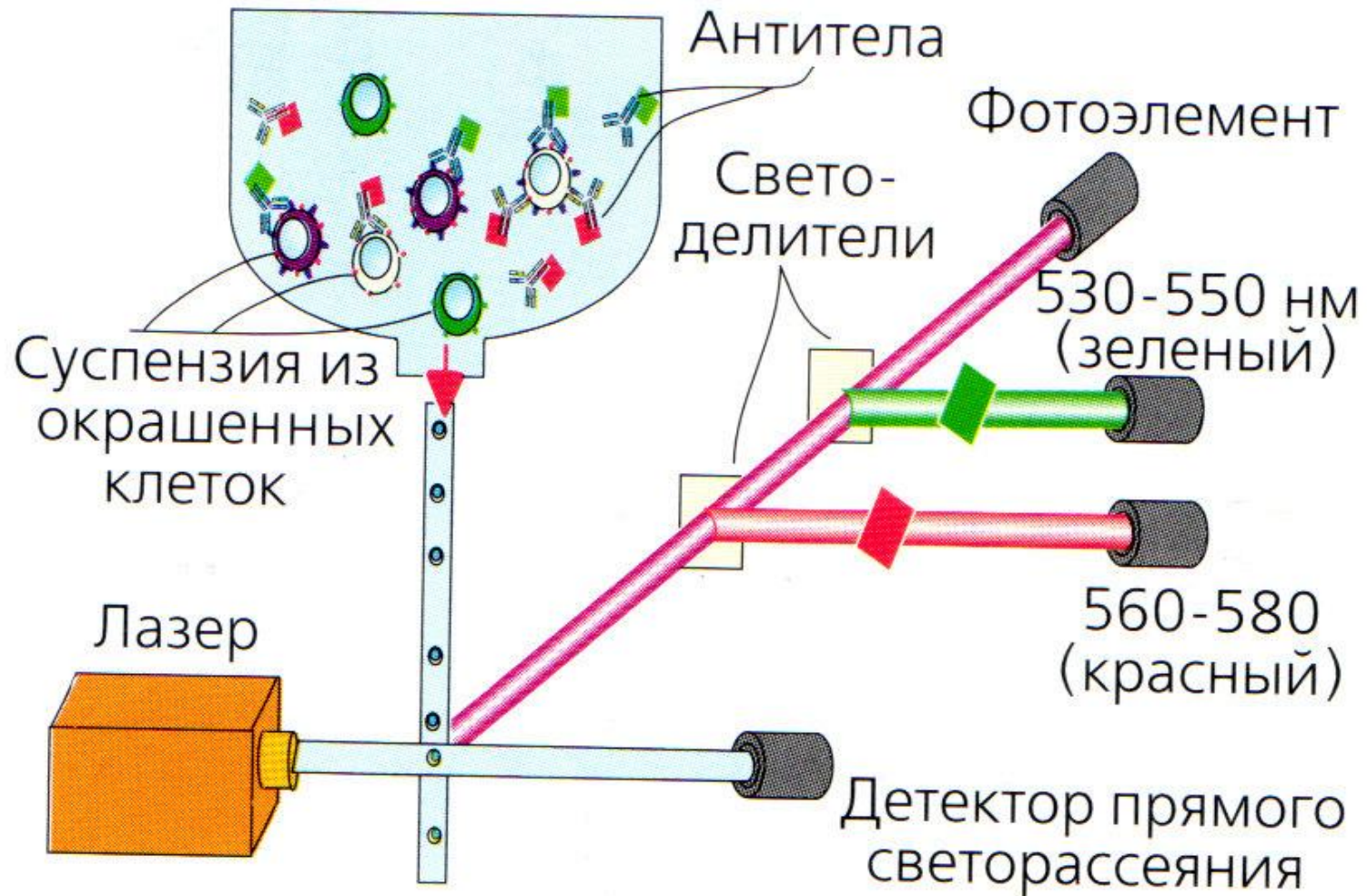


Рис. 2.39. Принцип проточной цитометрии

Основной принцип иммуноцитометрии:

