

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра фізіології, імунології і біохімії

з курсом цивільного захисту та медицини

(повна назва кафедри)

Кваліфікаційна робота

магістра

(рівень вищої освіти)

на тему: : Функціональний стан нейтрофілів та особливості гематологічних показників у крові хворих на гострий аппендицит

Виконала: студентка II курсу, групи 8.0918-б
спеціальності 091 Біологія

(код і назва спеціальності)

освітньої програми Біологія

(код і назва освітньої програми)

Л.О. Квітка

(ініціали та прізвище)

Керівник доцент, доцент, к.б.н. Н. В. Новосад

(посада, вчене звання, науковий ступінь, підпис, ініціали та прізвище)

Рецензент професор, професор, д.м.н. О. К. Фролов

(посада, вчене звання, науковий ступінь, підпис, ініціали та прізвище)

Запоріжжя
2020

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Біологічний факультет

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та
медицини

Рівень вищої освіти магістр

Спеціальність 091 Біологія

Освітня програма Біологія

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри В.Д. Бовт

« _____ » _____ 20__ року

**З А В Д А Н Н Я
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ**

Квіткі Людмилі Олександрівні

1. Тема роботи Функціональний стан нейтрофілів та особливості гематологічних показників у крові хворих на гострий апендицит
керівник роботи Новосад Наталія Василівна, к.б.н., доцент
затверджені наказом ЗНУ від «12» червня 2019 року № 940-с
2. Строк подання студентом роботи січень 2020 року
3. Вихідні дані до роботи літературний огляд про особливості гематологічних показників крові та метаболічну систему нейтрофілів у чоловіків, хворих на гострий апендицит
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1) визначення гематологічних показників крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит; 2) підрахунок індексів активності запалення; 3) визначення метаболічної активності нейтрофілів.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) 7 таблиць, 16 рисунків у додатках

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		Завдання видав	завдання прийняв
4	Клімова О.О., к.б.н., старший викладач		

7. Дата видачі завдання _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1	Підбір групи обстежених	вересень 2018-вересень 2019	Виконано
2	Написання глави «Охорона праці»	вересень 2019	Виконано
3	Мікроскопування мазків крові	жовтень 2019	Виконано
4	Написання літературного огляду	вересень-жовтень 2019	Виконано
5	Написання глави «Матеріали та методи дослідження»	листопад 2019	Виконано
6	Складання списку літератури	вересень-жовтень 2019	Виконано
7	Проведення статистичної обробки результатів дослідження	жовтень 2019	Виконано
8	Аналіз отриманих результатів. Складання таблиць, рисунків.	листопад 2019	Виконано
9	Написання глави «Експериментальна частина», висновків, рекомендацій.	листопад-грудень 2019	Виконано
10	Підготовка доповіді і оформлення документів до захисту	грудень 2019	Виконано
11	Попередній захист кваліфікаційної роботи	січень 2020	Виконано
12	Представлення роботи до захисту	січень 2020	Виконано

Студент _____ Л.О. Квітка
 Керівник роботи _____ Н.В. Новосад
Нормоконтроль пройдено
 Нормоконтролер _____ О.О. Клімова

РЕФЕРАТ

Робота викладена на 78 сторінках друкованого тексту, містить 7 таблиць, 16 рисунків у додатках. Список літератури включає 83 джерела.

Об'єкт дослідження – венозна кров чоловіків, хворих на гострий апендицит.

Мета роботи – дослідження гематологічних показників та метаболічного стану нейтрофілів крові у чоловіків – мешканців м. Запоріжжя, хворих на гострий апендицит.

Методи дослідження – гематологічні, цитохімічні і статистичні.

У результаті дослідження встановлено, що при гострому апендициті у чоловіків зростає швидкість осідання еритроцитів, загальна кількість лейкоцитів за рахунок паличкоядерних нейтрофілів і сегментоядерних нейтрофілів, змінюються показники індексів активності запалення, активність мієлопероксидази та рівень катіонних білків знижується, а через два тижні після операції зростає, що свідчить про участь кисеньзалежної та кисеньнезалежної метаболічної системи нейтрофілів у запальному процесі.

Новизна роботи – вперше проводиться дослідження стану ключових кисеньзалежних та кисеньнезалежних метаболічних систем нейтрофілів крові, поряд із гематологічними показниками, у чоловіків – мешканців промислового м. Запоріжжя, хворих на гострий апендицит.

Значущість роботи – результати дослідження поширюють уявлення про функціональний стан нейтрофілів, поряд із гематологічними показниками, у чоловіків із гострим хірургічним захворюванням черевної порожнини, що дозволяє їх використовувати як додатковий діагностичний та прогностичний критерій при оцінюванні активності патологічного процесу.

Отримані результати можуть бути використані хірургічними відділеннями медичних закладів для більш прицільного проведення лікарської терапії.

ГОСТРИЙ АПЕНДИЦИТ, МІЄЛОПЕРОКСИДАЗА, КАТІОННІ БІЛКИ, ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ.

ABSTRACT

This work is presented on 78 printed pages, contains 7 tables, 16 pictures. List of references includes 83 sources.

Object of research – the venous blood of men with acute appendicitis.

Work's purpose – study is to study the hematological parameters and metabolic status of blood neutrophils in male residents of Zaporozhye with acute appendicitis.

Methods of research – hematological, cytochemical and statistical.

The study found that in acute appendicitis in men increases the rate of sedimentation of erythrocytes, the total number of leukocytes due to rod-core neutrophils and segmented neutrophils, indexes of activity of inflammation, activity of myeloperoxidase and level of cation decreases. on the involvement of the oxygen-dependent and oxygen-independent metabolic system of neutrophils in the inflammatory process.

Work's novelty – for the first time a study of the status of key oxygen-dependent and oxygen-independent metabolic systems of blood neutrophils is carried out, along with hematological parameters, in men - residents of industrial city of Zaporozhye, patients with acute appendicitis.

Work's significance – the results of the study extend the understanding of the functional status of neutrophils, along with hematological parameters, in men with acute surgical disease of the abdominal cavity, which allows them to be used as an additional diagnostic and prognostic criterion in assessing the activity of the pathological process.

The results obtained can be used by the surgical departments of medical institutions for more appropriate drug therapy.

ACUTE APENDICITE, NEUTROPHILS, MYELOPEROXIDASE, CATIONIC PROTEINS, HEMATOLOGIC INDICES.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	8
ВСТУП.....	9
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	12
1.1 Етіологія та патогенез гострого апендициту.....	12
1.2 Роль нейтрофілів у запальних процесах.....	15
1.2.1 Загальна характеристика та функції нейтрофілів.....	15
1.2.2 Активація нейтрофілів.....	16
1.2.3 Гранули нейтрофілів.....	18
1.2.4 Катіонний білок, як представник кисеньнезалежної метаболічної системи нейтрофілів.....	21
1.2.5 Мієлопероксидаза, як представник кисеньзалежної метаболічної системи нейтрофілів	22
1.3 Метаболічна активність нейтрофілів при апендициті.....	23
1.4 Гематологічні показники при гострому апендициті	25
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	26
2.1 Об'єкт дослідження.....	26
2.2 Методи дослідження.....	26
2.2.1 Визначення загальної кількості еритроцитів в крові	26
2.2.2 Визначення загального вмісту гемоглобіну в крові.....	27
2.2.3 Визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) за методом Панченкова.....	28
2.2.4 Визначення загальної кількості тромбоцитів.....	29
2.2.5 Підрахунок лейкоцитарної формули.....	30
2.2.6 Підрахунок загальної кількості лейкоцитів в крові.....	31
2.2.7 Розрахунок індексів активності запалення.....	32
2.2.8 Визначення активності ферменту мієлопероксидази.....	33

2.2.9	Визначення рівня катіонних білків.....	34
2.2.10	Оцінка результатів цитохімічного дослідження мазків крові.....	34
2.2.11	Статистична обробка отриманих результатів.....	35
3	ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	38
3.1	Гематологічні показники у крові чоловіків, хворих на гострий апендицит.....	38
3.2	Індекси активності запалення у чоловіків, хворих на гострий апендицит.....	40
3.3	Активність мієлопероксидази та рівень катіонних білків у нейтрофілах крові чоловіків, хворих на гострий апендицит.....	41
3.4	Кількість МПО та КБ-позитивних нейтрофілів в крові чоловіків, хворих на гострий апендицит.....	44
3.5	Ступінь інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит.....	46
4	ОХОРОНА ПРАЦІ.....	48
	ВИСНОВКИ.....	54
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	56
	ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	57
	ДОДАТКИ.....	64

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І
ТЕРМІНІВ

ГА – гострий апендицит

КБ – катіонні білки

КБ+ – нейтрофіл, що містить катіонний білок, КБ-позитивний нейтрофіл

МПО – мієлопероксидаза

МПО+ – нейтрофіл, що містить мієлопероксидазу, МПО-позитивний
нейтрофіл

НСТ-тест – нітросиній тетразолій-тест

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів

ІЛШОЕ – індекс співвідношення лейкоцитів і швидкості осідання
еритроцитів

ЛГІ – лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс

ВСТУП

Гострий апендицит (ГА) – найбільш поширене гостре хірургічне захворювання органів черевної порожнини. За частотою виникнення, тяжкістю клінічного перебігу, складністю діагностики, можливими ускладненнями, а також результатами лікування ГА посідає одне з провідних місць у невідкладній хірургії. Актуальність проблеми ГА зумовлена високим рівнем захворюваності. Хворі, у яких припускають наявність ГА становлять до 50% усіх пацієнтів, яких госпіталізують у невідкладному порядку до хірургічних стаціонарів загального профілю. У світі на кожну 1000 населення 3-4 пацієнти щороку захворюють на ГА [1]. Небезпека захворювання зумовлена ускладненнями, частота яких становить від 33 до 43%. При цьому частота ускладнень після апендектомії становить від 4,2 до 16,2%. У хворих віком старше 50 років ці показники сягають 32,3% [2]. Летальність при ГА становить від 0,1 до 0,5%. При простому апендициті летальні наслідки спостерігають у край рідко, при флегмонозному апендициті летальність становить 0,5%, гангренозному – збільшується до 0,7%, перфоративному – до 1-2%. За ускладнених форм ГА летальність становить 4,3-6,8%. Наведені факти свідчать про неспроможність існуючих методів своєчасної діагностики ГА [3-6].

