ენდოგენური ტოქსემიის სადიაგნოზო სწრაფი, მარტივი და იაფი მეთოდი

ზ.ხელაძე, ზვ.ხელაძე.
(კრიტიკულ მდგომარეობათა მედიცინის ინსტიტუტი, თბილისი, საქართველო).

The fast, simple and cheap method to diagnose endogenic toxemia

Z.Kheladze, Zv. Kheladze
(Critical care Medicine Institute, Tbilisi, Georgia).

ენოგენური ტოქსემიის სინდრომი ხშირად თან ახლავს კრიტიკულ მდგომარეობათა მიმდინარეობას და მნიშვნელოვნად განსაზღვრავს სიმძიმეს და მკურნალობის გამოსავალს. ენდოგენური ტოქსემიის სადიაგნოზოდ მოწოდებულია სწრაფი, მარტივი და იაფი მეთოდი. მას საფუძვლად უდევს კრიტიკულ ავადმყოფთა და იმუნოკომპეტენტურ T-ლიმფოციტთა ერითროციტული როზეტების წარმოქმნის რეაქციის დათრგუნვა იმავე ავადმყოფთა პლაზმის მეშვეობით.

გასაღები სიტყვები:
ენდოგენური ტოქსემია, დიაგნოზი, აუტოპლაზმა, T-ლიმფოციტები, როზეტების წარმოქმნის რეაქცია, ინჰიბიცია.

Toxemia greatly depends on the critical state's sort, stage, complications, conducted treatment and many other factors. ,, The diagnostic method for endogenic toxemia" was carried out much faster; 2-3 times cheaper than the other one; it can be applied in express diagnostic laboratory conditions and does not require expensive equipments, agents etc.

key words:
Endogenic toxemia, diagnosis, autoplasma, T- lymphocytes.

აქტუალობა

ენდოგენური ტოქსემიის სინდრომი ხშირად თან ახლავს კრიტიკულ მდგომარეობათა მიმდინარეობას. ის მნიშვნელოვნად განსაზღვრავს კრიტიკულ მდგომარეობათა კლინიკური სურათის სიმძიმეს, ამ დროს აღმოცენებული გართულებების სახეებს და მკურნალობის საბოლოო გამოსავალს (З.С.Хеладзе. 1985). აქედან გამომდინარე კრიტიკულ მდგომარეობათა ლიკვიდაციის პროცესში დიდია მასთან ასოცირებული ენდოგენური ტოქსემიის სურათის ჩაქრობის მნიშვნელობა, რაც ამ სინდრომის დროული და ეფექტური დიაგნოზის გარეშე შეუძლებელია. სამწუხაროდ, ენდოგენური ტოქსემიის სადიაგნოზოდ მოწოდებული

მეთოდები საკმაოდ რთული, ხანგრძლივი და ძვირია, რაც აფერხებს მათ ყოველდღიურ კლინიკურ საქმიანობაში გამოყენებას. (Z.Kheladze 1992). აქედან გამომდინარე კრიტიკული მედიცინის კლინიკებისთვის აქტუალური ხდება ენდოგენური ტოქსემიის სადიაგნოზო სწრაფი, მარტივი და იაფი მეთოდის შექმნა.

მასალა და მეთოდები:

მეთოდის არსი დაფუძნებულია ენდოგენური ტოქსემიის მქონე ავადმყოფთა სისხლის პლაზმის მიერ იმუნოკომპეტენტურ T-ლიმფოციტთა E-(Erithrocytes) როზეტების წარმოქმნის ცნობილი პროცესის დათრგუნვაზე. ამ მიზნით იღებენ საკვლევი პირის 10 მლ. ჰეპარინიზებულ (80–100 ერთ.) ვენურ სისხლს. მას აცენტრიფუგირებენ 15 წუთის განმავლობაში 800 g აჩქარებით ფიკოლ–ვეროგრაფინის (Ficoll-"Farmacia" შვეცია, "Verographin" 7,6% - "Spofa" ჩეხეთი) ერთსაფეხურიან გრადიენტში. (d=1,079 გ/სმ,) გამოყოფილ ლიმფოციტების სუსპენზიით, რომლის სისუფთავის ხარისხიც 93-96%-ია , დგამენ E-როზეტების წარმოქმნის ორ რეაქციას. პირველ შემთხვევაში 10/6 უჯრ/მლ რაოდენობის ლიმფოციტის შემცველ 0,1 მლ სუსპენზიას ამატებენ 10/7 უჯრ/მლ შემცველ ცხვრის ერითროციტების 0,1 მლ სუსპენზიას და 0,1 მლ ლიმფოციტთა საკულტივაციო არეს მეორე შემთხვევაში იმავე კომპონენტებს ლიმფოციტთა საკულტივაციო არეს ნაცვლად უმატებენ 0,1 მლ აუტოპლაზმას. ორივე კულტურათა ინკუბაცია ხდება ჯერ 37+C 30 წუთის, ხოლო შემდეგ 4+C 60 წუთის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ ორივე კულტურას ამატებენ 2,7% გლუტარის ალდეჰიდს და წარმოქმნილ როზეტებს ითვლიან მიკროსკოპში. ტოქსემიის ხარისხს (T) ანგარიშობენ ფორმულით T=(X-Y/X)•100% სადაც X და Y არის როზეტების რაოდენობა შესაბამისად პირველ და მეორე კულტურაში. ტოქსემიის არსებობა ითვლება დადასტურებულად, თუ მიღებული შედეგი აღემატება 3%. ამასთან ტოქსემიის ხარისხის ზრდა თანხვდება ამ მონაცემის ზრდას. ტოქსემიის ინტენსივობის შემცირება კი ასოცირდება ამ მონაცემის შემცირებასთან.