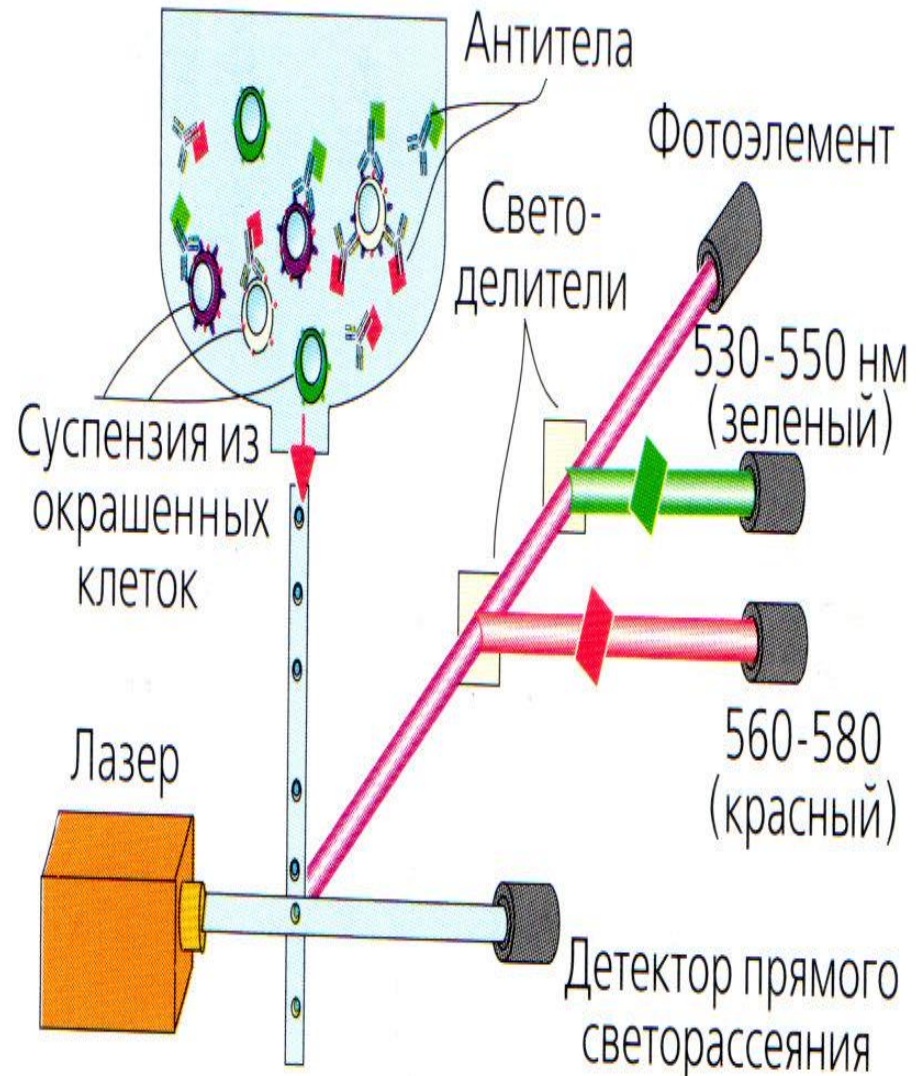
Меченная флуоресцентными МКА исследуемая клетка проходит с потоком жидкости по капилляру.

Поток пересекается лучом лазера. Прибор фиксирует отраженный от поверхности клетки сигнал по принципу «да/нет».

По изменению проходящей лазерной волны определяются параметры и размеры клетки (прямое и боковое светорассеивание).

Лазерный луч индуцирует флуоресценцию МКА на поверхности клеток, что дает информацию о наличии определенных рецепторных структур.

В результате суммирования информации по всей популяции клеток прибор выдает точный количественный и качественный анализ состояния клеточных популяций.