До теперішнього часу залишається актуальною проблема своєчасної і точної діагностики гострих захворювань органів черевної порожнини.

Результати оперативного лікування невідкладних хірургічних захворювань знаходиться в прямій залежності від своєчасної госпіталізації хворих. Через зміни клінічної картини не завжди точно вдається визначити тяжкість захворювання, спрогнозувати розвиток місцевих та загальних ускладнень, тому актуальним і важливим є питання розроблення індивідуального підходу до лікування пацієнтів на підставі об'єктивних змін та легко вимірюваних лабораторних показників. Критерієм оцінки стану здоров'я людини є дослідження периферичної крові, яке в динаміці є відображенням

багатофакторних внутрішніх процесів, що впливають на організм досліджуваного, адже визначення співвідношення клітин крові у вигляді гематологічних індексів надає значно більше інформації про реактивність організму та тяжкість протікання захворювання.

Фізіологічні процеси, що протікають в організмі людини, знаходять своє відображення в клітинному метаболізмі. Особливо тонко реагують на функціональні і патологічні зміни лейкоцити периферичної крові. Важливим показником природної неспецифічної резистентності організму є функціональний стан нейтрофільних лейкоцитів, відповідальних за процес фагоцитозу і внутрішньоклітинне перетравлювання бактеріальних агентів.

Активність мікробіцидної системи забезпечується вмістом лізосомальних структур нейтрофілів, зокрема, лужної фосфатази, мієлопероксидази та рівнем катіонного білка [7]. Стану мікробіцидної системи лейкоцитів при оперативному втручанні при гострому апендицит в доступній літературі приділено недостатньо уваги.

Мета роботи – дослідження гематологічних показників та метаболічного стану нейтрофілів крові у чоловіків – мешканців м. Запоріжжя, хворих на гострий апендицит.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- 1) визначити особливості гематологічних показників крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит;
- 2) підрахувати індекси активності запалення;
- 3) визначити активність мієлопероксидази та рівень катонних білків у нейтрофілах крові чоловіків, хворих на гострий апендицит;
- 4) визначити кількість МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів в крові чоловіків, хворих на гострий апендицит;
- 5) визначити ступінь інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит;

Об'єкт дослідження: венозна кров чоловіків, хворих на гострий апендицит.

Предмет дослідження: гематологічні показники крові, мієлопероксидаза та катіонні білки нейтрофілів крові.

Практичне значення: отримані результати можуть бути використані терапевтичними медичними закладами для більш прицільного проведення лікарської терапії.

Матеріали роботи були представлені на таких конференціях: міжнародна науково-практична конференція «Наукові відкриття та фундаментальні наукові дослідження: світовий досвід» (травень, 2019); XV Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів (квітень, 2019); II Міжнародна наукова конференція «СЬОГОДЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ НАУКИ» (листопад 2018).

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Етіологія та патогенез гострого апендициту

Гострий апендицит – гостре запалення червоподібного відростка сліпої кишки. Захворюваність на нього становить 4-5 випадків на 10 тисяч населення. Згідно зі статистичними даними Колесова В. І. захворюваність складає: у дітей до 1 року – 3,48 випадки на 10 тис. населення; у дітей від 1 до 14 років – 11; від 15 до 59 років – 114; від 60 до 69 років – 29; 70 років і більше – 15.2. Апендицит у дітей найчастіше виникає в підлітковому віці (приблизно 75% випадків) і у віці від 9 до 13 років (близько 15%). Значно рідше запалення відростка сліпої кишки зустрічається у дітей дошкільного віку (10%), і поодинокі випадки – у немовлят. У структурі невідкладної хірургії органів черевної порожнини гострий апендицит є найпоширенішим станом, на нього припадає 60-70%. Частка апендектомії становить 30% серед усіх хірургічних втручань, які виконуються в загальнохірургічних стаціонарах. Розповсюдженість апендициту серед населення надзвичайно висока, що створює величезну соціальну проблему – тимчасова втрата працездатності [8].

За більш ніж сторічну історію вивчення гострого апендициту запропоновано велику кількість його класифікацій. Найбільш поширена класифікація гострого апендициту є за ступенем морфологічних змін в червоподібному відростку та наявності ускладнень.

1) гострий простий (поверхневий) апендицит – без загальноклінічних ознак і з вираженими, швидко зникаючими, місцевими проявами;

2) деструктивний апендицит:

– флегмонозний – черевний відросток збільшений та потовщений, має сіруватий колір, в просвіті знаходиться гній у вигляді калових камнів;

– гангренозний – черевний відросток товстий збільшений, має грязно-зелений колір, смердючий запах, легко рветься, покритий гнійним

нальотом, при розповсюдженні запального процесу за межі стінки відростка, відбувається розвиток місцевого перитоніту;

- катаральний – черевний відросток дещо потовщений, в слизовій оболонці наявні крововиливи, в просвіті рідко містяться рідкий кал чи слиз;
- перфоративний – в стінці черевному відростку наявний наскрізний отвір на фоні появи ганг्रेозного запалення, при цьому в черевну порожнину потрапляють гній і кишковий вміст, розвивається перитоніт [9].

3) ускладнений апендицит:

- із апендикулярним гнояком (абсцесом);
- із розлитим перитонітом;
- з сепсисом [10, 11].

Початок хвороби характеризується болем у правій клубовій ділянці, який зазвичай має тупий ниючий характер, виникає поступово. Після появи болю при гострому апендициті у 95% хворих виникають наступні симптоми, а саме слабкість, нудота, блювання, незначне підвищення температури (37-38°C).

Іншими ознаками апендициту бувають:

- 1) здуття живота;
- 2) затримка газів;
- 3) сухість у роті [12, 13].

Гострий апендицит є неспецифічним запальним захворюванням. Запропоновано багато теорій, які пояснюють виникнення гострого апендициту. Серед них основними є інфекційна, лімфогенна, алергічна та нервово-судинна.

Інфекційна теорія полягає в тому, що бактерії можуть проникнути в стінку червоподібного відростка з його просвіту або можуть бути занесені кров'ю.

Головним шляхом по якому мікроби поступають в тканини відростка є ентерогенним (кишковий). Дуже рідко інфекція проникає в апендикс з потоком крові або лімфи. Головним провокуючим фактором захворювання є патогенні мікроорганізми – бактерії, найпростіші і віруси, які знаходяться в апендиксі. У більшості випадків (90%) виявляються анаеробні бактерії, що не утворюють

спор – бактероїди та анаеробні коки. Набагато рідше (в 6-8% випадків) виявляються аеробні мікроорганізми – кишкова паличка, ентерококи та інші. Специфічного мікробного збудника гострого апендициту не існує. Бактеріальна флора, що приймає участь в розвитку запального процесу в черевному відростку, в нормі є в товстій кишці людини.

Найбільше значення в патогенезі апендициту мають *Bacteroides fragilis* – грамнегативні облигатні анаероби. На другому місці стоїть *Escherichia coli* – грамнегативний факультативний анаероб. Мають значення також інші мікроорганізми – *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Clostridium* [14]. В певних умовах ці мікроорганізми проникають у стінку відростка і викликають запальні зміни. При нормальному стані в апендиксі існує непроникна для мікроорганізмів слизова оболонка, що служить природним бар'єром на шляху інфекції.

Лімфогенна теорія полягає у надмірному навантаженні лімфоїдної тканини відростка в результаті чого вона втрачає свою бар'єрну функцію і втягується в патологічний процес.

Алергічна теорія основну роль відводить алергічному фактору. Виявили алергічний фактор у 30% випадків гострого апендициту. При гістологічному дослідженні відростка в цих випадках виявлено елементи алергічних реакцій – фібриноїдний некроз, еозинофільну клітинну інфільтрацію і та ін. [15].

Нервово-судинна теорія причиною апендициту є розлади іннервації та кровопостачання в тканинах відростка.

Інші причини розвитку гострого апендициту є:

1) порушення евакуації калових мас або закупорка гирла червоподібного відростка каловим каменем, що може призводити до застою вмісту і запалення;

2) порушення дієти – люди, які постійно вживають в їжу велику кількість м'яса, хворіють на апендицит набагато частіше;

3) індивідуальні особливості анатомії апендикса – наявність вигинів або значна довжина червоподібного відростка можуть викликати застій його вмісту;

4) важливим є загальне зниження опору організму людини в результаті стресу, зловживання алкоголем, куріння [16-19].

Гострий апендицит діагностувати можна на підставі цілого комплексу досліджень. Основну діагностичну інформацію при дослідженні хворих на гострий апендицит отримують під час проведення пальпації живота. Інший з методів діагностики – це аналіз крові, який проводиться з певною періодичністю.

Якщо аналізи підтвердили наявність даної хвороби, то необхідно виконати операцію – апендектомія (видалення червоподібного відростка). Це єдиний метод лікування апендициту [20, 21, 22].

1.2 Роль нейтрофілів у запальних процесах

1.2.1 Загальна характеристика та функції нейтрофілів

Нейтрофіли – це найбільша група лейкоцитів, які складають 50-75%. Після виходу з кісткового мозку нейтрофіли в крові циркулюють лише кілька годин (у середньому близько 10 годин). Потім, покинувши русло крові, вони впродовж кількох днів перебувають серед сполучнотканинних елементів більшості органів. Тут нейтрофіли здатні захоплювати й перетравлювати мікроорганізми. Зрілий нейтрофіл має сегментовані ядра, незрілий має паличкоподібне чи бобоподібне ядро.