აღნიშნული მეთოდის ეფექტურობა შეფასებული იყო ზრდასრული ასაკის კრიტიკულ მდგომარეობაში მყოფ 39 ავადმყოფში, აგრეთვე ქრონიკული დაავადების მქონე 6 პაციენტში და პრაქტიკულად ჯანმრთელ 6 პირში. კრიტიკული მდგომარეობა ამ ავადმყოფებში ასოცირებული იყო პერიტონიტთან, სეფსისთან, ტრავმასთან, ასთმურ სტატუსთან, ღვიძლის და თირკმლების უკმარისობასთან და სხვა მიზეზებეთან. რაც შეეხება მეორე ჯგუფის პაციენტებს, ისინი ავადმყოფობდნენ შესაბამისად ბრონქული ასთმით, პნევმონიით, ჰიპერტონული დაავადებით, გულის იშემიური დაავადებით, კუჭისა და თორმეტგოჯა ნაწლავის წყლულით და შაქრიანი დიაბეტით. კვლევისას თითოეული პირისგან იღებდნენ 1 მლ პერიფერიულ ვენურ სისხლს , რომელიც მუშავდებოდა ჰეპარინით და ფიკოლ–ვეროგრაფინის გრადიენტში ხდებოდა ლიმფოციტთა კულტურის გამოყოფა. შემდეგში თითოეული პიროვნების ლიმფოციტთა კულტურასთან ცხვრის ერითროციტების მეშვეობით დგამდნენ როზეტების

წარმოქმნის რეაქციას შესაბამისად ან 0,1 მლ ლიმფოციტთა საკულტივაციო არეს. ან 0,1 მლ აუტოპლაზმის, ან 0,1 მლ სხვა კრიტიკული, ან 0,1მლ ქრონიკული ავადმყოფის, ან 0,1მლ ჯანმრთელი დონორის პლაზმის დამატებით, ისე რომ საბოლოოდ დადგმული იყო ამგვარი რეაქცია ყველა თეორიულად შესაძლო კომბინაციით. საგულისხმოა, რომ აღნიშნული მეთოდის შედარება მოხდა ბიოტესტირების მეთოდთან (Л. Г. Шикунова и др. 1980) რომლის არსი მდგომარეობს ავადმყოფთა სისხლის პლაზმით დამუშავებული იმ თეთრი თაგვების სიკვდილიანობის აღრიცხვაში, რომელთაც პლაზმის შეყვანამდე ტუშის მეშვეობით ბლოკირებული ჰქონდათ რეტიკულ–ენდოთელური სისტემა.

შედეგები და განსჯა

კვლევის მეთოდები მიუთითებენ, რომ ენდოგენური ტოქსემიის სინდრომის მქონე კრიტიკული ავადმყოფის პლაზმის დამატება აუტო ან ალოგენურ (ჯანმრთელი დონორები, ენდოგენური ტოქსემიის არმქონე ქრონიკული ავადმყოფები, სხვა კრიტიკული ავადფმყოფები) ლიმფოციტებზე ყოველთვის იწვევდა E–როზეტების წარმოქმნის რეაქციის საგრძნობ დათრგუნვას. ($p<0,001$) რაც შესაძლოა გამოწვეული ყოფილიყო ენდოგენური ტოქსინების მიერ T–ლიმფოციტების ზედაპირზე როზეტწარმომქმნელი მარკერების სუპრესიით. საგულისხმოა, რომ ამ ფენომენის აღმოცენებისას მნიშვნელობა არ ჰქონდა ამ ლიმფოციტების წინასწარ დამუშავებას ჯანმრთელი დონორების და ენდოგენური ტოქსემიის არმქონე ქრონიკულ ავადმყოფთა პლაზმით. ამ თვალსაზრისით მნიშვნელობა არ ჰქონდა აგრეთვე ცხვრის ერითროციტების წინასწარ დამუშავებას აუტოპლაზმით, ან ენდოგენური ტოქსემიის მქონე სხვა კრიტიკულ ავადმყოფთა პლაზმით ან ენდოგენური ტოქსემიის არმქონე ქრონიკულ ავადმყოფთა პლაზმით. საგულისხმოა, რომ ბიოტესტირების მიხედვით ენდოგენური ტოქსემიის დიაგნოზი თანხვდებოდა კლინიკური სურათის მიმდინარეობას 60%–90,9%, ალტერნატიული მეთოდის გამოყენებისას კი 87,5%–100% შემთხვევაში. ამას გარდა ეს უკანასკნელი 2–3ჯერ უფრო სწრაფი იყო, ვიდრე ბიოტესტირების მეთოდი. უფრო მეტიც ეს მეთოდი ანალოგთან შედარებით 2–3-ჯერ უფრო იაფი იყო. ამას გარდა მისი განხორციელება იძლეოდა ჩატარებული მკურნალობის მონიტორინგის შესაძლებლობასაც. ასე რომ ის შესაძლოა რეკომენდებული იქნას კრიტიკული მედიცინის კლინიკებში დასანერგად.