Стандартная панель МКА позволяет определять следующие СД-маркеры: СД3 (Т-клетки), СД4 (Т-хелперы), СД8 (Т-цитотоксические), СД20 (В-клетки), СД16 (NK-клетки), СД14 (моноциты/макрофаги), СД25 (рецептор ИЛ-2).

Методы исследования главных компонентов иммунной системы принято делить также на скрининговые и развернутые.

При оценке В- системы иммунитета к скрининговым тестам относят определение кол-ва CD19+ и CD20+ клеток, IgG, IgM и IgA, к развернутым - бласттрансформацию (РБТЛ) на митоген лаконоса и *S.aureus*, поверхностных маркеров В- лимфоцитов.

Иммуноглобулины Jg

- Иммуноглобулин А. Норма: 0,6–4,5 г/л.
- JgА повышается при острых инфекциях, аутоиммунных заболеваниях (чаще в легких или в кишечнике), нефропатиях. Снижение JgА бывает при хронических заболеваниях (особенно дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта), гнойных процессах, туберкулезе, опухоли, иммунодефицитах.
- Иммуноглобулин Е. Норма: 0-0,38 мг/л. Повышается количество JgЕ при наследственно обусловленных аллергических реакциях, аллергических поражениях органов дыхания грибком Аспергиллусом, глистной инвазии
- Снижение JgЕ происходит при хронических инфекциях, приеме лекарств, которые угнетают деление клеток, врожденных иммунодефицитных заболеваниях.

- **Иммуноглобулин М.** Норма: 0,6–3,4 г/л.
Содержание JgM повышается при бронхиальной астме, инфекциях (острых и хронических), при обострениях, аутоиммунных заболеваниях (особенно при ревматоидном артрите).
Понижается JgM при первичных и вторичных иммунодефицитах.
- **Иммуноглобулин G.** Норма: 6,0-17,6 г/л.
Количество JgG повышается в крови при аллергиях, аутоиммунных заболеваниях, перенесенных в прошлом инфекциях. Снижение содержания JgG происходит при первичных и вторичных иммунодефицитах.

Тесты второго уровня – более глубокий анализ состояния иммунной системы проводят с помощью аналитических методов: методы оценки функциональной активности Т- и В- лимфоцитов, фагоцитов, вспомогательных клеток, естественных киллеров, компонентов системы комплемента и др.

тесты иммунофенотипирования для определения относительного и абсолютного количества популяций и субпопуляций Т-, В-, НК-лимфоцитов;

активационные маркеры лимфоцитов;

оценка различных этапов фагоцитоза и рецепторного аппарата фагоцитарных клеток;

определение основных классов и подклассов иммуноглобулинов;

циркулирующие иммунные комплексы;

определение концентрации компонентов комплемента в сыворотке крови (С3, С4, С5, С1-ингибитор);

функциональная активность различных субпопуляций лимфоцитов;

оценка пролиферативной активности Т- и В-лимфоцитов;

исследование интерферонового статуса;

кожные пробы и т.д.

Все выше перечисленные нормы показателей иммунного статуса могут несколько отличаться в разных иммунологических лабораториях. Это зависит от методики диагностики и используемых реактивов. Но иммунная система, как и любая другая система организма, может иметь расстройства в любых звеньях. Так возникают иммунодефициты.

- Следует особо подчеркнуть, что полноценный анализ иммунограммы возможен только в комплексе с клиническим состоянием и анамнезом пациента.
- Отсутствие характерных сдвигов в иммунограмме при выраженных клинических симптомах следует считать атипичной реакцией иммунной системы, что является отягощающим признаком заболевания.
- Полученные данные пациента сравниваются со средними значениями для данного анализа, полученными в регионе проживания пациента. Среднестатистические показатели различаются в зависимости от региона и подчиняются климатогеографическим условиям, экологической обстановке, условиям жизни.
- Необходимо также учитывать возраст пациента и циркадные ритмы.