Нейтрофіли містять велику кількість глікогену та ліпідів у цитоплазмі, які забезпечують нейтрофілів енергією. Зернистість дрібна, її погано видно як на свіжих, так і у фіксованих забарвлених препаратах. Нейтрофіли містять повний набір речовин, за допомогою яких вони руйнують фагоцитовані мікроорганізми. До їх складу входять активні хімічні речовини [23].

Нейтрофіли виконують наступні функції: високу міграційну активність, фагоцитоз, адгезію, перетравлення патогенної клітини, посилення

антибактеріального ефекту, здатність до розпізнавання чужорідних агентів. Нейтрофіл за допомогою рецепторів розпізнає бактерії [24, 25].

Механізм дії нейтрофілів:

1. Попадання чужорідного агента в організм – надходить сигнал про необхідність концентрації і переміщення сегментоядерних нейтрофілів у вогнище ураження. Ці клітини проходять всі бар'єри, виходять за межі судинного русла, потрапляючи в тканини, де починають впливати на патоген.

2. Прояв адгезивних властивостей – нейтрофіл підходить до чужорідної клітини максимально близько, при контакті їх мембранних оболонок в нейтрофілі виробляються спеціальні ферменти, що розщеплюють оболонку мікроба.

3. Стадія фагоцитозу – сегментоядерні нейтрофіли поглинають бактерію, вміщуючи її масу, при цьому мембранна оболонка має високу еластичність і добре розтягується.

4. Стадія перетравлення і розпаду – після поглинання активні компоненти нейтрофіла починають активно розщеплювати бактерію. Виробляються компоненти згубні як для самої бактерії, так і для нейтрофіла, тому дана імунна клітина гине разом з чужорідним агентом.

5. Стадія вивільнення і утилізації – в момент завмирання клітини вивільняється особливий компонент, висока концентрація якого сприяє посиленню антибактеріального ефекту [25, 26].

Нейтрофіли використовують кисневі і безкисневі механізми знищення бактерій.

1.2.2 Активація нейтрофілів

Для фагоцитів характерні два функціональні стани: вихідний, з низьким рівнем протікання процесів, і активований, перехід до якого обумовлено

взаємодії клітин з різними стимуляторами. Перехід фагоцитів з одного стану в інший протікає через проміжну стадію, яка дістала назву «праймінга». У пробірці формування праймінга може бути викликано дією великого набору факторів «стимуляторів праймінга» [27-31].

Активація фагоцитів супроводжується істотні морфологічні, біохімічні та біофізичні перебудови клітин. В основі активації фагоцитів лежить взаємодія стимулятора з клітиною, яке може здійснюватися за допомогою специфічних рецепторів (рецепторзалежна стимуляція) або неспецифічних місць зв'язування стимулятора. Інші слова, загальний ознака стимуляторів є їх взаємодія з мембраною або цитозольними компонентами фагоцитів.

Таким чином, процес активації фагоцитів можна поділити на дві основні стадії: взаємодія клітин зі специфічними або неспецифічними стимуляторами і передача (трансдукція) сигналу на внутрішньоклітинні посередники для формування загальноклітинних відповідей. Велику роль в забезпеченні трансдукції сигналу відіграє зміна рівня вмісту цитозольного кальцію фагоцитів [32, 33].

Крім того, було виявлено, що деякі стимулятори, застосовувані в якості праймерів, здатні збільшувати вміст іонів кальцію в цитоплазмі фагоцитів. До їх числа слід віднести продукти перекисного окислення ліпідів, електричний пробій плазматичних мембран фагоцитів. Збільшення Ca^{2+} в цитозолі лейкоцитів в процесі стимуляції може бути наслідком входу іонів Ca^{2+} в цитозолі клітини із зовнішнього середовища, вихід з внутрішньоклітинного депо та інгібування внутрішньоклітинного Ca^{2+} – АТФази, що забезпечує реаккумуляція цитозольного Ca^{2+} назад в депо [34-37].

Найбільш яскравий функціональний прояв стимуляції фагоцитів – формування так званих «кисневих вибухів» обумовлених активацією НАДФН-залежної оксидази. Активація фагоцитів супроводжується істотними морфологічними, біохімічними та біофізичними перебудовами клітин. Найбільш яскравий результат взаємодії фагоцитів з різними стимуляторами – посилення метаболізму, міграції, адгезії, дегрануляції і т.д.

В кінцевому рахунку різко збільшується споживання клітинами кисню, збільшується споживання клітинами глюкози, активність ферментів гексозомонофосфатного шунта, утворення активних форм кисню (АФК) та інших прооксидантів, продуктів активації ліпо- і циклооксигеназ і ін. Раптовість і швидкість, з якими розвиваються дані реакції, послужив привод назвати це явище кисневий, або респіраторний вибух [38, 39].

1.2.3 Гранули нейтрофілів

В цитоплазмі нейтрофільних гранулоцитів містяться органели, включення глікогену і численні гранули числом до 200, які сприймають і кислі, і основні барвники. Гранули нейтрофілів – внутрішньоклітинні гранули, що формуються в процесі дозрівання нейтрофілів. Гранули нейтрофілів, як правило, кулястої форми. Мають мембрану і містять біологічно активні продукти. Гранули поділяються на чотири типи:

- 1) азурофільні (первинні);
- 2) специфічні (вторинні);
- 3) третинні;
- 4) четвертинні [40, 41].

Азурофільні (неспецифічні, первинні) гранули з електронно-щільної серцевиною діаметром 0,4-0,8 мкм виникають першими і відповідають лізосом. Це система внутрішньоклітинного переварювання сторонніх тіл. Вони являють собою різновид первинних лізосом і містять:

- 1) гідролітичні ферменти – кислу фосфатазу;
- 2) β -глюкуронідазу;
- 3) кислу β -гліцерофосфатдегідрогеназу;
- 4) кислу протеазу;
- 5) арилсульфатазу.

Крім того, первинні гранули містять мієлопероксидазу і мурамідазу (лізоцим), які надають бактерицидну дію.

Лізоцим, мурамідаза або N-ацетилмурамідкліканигідролаза – тип ферментів, що руйнують клітинну стінку бактерій.

Специфічна (вторинна) зернистість з'являється пізніше, становить 80-90% від загальної кількості гранул. У специфічних гранулах (з електронно-прозорою вмістом) діаметром 0,1-0,3 мкм визначаються висока активність лужної фосфатази, колагеназа, лізоцим, що володіє антибактеріальними властивостями і ін. У них також присутні також основні катіонні білки, фагоцитіни, лактоферин та амінопептидази. Ці речовини беруть участь як у внутрішньо-, так і в позаклітинних реакціях. У них відсутні лізосомальні ферменти і пероксидаза. Крім того, описані гранули, які беруть участь в процесах міграції гранулоцита через стінку капілярів. Вторинні гранули – їх кількість зростає по мірі спеціалізації клітини і в дорослих нейтрофілах становить 80-90% від загального числа гранул. Мають округлу, овальну або гантелевидну форму. Азурофільні гранули нейтрофілів містять два сімейства катіонних білків – дефензини і серпроцидіни, а в специфічних гранулах знайдений лактоферин, а лізоцим присутній у обох типах зернистості [41].

Третинні гранули містять желатиназу, молекули рецепторів, цитохром В, лужну фосфатазу. Гранули, що містять лужну фосфатазу, називаються фосфасомами. Це ще один тип гранул нейтрофілів. При активації нейтрофілів запускається механізм дегрануляції. В результаті мембрани гранул зливаються з мембраною фагосом або клітини, а їх вміст опиняється всередині відповідно фагосом або клітини, або поза нею.

Четвертий тип гранул (секреторні везикули) утворюються на стадії зрілого нейтрофила. Ймовірно, ці гранули утворюються шляхом ендоцитозу, так як вони містять білки плазми, такі як альбумін, а також асоційовані з мембраною рецептори.

Зернистість нейтрофілів бере участь у виконанні двох основних функцій цих клітин:

1) у фагоцитном біохімічному розщепленні бактерій, вірусів та інших мікроорганізмів;

2) у захопленні й знищенні патогенних агентів деяких аутоімунних захворювань.

Зважаючи на це, зміна в структурі зернистості може бути ознакою патологічного процесу, і свідчити про його тяжкість.

Токсична зернистість нейтрофілів – це дегенеративні зміни клітин, які виникають в результаті розвитку патологій. Якщо вона наростає, це говорить про те, що патологічний процес прогресує. Токсична зернистість зазвичай спостерігається на тлі нейтрофілії і при ядерному зсуві вліво.

Для нейтрофілів характерна ніжна дрібна зернистість. Токсична зернистість характеризується появою в цитоплазмі грубих великих гранул і специфічних включень, які пофарбовані як базофільні. Це відбувається через зміни в структурі білків цитоплазми в результаті впливу токсичних речовин.

Існує кілька типів дегенеративних змін:

- токсична зернистість нейтрофілів;
- вакуолізація;
- тільця Деле;
- гіперсегментація.

Вакуолізація – це поява в цитоплазмі вакуолей, що пов'язано з дегрануляцією лізосом. Виявляється при важких інфекціях. Як правило, вакуолі спостерігаються у всіх нейтрофільних гранулоцитах.

У разі гіперсегментації зрілих нейтрофілів у них виявляється в ядрі більше 5-ти сегментів, з'єднаних тонкою ниткою хроматину [42].