Summary

Endogenic toxemia syndrome often determines results of the critical patient's treatment. Toxemia intensivity greatly depends on critical state's sort, stage, complications, conducted treatment and many other factors. Nowadays, it seems incredible choose the optimal treatment regime for critically ill patients without permanent study of endogenic toxemia, intensivity. Unfortunately, diagnostic methods of the above-mentioned syndrome are complicated, long-term, labour consuming and

expensive, what prevents their applications in everyday life of critical care clinics. Proceeding from the mentioned elaboration of this sort of research methods will be a significant help for critical care units in treatment of critically ill patients. The method described bellow was based on the effect of spontaneous rosette-forming reaction with blood plasma of critical condition patients. The method was carried out applying the following procedures: 10 ml of subject's peripheral venous blood was taken. The blood was centrifugated in a one-stage gradient of Ficol-Verografine (d=1.079 g/cm³) for 15 min at 800 g. Lymphocytes were separated and were made two spontaneous rosette-formatting reactions; 0.1 ml of this lymphocytes containing 10^6 cells was incubated with 0.1 ml of lamb erythrocytes containing 10^7 cells. 0.1 ml of autoplasma was added to the first mixture. Both mixtures were initially incubated at 37+ C for 30 min and then at 4+ C for 60 min. After incubation in both mixtures was added 2.7% glutaraldehyde and rosette number was counted. Toxemia degree was determined using the formula: (X-Y)/X, were X-rosette number in %, when applying clean lymphocyte sample, Y- the same index for lymphocytes incubated with outoplasma. Toxemia degree is as great as the searched parameter theoretical maximum of which is 100% unit. Diagnosis is confirmed only when the results of the first reaction exceed the results of the second more than 3% as the given index should be accepted as the value of spontaneous reset-forming reaction dispersion.

A healthy donor's lymphocytes can be used as the signal cells. Besides, if there is enough time, rosettes can be counted on dyed smears thus making the study more accurate. To prove the properness of this method 39 elderly patients in the critical state caused by peritonitis, sepsis, trauma, broncho-asthmatic status, liver and renal deficiency and other were studied; all of them with a heavy form of endogenic toxemia. 6 elderly patients suffering with bronchial asthma, chronic pneumonia, arterial hypertension, ischemic heart disease, stomach and duodenum ulcer and diabetes, all without syndromes of endogenic toxemia, 6 elderly healthy donors were also studied.

The rusults is significant ($P<0.001$) depression of spontaneous rosette-forming reaction when patient's auto or foreign plasma (in a critical state) with endogenic toxemia was added to the other patient or healthy donor's lymphocytes. Non of the following factors; previous treatment of studied subjects lymphocytes with auto or foreign plasma; treatment of lamb erythrocytes with study subject's plasma as well as prior incubation of subject's plasma with auto or foreign lymphocytes or lamb erythrocytes produced any effect. The above-mentioned method was used in conection with traditional methods of intensive therapy (1). Results of the described method testing were compared with external signs of endogenic toxemia as well as with method of laboratory animals (white mice) biotesting with study subject's plasma conducted in correspondence with common method. According to the given results it may be concluded that "endogenic toxemia diagnostic method" in the limits of 87.5% - 100% corresponds with external signs of endogenic toxemia, whereas white mice corresponds with external picture of endogenic toxemia only in 60.0%- 90.9% cases. It is also worth nothing that "endogenic toxemia diagnostic method" was carried out much faster and it is 2- 3 times cheaper than the other one; it can be applied in express- diagnostic laboratory conditions and does not require expensive equipment, agents etc.

ლიტერატურა:
References:

1. Л. Г. Шикунова- «Постреанимационная токсемия и некоторые пути её устранения».
В кн: «Современные проблемы реаниматологий». «Медицина», 1980, с . 127-133
2. З. С. Хеладзе. "Циркулируюший в крови фактор, способный угнетать иммунный ответ при терминальных состояниях организма». «Анестезиология и реаниматология». М., «Медицина», 1985, №6, с. 41-46.
3. Z.S.Kheladze – “Alternative methods of Diagnosis, Prevention and Treatment of Critical Cases”. World Conference on Health Emergencies in Technological Disasters, preceding Rome, 1992, 58-59 pp.