1.2.4 Катіонний білок, як представник кисеньнезалежної метаболічної системи нейтрофілів

Катіонні білки утворюються в гранулоцитах (головним чином в нейтрофілах) і зберігаються в їх гранулах. Катіонні білки зазнають на поверхні білкової міцели значний позитивний заряд (звідси їх назва – «катіонні білки»). Відомі наступні ефекти катіонних білків:

1) висока неспецифічна бактерицидна активність. Завдяки позитивному заряду катіонні білки легко контактують з негативно зарядженою зовнішньої мембраною мікробів. Це пригнічує трансмембранні процеси, в зв'язку з чим структура оболонки мікроорганізмів порушується, підвищується її проникність, резистентність мікроба різко знижується. При наявності в навколишньому середовищі гідролітичних білків, активних форм кисню, вільних радикалів мікробна клітина швидко лізується;

2) підвищення проникності стінок мікросудин (катіонні білки діють як сигнал для викиду гістаміну);

3) стимуляція еміграції лейкоцитів;

4) стимуляція контакту нейтрофілів і макрофагів з мікробами та іншими об'єктами фагоцитозу [43].

Катіонний білок (КБ) – позитивно заряджений протеїн. Він переважно володіє основними властивостями і входить до складу цитоплазматичних гранул. Білок характеризується високим вмістом аргініну і має унікальну послідовність амінокислот, що дозволяє ідентифікувати його за допомогою моноклональних антитіл.

Катіонні білки мають здатність діяти позаклітинно (при руйнуванні фагоцитів і екзоцитозу). В основі механізму дії катіонних білків лежить їх здатність вбудовуватися в мембрани клітин-мішеней, підвищуючи їх іонну проникність і формуючи іонний канал. Зниження вмісту катіонних білків в нейтрофільних лейкоцитах свідчить про зниження захисних механізмів цих

клітин. Зниження рівня неферментних катіонних білків призводить до придушення здатності фагоцитуючих лейкоцитів до захоплення і перетравлювання мікробних тіл, особливо завершення фагоцитозу [44].

Антибіотичні катіонні білки – це група протеїнів, що містять велику кількість аргініну і цистеїну. Через свій специфічний склад катіонні білки найбільш активні при нейтральних значеннях рН, внаслідок чого вони активуються на ранніх стадіях бактеріальних і цитотоксичних процесів ще до розвитку ацидозу. Дані протеїни містяться в макрофагах, особливо – в азурофільних гранулах нейтрофілів лейкоцитів, маючи лізосомальне походження.

Активність неферментних катіонних білків поширюється щодо грамнегативних і деяких грампозитивних бактерій, проте, вони здатні пошкоджувати і власні клітини, в тому числі, уражені вірусами. Побічним ефектом діяльності катіонних білків є підвищення проникності судинної стінки.

Зниження вмісту катіонних білків в нейтрофільних лейкоцитах свідчить про зниження захисних механізмів цих клітин. Зниження рівня неферментних катіонних білків призводить до придушення здатності фагоцитуючих лейкоцитів до захоплення і перетравлювання мікробних тіл, особливо завершення фагоцитозу. Ступінь вираженості цих змін є надійним прогностичним тестом, що дозволяє судити про потенціал природних сил захисту організму і ефективності коригуючої терапії [45, 46].

1.2.5 Мієлопероксидаза, як представник кисеньзалежної метаболічної системи нейтрофілів

Мієлопероксидази (МПО) є однією з найбільш вивчених ендогенних пероксидаз ссавців. Мієлопероксидаза відноситься до сімейства гемвмісних пероксидаз, міститься в азурофільних гранулах нейтрофілів, моноцитів і деяких

видах тканинних макрофагів, і секретується при фагоцитозі всередину фагосоми. Генеровані цим ферментом активні форми кисню і вільні радикали беруть участь в антимікробній активності нейтрофілів, яка забезпечує вроджений неспецифічний імунітет. Основною функцією МПО в організмі є захист від зовнішньої інфекції, однак за низки умов вона може викликати пошкодження власних тканин організму в осередках запалення [47, 48].

Молекула МПО складається з двох ідентичних, з'єднаних між собою дисульфідним зв'язком, димарів, кожен з яких містить глікозильовану важку субодиницю з ковалентно зв'язаним гемом (протопорфірин з іоном заліза в центрі) та неглікозильовані легку субодиницю.

Даний фермент міститься в гранулах нейтрофілів, а також у моноцитах і деяких типах тканинних макрофагів [49, 50].

При наявності запалення рівень вільної МПО в крові підвищується. Будучи катіонним білком, МПО може зв'язуватися з негативно-зарядженою клітинної мембраною, зокрема ендотеліальною, і за наявності субстрату може викликати окислювальні пошкодження тканин організму в осередках запалення. У клінічній практиці активність МПО нейтрофілів служить маркером інтенсивності запальних процесів, а також є перспективним діагностичним і прогностичним показником при ряді захворювань і патологічних станів.

Мієлопероксидаза є важливою складовою частиною протимікробної активності нейтрофільних лейкоцитів, яка забезпечує вроджений неспецифічний імунітет [51].

1.3 Метаболічна активність нейтрофілів при апендициті

Не дивлячись на досягнуті в останні роки успіхи в вирішенні діагностичних завдань, завдяки впровадженню нових інструментальних

методів, діагностика захворювання представляє досить великі труднощі. Деякі загальноприйняті методи клінічного обстеження хворих не дозволяють точно установити правильний діагноз.

До числа найбільш простих і в той же час надійних цих тестів відносять етапне вивчення змін ферментативної формули нейтрофільних лейкоцитів.

Відомо, що у здорових людей рівень активності радикальної фосфатази складає в середньому $30,1 \pm 2,4$ у. од., активності мієлопероксидази – $206,1 \pm 0,9$ у. од., вміст катіонного білка - $124,1 \pm 1,1$ у. од., показник нітросинього тетразолій-теста (НСТ –тест) - $13,2 \pm 0,7\%$. При розвитку даного захворювання величина всіх цих показників істотно змінюється [52].

У період початку розвитку хвороби відзначається зниження активності мієлопероксидаз до 96 у. од., при одночасному підвищенні активності радикальної фосфатази – до 176 у. од., зниження катіонного білка – до 72 у. од. В подальших етапах лікування спостерігається підвищення активності мієлопероксидази, вмісту катіонного білка, зниження активності радикальної фосфатази та показника НСТ-теста. При ускладненому перебігу захворювання навпаки відбувається подальше погіршення всіх перерахованих показників. Взагалі лікарі найбільше звертають увагу на зміни цитохімічних показників у тих пацієнтів, у яких виникли різні ускладнення в післяопераційний період. Так, при прогресуванні захворювання відзначено подальше зниження вмісту катіонного білка до настання смерті хворого [53].

Дослідження НСТ-теста є корисним в діагностиці ускладнень. При деструктивних процесах організм реагує підвищенням відсотку НСТ-позитивних нейтрофілів. Якщо врахувати, що у післяопераційний період відбувається нормалізація НСТ-тесту протягом 1-2 днів, то з цього випливає, що високі значення його на 3-4 добу і більше, свідчать про ускладнення [54-57].

У пацієнтів з гострим апендицитом відбуваються значні порушення функціонально-метаболическої активності нейтрофілів, що є одним із показників порушення механізмів біологічної самозахисту, а значить, адаптаційної можливості клітин. В результаті знижується бактерицидна активність

нейтрофільних лейкоцитів, що стає основною причиною порушень їх фагоцитарної функції.

1.4 Гематологічні показники при гострому апендициті

Як показали результати досліджень Томашука І.П., Томашука І.І. та Тотоляна А.А. спостерігається досить значне регенеративне зрушення нейтрофілів з високим вмістом паличкоядерних форм при розвитку запального процесу в черевній порожнині [58-61].

У своїх дослідженнях Порядин Г.В. из'ясував, що при гострому апендициті достовірно зростає ШОЕ, загальна кількість лейкоцитів на перших етапах запального процесу. Після лікування показники знаходяться в межах норми [62].

Встановлено, що розвиток гострого запального процесу в черевній порожнині визначається змінами імунної системи: нейтрофільний тип гемограми, активація гуморальної та клітинної ланок імунітету на тлі Т-клітинного імунодефіцитного стану. Найбільш інформативними при гострому запаленні є індекси запалення [63-64]. Динаміка гематологічних індексів дають змогу прогнозувати перебіг запального процесу, виділення факторів ризику, що сприяють виникненню ускладнень та для вибору тактики подальшого лікування. За результатами досліджень Сперанського І.І. індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ (ІЛШОЕ) та лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ЛГІ) значно знижувалися і лише після лікування повертались до нормальних значень [65-67].

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт дослідження

Впродовж вересня 2018–жовтня 2019 року на базі лікарні Мотор Січ м. Запоріжжя та кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини ЗНУ проводилося дослідження крові чоловіків, хворих на гострий апендицит. Вік хворих у середньому склав 30 років. Контролем були умовно здорові чоловіки.

У хворих венозну кров брали на початку захворювання та через 2 тижні після операції. В крові визначали загальну кількість еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів, гемоглобін та ШОЕ. Із взятої крові виготовляли мазки, які були зафіксовані, пофарбовані та досліджені на визначення активності КБ, МПО і лейкограми Використовуючі данні з лейко грами та показник ШОЕ розраховували індекси активності запалення: індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ (ІЛШОЕ) та лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ЛГІ).

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Визначення загальної кількості еритроцитів в крові

Кількість еритроцитів визначали за допомогою камери Горяєва. Досліджувану кров необхідно розвести в 200 разів. Для цього в пробірку наливають 0,38 мл розчину NaCl і додають 0,02 мл крові.

Після промивання піпетки суміш ретельно струшують. Беруть краплю розведеної крові з пробірки і заповнюють нею камеру Горяєва, наносячи з краю покривного скла. Еритроцити підраховують через 1 хв після заповнення камери під малим збільшенням мікроскопа (об'єктив x8, окуляр x10 або x 15) з прикритою діафрагмою або опущеним конденсатором (в затемненому полі

зору). Еритроцити рекомендується рахувати за допомогою лічильної камери не пізніше 3 годин після взяття крові.

Еритроцити підраховують у п'яти великих (або 80 малих) квадратах, розташованих по діагоналі. Враховують еритроцити, що лежать всередині малого квадрата, а також на лівій і верхній його стінках. Клітини, що знаходяться на правій і нижній лініях квадрата, не рахують.

Кількість еритроцитів у 1 мкл крові розраховують за формулою:

$$E = \frac{A \times 4000 \times B}{B} \quad (2.1)$$

де E – кількість еритроцитів у 1 мкл крові;

A – кількість еритроцитів, виявлених у певній кількості малих квадратів;

B – кількість малих квадратів, у яких пораховано еритроцити;

B – ступінь розведення крові;

4000 – множник для перерахунку кількості еритроцитів на 1 мкл.

Об'єм малого квадрата дорівнює $1/4000 \text{ мм}^3$ або $1/4000 \text{ мкл}$ [68].

2.2.2 Визначення загального вмісту гемоглобіну в крові

Визначення кількості гемоглобіну в крові проводять за допомогою метода Салі. Принцип методу заснований на здатності гемоглобіну при змішуванні крові з соляною кислотою перетворюватись на солянокислий гематин – з'єднання коричневого кольору, інтенсивність забарвлення якого знаходиться залежно від кількості гемоглобіну. Першу краплю крові, що з'явилася після проколу пальця, необхідно зняти ватою або фільтрованим папером. З подальших крапель потрібно набирати кров в капілярну піпетку до мітки 0,02. Витирають кінчик піпетки ватою та видують із неї кров в

градуировану пробірку гемометра, в яку заздалегідь наливають 0,1% розчин соляної кислоти до розподілу. Після декількох струшувань пробірку ставлять в штатив (компаратор) із стандартними розчинами, через 5 хвилин порівнюють кольор суміші з кольором стандартних розчинів (звичайно кольор суміші темніше). Водю (за допомогою піпетки) розводять суміш до тих пір, поки її кольор не порівнюється повністю з кольором стандартного розчину, який відповідний певній концентрації гемоглобіну. По рівню розведення крові в градуированій піпетці визначають в ній вміст гемоглобіну. У міжнародній системі (SI) кількість гемоглобіну визначають у грамах на 1 л, тому одержаний результат необхідно помножити на 10 [69].

2.2.3 Визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) за методом Панченкова

Для визначення швидкості осідання еритроцитів використовують прибор Панченкова, що складається з штативу, в якому затискаються у вертикальному положенні спеціальні капіляри. На капілярах є шкала (в мм), яка складається з 100 поділок, мітки: «К» (кров) на рівні нуля та «Р» (реактиви) на рівні 50 мм. Капіляр приладу необхідно промити у 5 % розчині цитрату натрію. Набирати розчин у капіляр до позначки Р/50 і виливати його на предметне скло. Двічі набирати капіляром кров до позначки К(0), тримаючи при цьому капіляр горизонтально, випускати обидві порції крові на покривне скло у розчин цитрату натрію. Таким чином, кров розбавляється у співвідношенні 1:4. Порції крові швидко необхідно перемішати і відразу ж набирати у капіляр до позначки К (0). Верхній кінець капіляра необхідно затиснути вказівним пальцем, а нижній поставити у штатив вертикально і засікти час. Через годину вимірюємо за шкалою капіляра висоту стовпчика плазми (у мм), що утворилась за одну

годину внаслідок осідання еритроцитів. Потім порівнюємо отримані дані з нормою і робимо висновки.

Швидкість осідання еритроцитів у здорового чоловіка складає 1-10 мм/г, а у жінок – 2-15 мм/г [70].

2.2.4 Визначення загальної кількості тромбоцитів

Підрахунок кількості тромбоцитів можна проводити в мазку крові. Зважаючи на те, що тромбоцити поза кров'яним руслом збираються у купки, в яких підрахувати їх неможливо, необхідно запобігти їх склеюванню. Для попередження аглютинації кров'яних пластинок на місце взяття крові наносять краплю 14 %-ного розчину магнію сульфату. Краплю крові, що виділилася, змішують з розчином і з суміші готують мазки на предметному склі, які фарбують протягом 2-3-х годин за методом Романовського-Гімзи. Підраховують кількість тромбоцитів, яка приходить на 1000 еритроцитів, з використанням імерсійної системи мікроскопа. Тромбоцити мають вигляд маленьких (з діаметром 2-3 мкм) утворів круглої або овальної форми, забарвлених у фіолетовий колір, які зрідка розміщені по одному серед еритроцитів. Для полегшення підрахунку використовують спеціальне окулярне вікно (сітчастий окуляр). Підрахунок проводять у 4-х різних ділянках мазка. Також підрахунок тромбоцитів проводять за допомогою камери Горяєва. У меланжер для еритроцитів звичайним способом набирають кров до позначки 0,5 та розбавляють її в 200 разів розчинником для тромбоцитів. Потім необхідно відкласти меланжер на 10 хв, щоб тромбоцити пофарбувалися (на частіше використовують барвник метиленовий синій). Перед заповненням камери Горяєва повторно необхідно перемішати розчин. Потім проводимо підрахунок тромбоцитів під середнім збільшенням (x15-x40) мікроскопа в 25 квадратах сітки.

Кількість тромбоцитів у 1 мкл крові розраховують за формулою:

$$E = \frac{A \times 4000 \times B}{B} \quad (2.2)$$

де E – кількість тромбоцитів у 1 мкл крові;

A – кількість тромбоцитів, виявлених у певній кількості квадратів;

B – кількість квадратів, у яких пораховано тромбоцити;

B – ступінь розведення крові;

4000 – множник для перерахунку кількості еритроцитів на 1 мкл [71].

2.2.5 Підрахунок лейкоцитарної формули

Лейкоцити складаються з гранулоцитів (нейтрофіли, еозинофіли і базофіли) і агранулоцитів (лімфоцити, моноцити). У фарбованих мазках можна підрахувати їх відсоткові співвідношення і отримати лейкоцитарну формулу. Рахують не менш ніж 200 клітин, а потім визначають відсоткове співвідношення окремих видів лейкоцитів. Лейкоцити рахують під імерсійною системою мікроскопа. Предметне скло з пофарбованим мазком крові поміщають на столик мікроскопа і за допомогою малого збільшення знаходять край мазка. Не змінюючи положення скла, наносять краплю імерсійної олії на край мазка на місце, розташоване під об'єктивом. Переводять імерсійний об'єктив в вертикальне по відношенню до мазка положення, при цьому об'єктив занурюється в краплю олії. Обережно повертають макрогвинта до появи в полі зору мікроскопа зображення. Потім за допомогою мікрогвинта встановлюють чітку видимість препарату. Рахувати краще в тих областях мазка, які розташовані ближче до периферії [72].

2.2.6 Підрахунок загальної кількості лейкоцитів в крові

Для здійснити підрахунок лейкоцитів, необхідно попередньо зруйнувати (гемолізувати) еритроцити. Для цього змішують 0,38 мл оцтової кислоти (беруть 3% розчин з домішкою фарби (3-4 краплі 1% - ного розчину генціанвіолету або метиленового блакитного)) і 0,02 мл крові. Суміш перемішують, повторно набираючи і видуваючи (піпетирують). Маркують пробірку і залишають її до моменту підрахунку. Зберігати суміш крові з розчином оцтової кислоти рекомендується не більше 2-4 год. Додана до оцтової кислоти фарба забарвлює ядра лейкоцитів. Кров, розведена в пробірці оцтовою кислотою, ретельно перемішують і заповнюють нею лічильну камеру. Заповнену камеру залишають у горизонтальному положенні на 1 хв для осідання лейкоцитів. Не змінюючи горизонтального положення камери, поміщають її на столик мікроскопа і при малому збільшенні (окуляр 10 ×, об'єктив 8 ×) підраховують лейкоцити в 100 великих квадратах, що відповідає 1600 малим. Лейкоцити підраховують, таким чином, за кількістю забарвлених ядер, видимих на лічильній сітці під мікроскопом.

Кількість лейкоцитів у одному мікролітрі крові (X) визначають за формулою:

$$X = \frac{a \times c}{n \times s \times h} \quad (2.3)$$

де a – кількість підрахованих лейкоцитів;

c – розбавлення крові (у 10 або 20 разів);

n – кількість квадратів (100);

s – площа великого квадрата ($1/25 \text{ мм}^2$); h – висота камери (0,1 мм)

[68, 69].

2.2.7 Розрахунок індексів активності запалення

На підставі розширеного загальноклінічного аналізу крові, який виконували до операційного втручання, через 5, 9 діб, проводиться розрахунок гематологічних індексів інтоксикації за математичними формулами:

Розрахунок лімфоцитарно-гранулоцитарного індексу проводять за формулою:

$$\text{ІЛГ} = \frac{\text{л} \times 10}{\text{мц} + \text{юн} + \text{п} + \text{с} + \text{е} + \text{б}} \quad (2.4)$$

де л – лімфоцити;

мц – мієлоцити;

юн – юні нейтрофіли;

п – паличкоядерні нейтрофіли;

с – сегментоядерні нейтрофіли;

е – еозинофіли;

б – базофіли.

Розрахунок індексу співвідношення лейкоцитів та ШОЕ проводять за формулою:

$$\text{ІЛШОЕ} = \frac{\text{Лк} \times \text{ШОЕ}}{100} \quad (2.5)$$

де Лк – лейкоцити;

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів [69].

2.2.8 Визначення активності ферменту мієлопероксидази

Принцип цього методу полягає в тому, що в присутності пероксидази бензидин окислюється перекисом водню в коричневий оксибензидин.

Свіжі мазки фіксують 4% формаліново-спиртовим розчином (10 частин 40% формаліну та 90 частин 96% спирту) протягом 30 с. Обмивають проточною водою та висушують. Заливають на 10 хвилин реактивом на пероксидазу, який складається з розчиненого на кінчику ножа бензидину в 6 мл 96% спирту до якого потім додають 4 мл води та 0,02 мл 3% перекису водню. Ретельно промивають в проточній воді та висушують. Дофарбовують фарбником Романовського-Гімзи. Пероксидаза виявляється в цитоплазмі клітин у вигляді коричневих гранул (додаток А).

Оцінка результатів проводять напівкількісним аналізом використовуючи принцип Астальді, заснований на виявленні різного ступеня інтенсивності специфічного забарвлення. В залежності від нього всі досліджувані клітини ділять на 4 групи: з негативною реакцією (–), слабо позитивною (+), позитивною (++) та різко позитивною (+++). Для кількісного вираження результатів підраховують 100 нейтрофілів і диференціюють їх за вказаним принципом. Потім число клітин з однаковою інтенсивністю забарвлення переводять у проценти та множать на відповідне даній групі число плюсів, а сума цих добутків і становить умовні одиниці [73].

Нормальні величини: у здорової людини активність МПО виявляється частіше всього в цитоплазмі гранулоцитів та у меншій мірі – моноцитів. Фермент виявляється в кров'яних клітинах на стадії промієлоцитів і в ряді мієлобластів (більш зрілих) не містять фермент недиференційованих бластів, частини мієлобластів і лімфобластів; 3-16% нейтрофілів різко позитивно (+++), 60-90% – позитивно (++) , а останні – слабо позитивні (+). Показник активності реакції в умовних одиницях може коливатися від 0 до 300. СЦК нейтрофілів здорових людей дорівнює $2,56 \pm 3,3$ у.о. [74].

2.2.9 Визначення рівня катіонних білків

Фіксують мазки в 5% розчині сульфосаліцилової кислоти протягом 60-90 с. Ретельно промивають дистильованою водою та висушують. Фарбують 0,1% розчином бромфенолового синього в боратному буфері (реактив № 5) протягом 1-2 хвилин. Промивають у трьох змінах 0,05 М боратного буфера (реактив № 4) протягом 1-3 хвилин. Висушують та дофарбовують 1% розчином сафраніну протягом 30-60 с або 0,05% розчином основного фуксину протягом 1-2 с. Промивають проточною водою та висушують. Катіонний білок виявляється у цитоплазмі у вигляді синіх гранул.

Цитохімічне дослідження проводять у мазках крові; вони засновані на використанні специфічних хімічних реакцій для виявлення у клітинах різноманітних речовин. Ці дослідження дозволяють вивчити локалізацію та орієнтовно оцінити кількість досліджуваних речовин в клітинних елементах [75].

Рівень катіонних білків оцінювався за утворенням специфічних цитоплазматичних включень синього кольору за методикою з бромфеноловим синім (додаток Б).

2.2.10 Оцінка результатів цитохімічного дослідження мазків крові

Оцінка результатів проводять напівкількісним аналізом використовуючи принцип Астальді, заснований на виявленні різного ступеня інтенсивності специфічного забарвлення. В залежності від нього всі досліджувані клітини ділять на 4 групи: з негативною реакцією (-), слабо позитивною (+), позитивною (++) та різко позитивною (+++).

Візуально проводять оцінку цитохімічної реакції наступним чином:

0 - ступінь – пофарбовано тільки ядро, цитоплазма не пофарбована, не видно контурів гранул;

1-а ступінь – вся цитоплазма дифузно забарвлена або забарвлено не більше 1/4 цитоплазми;

2-а ступінь – в цитоплазмі видно добре забарвлені гранули, забарвлено більше 1/4 цитоплазми;

3-я ступінь – всю цитоплазму займають гранули, але ядро вільно на 3/4 і більше цитоплазми;

4-а ступінь – гранули займають всю цитоплазму і нашаровуються на ядро. Для кількісного вираження результатів підраховують 100 нейтрофілів і диференціюють їх за вказаним принципом. Потім число клітин з однаковою інтенсивністю забарвлення переводять у проценти та множать на відповідне даній групі число плюсів, а сума цих добутоків і становить умовні одиниці.

У здорових людей у нейтрофілах виявлено $123 \pm 1,5$ од. або СЦК $1,23 \pm 0,015$ [76].

2.2.11 Статистична обробка отриманих результатів

Статистичну обробку результатів проводили методом обчислення середньої арифметичної, помилки середньої арифметичної, середнього квадратичного відхилення. При порівнянні більше як двох незалежних вибірок використовували однофакторний дисперсний аналіз (One-Way ANOVA) за допомогою комп'ютерної програми SPSS.

Основним показником, що характеризує сукупність за величиною ознаки, яка вивчається, є середня арифметична (\bar{X}). Прямий спосіб її обчислення полягає в складанні усіх варіант ($X_1 + X_2 + \dots + X_N$) з наступним діленням суми на число варіант сукупності (N):

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (2.6)$$

де \bar{X} – середнє арифметичне;

Σx_i - сума варіант;

n – число варіант у виборці.

Далі підраховували відхилення кожного з отриманих результатів від середньої арифметичної $x_i - \bar{x}$, $(x_i - \bar{x})^2$, після чого розраховували середнє квадратичне відхилення за формулою:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_s - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (2.7)$$

де x_s – індивідуальні значення окремої ознаки, варіанти;

\bar{X} – середнє арифметичне;

$n-1$ – число ступенів свободи.

Потім знаходили величину середньої помилки ($S_{\bar{x}}$), яка прямо пропорційна середньому квадратичному відхиленню та обернено пропорційна числу проведених досліджень:

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n-1}} \quad (2.8)$$

де $S_{\bar{x}}$ – середнє квадратичне відхилення;

S – середня квадратична помилка окремої ознаки вимірювання;

$n-1$ – число ступенів свободи.

Для оцінки відмінностей між двома вибірками використовували непараметричний статистичний U-критерій Манна-Уїтні, який дозволяє виявити різниці в значенні параметру між малими вибірками:

$$U = n_1 \times n_2 + \frac{n_\chi \times (n_\chi + 1)}{2} - T_\chi \quad (2.9)$$

де n_1 – кількість одиниць у першій вибірці;

n_2 – кількість одиниць у другій вибірці;

T_χ – більша з двох рангових сум, відповідна до вибірки з n_χ одиниць [77, 78].

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Гематологічні показники у крові чоловіків, хворих на гострий апендицит

Результати дослідження гематологічних показників у крові чоловіків, хворих на гострий апендицит, представлені в табл. 3.1, додатках В-И.

Таблиця 3.1 – Гематологічні показники крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Показник	Дослідження	N	Середнє	Стандартне Відхилення	Стандартна похибка	95% довірчий інтервал для середнього		Мінімум	Максимум
						нижня межа	верхня межа		
Еритроцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	1	10	4,10	0,258	0,082	3,92	4,29	4	5
	2	10	4,13	0,252	0,080	3,95	4,31	4	5
Гемоглобін, г/л	1	10	141,10	6,297	1,991	136,60	145,60	130	150
	2	10	142,10	5,971	1,888	137,83	146,37	131	150
ШОЕ, мм/год	1	10	12,60	1,174	0,371	11,76	13,44	10	14
	2	10	10,30***	0,949	0,300	9,62	10,98	9	12
Тромбоцити $\times 10^9/\text{л}$	1	10	203,40	12,894	4,078	194,18	212,62	180	224
	2	10	204,50	10,565	3,341	196,94	212,06	185	221
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	1	10	14,58	1,169	,370	13,74	15,42	13	16
	2	10	6,26***	1,471	0,465	5,21	7,31	5	9
Еозинофіли, %	1	10	2,30	1,059	0,335	1,54	3,06	0	4
	2	10	1,50	0,850	0,269	0,89	2,11	0	3

ПЯН, %	1	10	10,20	0,919	0,291	9,54	10,86	9	12
	2	10	2,20***	0,919	0,291	1,54	2,86	1	4
СЯН, %	1	10	67,60	4,526	1,431	64,36	70,84	57	71
	2	10	67,90	4,067	1,286	64,99	70,81	60	72
Моноцити, %	1	10	2,70	1,337	0,423	1,74	3,66	1	5
	2	10	2,40	1,647	0,521	1,22	3,58	0	5
Лімфоцити, %	1	10	23,40	2,836	0,897	21,37	25,43	20	30
	2	10	27,90**	4,012	1,269	25,03	30,77	23	34

Примітки:

- 1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до лікування.
- 2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит після лікування.
3. ** - $p < 0,01$.
4. *** - $p < 0,001$.

Як показали результати досліджень, загальна кількість еритроцитів у чоловіків на обох етапах дослідження була незначно нижча референтних значень і складала $4,1 \pm 0,082$ та $4,13 \pm 0,08 \times 10^{12}/л$. Концентрація гемоглобіну та кількість тромбоцитів на обох етапах дослідження були у межах норми і відмінностей у групах не мали. ШОЕ перед операцією була вище верхньої межі фізіологічної норми і складала $12,6 \pm 0,37$ мм/год. Після операції вона достовірно знижувалася до $10,3 \pm 0,3$ мм/год ($p < 0,010$), проте не досягала фізіологічних значень.

Загальна кількість лейкоцитів у хворих чоловіків суттєво зростала і досягала $14,58 \pm 0,37 \times 10^9/л$. Спостерігається регенеративне зрушення нейтрофілів з високим вмістом паличкоядерних форм (ПЯН), відносна кількість яких досягала 10,2 %. Кількість сегментоядерних нейтрофілів (СЯН) у відносних показниках наближалася до верхньої межі фізіологічної норми і

досягала 67,6 %. Кількість всіх інших показників крові до оперативного втручання була у межах норми. Після операції майже у 5 разів знижується відносна кількість ПЯН і на 19 % збільшується відносна кількість лімфоцитів. Суттєвих змін за іншими показниками не відбувалося і вони знаходилися у межах фізіологічних значень.

Таким чином, при гострому апендициті достовірно зростає ШОЕ, загальна кількість лейкоцитів за рахунок ПЯН.

3.2 Індекси активності запалення у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Усім пацієнтам також здійснювали розрахунки індексів активності запалення: індексу співвідношення лейкоцитів і ШОЕ (ІЛШОЕ) та лімфоцитарно-гранулоцитарного індексу (ЛГІ).

Результати розрахунків індексів активності запалення крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит представлені в табл. 3.2, додатку К.

Таблиця 3.2 – Індекси активності запалення крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Показник	Дослідження	N	Середнє значення	Стандартне відхилення	Стандартна похибка	95% довірчий інтервал для середнього		Мінімум	Максимум
						нижня межа	верхня межа		
ІЛШО	1	10	1,84	0,277	0,088	1,646	2,043	1,28	2,23
	2	10	0,65***	0,175	0,055	0,52	0,7715	0,45	1,03

ЛГІ	1	10	2,94	0,484	0,153	2,596	3,289	2,38	3,95
	2	10	3,92**	0,728	0,23	3,402	4,443	3,15	5,31

Примітки:

- 1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до лікування.
- 2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит після лікування.
3. ** - $p < 0,01$.
4. *** - $p < 0,001$.

ІЛШОЕ дозволяє судити про наявність інтоксикації, пов'язаної з інфекційним або аутоімунним процесом. У наших досліджах у хворих чоловіків ІЛШОЕ був підвищеним до 1,83 у.о., що характеризує інтоксикацію, пов'язану з інфекційним процесом. Після лікування даний індекс знижувався до 0,65 у.о.

ЛГІ в нормі складає 4,56 у.о. Перед операцією він був нижчим і дорівнював 2,94 у.о., що свідчить про активацію запального процесу та зниження активності неспецифічної клітинної імунної ланки. Після лікування ЛГІ зростав до 3,89 у.о., наближаючись таким чином до рівня контролю.

Таким чином, при гострому апендициті достовірно змінюються показники індексів активності запалення.

3.3 Активність мієлопероксидази та рівень катіонних білків у нейтрофілах крові чоловіків, хворих на гострий апендицит

Результати дослідження стану активності МПО та рівня КБ у нейтрофілах крові чоловіків, хворих на гострий апендицит представлені в табл. 3.3, додатках Л, М.

Таблиця 3.3 – Активність МПО та рівень КБ у нейтрофілах крові чоловіків, хворих на гострий апендицит

Показник	Дослідження	N	Середнє	Стандартне Відхилення	Стандартна похибка	95% довірчий інтервал для середнього		Мінімум	Максимум
						нижня межа	верхня межа		
МПО у.о.	К	10	175,5	4,035	1,276	172,61	178,39	170	183
	1	10	107,5***	5,083	1,607	103,86	111,14	102	120
	2	10	177,5	5,482	1,734	173,58	181,42	170	188
КБ у.о.	К	10	165,8	10,696	3,382	158,15	173,45	150	183
	1	10	105,9***	2,885	0,912	103,84	107,96	103	113
	2	10	126,6***	6,096	1,928	122,24	130,96	116	134

Примітки:

1. К – контроль.
2. 1 – чоловіки, хворі на гострий апендицит до операції.
3. 2 – чоловіки, через два тижні після операції.
4. *** – $p < 0,001$ відносно контролю.

Як показали результати досліджень, до операції активність МПО у чоловіків, хворих на гострий апендицит на 39% нижча за контроль і складає $175,50 \pm 1,276$ у.о. ($p < 0,001$). Рівень КБ до операції також знижений – на 36% і складає $105,9 \pm 0,912$ у.о. при $165,8 \pm 3,382$ у.о. у контролі ($p < 0,001$). Зниження активності МПО і рівня КБ свідчить про участь кисеньзалежної та кисеньнезалежної метаболічних систем нейтрофілів у запальному процесі гострого апендициту.

Падіння активності МПО у нейтрофілах неминуче призводить до пригнічення їх фагоцитарної функції.

У процесі лікування, по мірі згасання активності патологічного процесу і зникнення клінічних симптомів захворювання, спостерігається позитивна динаміка досліджуваних параметрів: активність МПО повертається до показника контрольної групи і складає $177,5 \pm 1,734$ у.о., а рівень КБ підвищується до $126,6 \pm 1,926$ у.о., проте не досягає контрольних значень.

Таким чином, зміна функціонального стану нейтрофілів у вигляді зниження функціональної активності МПО та КБ, свідчить про гіперактивацію циркулюючих нейтрофілів зі зменшенням кількості гранул. Ці показники вказують на дегрануляцію нейтрофілів в системний кровотік, наслідком чого є зниження бактерицидної і фагоцитарної функції клітин ще до виходу у вогнище запалення.

Отримані результати свідчать про те, що цитохімічні показники відображають активність запального процесу і можуть служити критерієм його активності.

Для з'ясування впливу захворювання на ступінь змін активності мієлопероксидази та рівня катіонних білків використовували однофакторний дисперсійний аналіз. Результати ANOVA відображено у табл. 3.2.

Обчислення однофакторного дисперсійного аналізу показало наявність впливу лікування на напрям та ступінь змін досліджуваних цитохімічних показників нейтрофілів крові ($p < 0,001$).

Таблиця 3.4 – Показники достовірності (P) впливу лікування на ступінь змін активності МПО та рівня КБ у хворих на гострий апендицит за даними ANOVA

Показник		Сума квадратів	Df	Середній квадрат	F	P
МПО, у.о.	Між групами	31760,000	2	15880,000	660,139	0,001
	Всередині груп	649,500	27	24,056	-	-
	Всього	32409,500	29	-	-	-

КБ, у.о.	Між групами	18510,467	2	9255,233	173,668	0,001
	Всередині груп	1438,900	27	53,293	-	-
	Всього	19949,367	29	-	-	-

3.4 Кількість МПО та КБ-позитивних нейтрофілів в крові чоловіків, хворих на гострий апендицит

Показники кількості МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів у крові чоловіків, хворих на гострий апендицит представлені у табл. 3.3, додатках Н, П.

Таблиця 3.5 – Кількість МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Показник	Дослідження	N	Середнє	Стандартне Відхилення	Стандартна похибка	95% довірчий інтервал для середнього		Мінімум	Максимум
						нижня межа	верхня межа		
МПО+, %	К	10	85,85	2,593	0,82	83,99	87,71	82	90
	1	10	98,9***	1,287	0,407	97,98	99,82	97	100
	2	10	99,0***	0,943	0,298	98,33	99,67	98	100
КБ+,%	К	10	86,1	3,3120	1,0474	83,68	88,419	80,5	91,5
	1	10	99,6***	0,6992	0,2211	99,1	100,1	98	100
	2	10	99,5***	1,2693	0,4014	98,59	100,41	96	100

Примітки:

1. К – контроль.
2. 1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до лікування.

3. 2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит після лікування.
4. *** – $p < 0,001$ відносно контролю.

У контрольній групі кількість МПО-позитивних нейтрофілів склала $85,85 \pm 0,82\%$. При гострому апендициті їх кількість зростала на 15% і складала $98,9 \pm 0,407\%$. Після лікування кількість МПО-вмісних клітин досягала $99 \pm 0,298\%$.

Аналогічно змінювалася кількість КБ-позитивних клітин.

Для з'ясування впливу захворювання на ступінь змін кількості МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів використовували однофакторний дисперсійний аналіз.

Результати ANOVA відображено у табл. 3.5.

Таблиця 3.6 – Показники достовірності (P) впливу лікування на ступінь змін МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів у хворих на гострий апендицит за даними ANOVA

Показник		Сума квадратів	Df	Середній квадрат	F	P
МПО+, %	Між групами	1144,117	2	572,058	185,143	0,001
	Всередині груп	83,425	27	3,090	-	-
	Всього	1227,542	29	-	-	-
КБ +, %	Між групами	1215,050	2	607,525	139,453	0,001
	Всередині груп	117,625	27	4,356	-	-
	Всього	1332,675	29	-	-	-

Обчислення однофакторного дисперсійного аналізу показало наявність впливу лікування на напрям та ступінь змін кількості МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів ($p < 0,001$).

3.5 Ступінь інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Результати дослідження ступеня інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит, представлені в табл. 3.7, додатках Р, С.

Таблиця 3.7 – Ступінь інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Показник	Дослідження	N	Середнє	Стандартне відхилення	Стандартна похибка	95% довірчий інтервал для середнього		Мінімум	Максимум
						нижня межа	верхня межа		
МПО (1+),%	1	10	91,1	3,071	0,971	88,90	93,30	85	95
	2	10	29,1***	1,969	0,623	27,69	30,51	25	32
МПО (2+),%	1	10	5,0	2,404	0,76	3,28	6,72	2	10
	2	10	61,3***	3,498	1,106	58,8	63,8	53	65
МПО (3+),%	1	10	2,2	1,317	0,416	1,26	3,14	1	5
	2	10	8,6***	3,658	1,157	5,98	11,22	4	16
КБ (1+),%	1	10	93,9	2,079	0,657	92,41	95,39	90	96
	2	10	78,4***	7,199	2,276	73,25	83,55	65	87
КБ (2+),%	1	10	3,3	1,418	0,448	2,29	4,31	2	6
	2	10	15,4***	7,412	2,344	10,1	20,7	8	29
КБ (3+),%	1	10	1,8	0,632	0,2	1,35	2,25	1	3
	2	10	5,8***	2,53	0,8	3,99	7,61	2	9

Примітки:

1. 1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до лікування.

2. 2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит після лікування.
3. *** – $p < 0,001$.

Як показали результати дослідження, кількість нейтрофілів із слабкопозитивною реакцією на МПО при захворюванні була дуже високою і складала $91,1 \pm 0,971\%$, перевищуючи у 3 рази показники чоловіків після лікування ($29,1 \pm 0,687\%$) при $p < 0,001$. Нейтрофілів із помірною кількістю гранул та із багаточисельними гранулами було дуже мало – $5 \pm 0,76$ та $2,2 \pm 0,416\%$ відповідно. Таке співвідношення клітин із значним підвищенням нейтрофілів із слабкопозитивною реакцією на МПО може свідчити про активний запальний процес, при якому нейтрофіли викидають вміст своїх гранул у оточуюче середовище.

Після лікування кількість нейтрофілів із слабкопозитивною реакцією на МПО знижується, а із помірною кількістю гранул та із багаточисельними гранулами – підвищується, що свідчить про стабілізацію загального стану чоловіків.

Аналогічні зміни спостерігаються і за ступенем інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів на КБ. При гострому апендициті на початку захворювання найбільша кількість клітин була із слабкопозитивною реакцією, яка складала $93,9 \pm 0,657\%$. Після лікування їх кількість знижувалася, але не так суттєво, як із МПО – всього на $16,5\%$. Відповідно не значно зростала кількість нейтрофілів із помірною кількістю гранул та із багаточисельними гранулами із КБ. Це свідчить про продовження участі кисеньнезалежної метаболічної системи у післяопераційному періоді, внаслідок деструктивних процесів у відповідь на операційну травму.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що цитохімічні показники відображають активність запального процесу і можуть служити критерієм його активності.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ

Мета даного розділу показати практичні вміння застосовувати теоретичні знання при виконанні кваліфікаційної роботи на тему: «Функціональний стан нейтрофілів та особливості гематологічних показників у крові хворих на гострий апендицит».

Експериментальна кваліфікаційної роботи складалася з кількох етапів: перший – засвоєння методів цитохімічного виявлення МПО та КБ нейтрофілів в мазках периферійної крові, другий етап – статистичний та графічний аналіз отриманих даних за допомогою комп'ютера. При виконанні даної роботи можливі різного роду травми, такі як термічні та хімічні опіки, електротравми, потрапляння хімічних і біологічних рідин на одяг, шкіру і слизові оболонки, а також виникнення задухи у лабораторії.

Правила з охорони праці спрямовані на запобігання розвитку професійних захворювань та травм.

Перед початком роботи зі мною був проведений інструктаж з охорони праці №60 та пожежної безпеки №62 моїм науковим керівником, про що є запис у журналі реєстрації інструктажів при роботі в лабораторії.

При виконанні власної дослідницької роботи важливо не тільки знати вимоги безпеки, але й уміти застосовувати їх у нестандартних випадках.

Відповідність санітарно-гігієнічного режиму робочого місця встановленим нормам було запорукою моєї безпечної роботи. У робочій зоні лабораторії дотримувалися визначені параметри температури (20-22°C), вологості (40-60%), освітлення, швидкість переміщення повітря та усе відповідало вимогам ДНАОП 0.03-3.15-86.

Важливу роль при роботі в лабораторії мало провітрювання. Воно необхідно для відновлення концентрації кисню в повітрі закритого приміщення та для зниження концентрації вуглекислого газу. Тому дуже важливо, щоб у

приміщенні не створювався застій повітря. Повітря робочої зони відповідало ДСТ 12.1.005-86 [79].

Рівень виробничого шуму та вібрацій відповідав. ДСН 3.3.6.037-99 та 3.3.6.039-99 відповідно. Особливу увагу приділялось створенню нормальної освітленості робочого місця. Природне і штучне освітлення лабораторії відповідало вимогам СНіП II-4-79. Приміщення лабораторії повинні було обладнано водопроводом гарячої і холодної води та каналізацією відповідно до ДБН 2.5-64-2012.

В ході виконання практичної роботи були використанні такі індивідуальні та комплексні засоби захисту як: гумові рукавички та білий халат. При роботі з хімічними реактивами я мала обов'язковий спецодяг (халат з бавовняної тканини) згідно ст. 163 Кодексу законів про працю України і ДНАОП 0.00-4.26-96. У тканині не було добавок синтетичних волокон.

При проведенні дослідів у лабораторії застосовувала хімічний посуд: загального і спеціального призначення, зокрема мірний. Дуже часто використовувалися пробірки. Неприпустимо, щоб пробірка була наповнена до країв, щоб уникнути вихлюпування і попадання рідин на шкіру. Зовсім неприпустимо закривати пробірку пальцем і струшувати її в такому вигляді, оскільки можна зашкодити шкіру пальця чи одержати опік. При митті посуду стежила за тим, щоб йорж не вдарявся об дно і стінки посуду, тому що так можна вибити дно чи проломити стінку і поранитися.

При роботі над даною темою мені довелося працювати із електроприладами. Усі мої дії підпорядковувалися вимогам ДНАОП 0.00-1.21-98 «Правила безпечної експлуатації електроустановок споживачів». З електроприладами я працювала чітко дотримуючись інструкцій та паспортів заводу-виробника у присутності лаборанта. Перед початком роботи прилади перевірялися на справність, перевірялася цілісність дротів, проводилася перевірка заземлення (занулення) приладів, для яких це передбачене інструкцією. Після закінчення дослідів, а також коли прилад був тимчасово не

потрібен, він був відключений від електромережі. Використовувалася лише діючі прилади, що пройшли обов'язковий профілактичний огляд та перевірку.

Дана робота ґрунтувалась на роботі з кров'ю, що передбачає потребу у дотриманні низки правил, які відповідають ДСП 9.9.5.-080-02 [80].

Пожежна безпека об'єкту регламентується Законом України «Про пожежну безпеку» від 17.12.93 року, Правилами пожежної безпеки України, затвердженими 13.06.95 року наказом № 400 МВС України та інструкціями. В лабораторії повинні були справні первинні засоби пожежогасіння: вогнегасники вуглекислотні, пінні або порошкові, які розміщують безпосередньо в лабораторії; ящик або відро з піском (об'ємом близько 0,01 м³) і совком; покривало з вогнетривкого матеріалу [81].

Оскільки оформлення даної роботи неможливе без використання комп'ютерної техніки, то я дотримувалася при роботі з нею певних правил. До роботи на комп'ютері допускаються особи, що пройшли навчання та інструктаж з охорони праці. Усі особи, що працюють на комп'ютері, повинні знати заходи захисту та прийоми надання першої долікарської допомоги при ураженні електричним струмом. Вмикання комп'ютерів до електричної мережі здійснюється тільки через спеціально встановлені електричні розетки або вилки із заземленням. Підключення комп'ютера дротом без вилки забороняється.

Шкідливі фактори, що діють при роботі на комп'ютерах:

- робота на комп'ютерах пов'язана з навантаженням на зір, опорно-руховий апарат, а також емоційного та психологічного характеру;
- вплив на зір апаратура здійснює через такі фактори: яскравість зображення, колір, відповідність символів, відстань між рядками, стійкість зображення.

Площа, припадає на одного працюючого з дисплеєм, повинна бути не менше 6,0 м². Відстань між робочими місцями повинна бути не менше 1,5 м в ряду, і не менше 1,25 м між рядами. В приміщеннях, обладнаних відеотерміналом, стіни слід фарбувати фарбами пастельних тонів. Фарбованим

поверхням слід надавати матову фактуру. Допустимі рівні температури повітря в дисплейних залах плюс 22-24°C і швидкості руху повітря не менше 0,2 м/с.

В приміщеннях з дисплеями слід проводити вологе прибирання і регулярне провітрювання протягом робочої зміни. Видалення пилу з екрану слід проводити не рідше 1 разу за зміну. Покриття стола повинно бути матовим з коефіцієнтом відбиття 0,4. Освітлення робочих місць в горизонтальній площині на рівні 0,8 м від підлоги повинно бути 400 лк. Для штучного освітлення в дисплейних залах, як правило, слід застосовувати люмінесцентні лампи. Перед початком роботи слід видалити пил з екрану, перевірити захисне заземлення (занулення), упевнитись у наявності засобів гасіння вогню.

Відстань від очей користувача до екрана дисплея повинна становити 50-70 см, кут зору 10-20, але не більше 40°. Переважним є розташування площі екрана перпендикулярно до лінії зору користувача. Руки користувача повинні розташовуватися на робочому столі в горизонтальному положенні, або злегка нахилені, кут ліктя повинен складати 70-90°. Необхідна гарна опора для спини та сідниць. Стегна розташовують паралельно підлозі або на підставці.

При виникненні аварійної ситуації комп'ютер опиняється під напругою. При доторканні до нього відчувається проходження електричного струму. При спалахуванні проводки всередині апаратури необхідно вимкнути електроживлення, вимкнувши вилку шнура живлення.

Після закінчення роботи необхідно від'єднати апаратуру від електромережі. Робоче місце приводять у належний порядок. Все устаткування (лампи штучного освітлення, обігрівачі, вентилятори тощо) також вимикають [82].

Перша допомога починається з того, що потерпілого необхідно винести на свіже повітря. Якщо є кисневий апарат або балон з киснем, то потрібно забезпечити потерпілому дихання чистим киснем.

Якщо він не дихає самостійно, починають штучне дихання, у разі зупинки кровообігу і непрямий масаж серця. Але головне – це швидше доставити потерпілого в реанімаційне відділення .

Під час проведення дослідження трапляються нещасні випадки. Це передусім пов'язано з недотриманням правил техніки безпеки при використанні реактивів, при використанні апаратів і при роботі з комп'ютером.

До нещасних випадків, які можуть статися при виконанні даної роботи, відносяться термічні і хімічні опіки, електротравми, потрапляння біологічних рідин на одяг, шкіру і слизові оболонки, а також виникнення ядухи при роботі у лабораторії з неполадженими витяжками. Тому важливим є знання долікарняної допомоги при цих випадках, щоб зарадити їм і їхнім наслідкам.

Електротравми можуть виникати при доторканні за провід, який знаходиться під напругою.

Надання першої медичної допомоги потерпілому у разі електротравми повинно починатися з звільнення його від джерела струму. Для зупинення дії струму краще всього повернути вимикач, вимкнути рубильник, вивернути пробки на щітку. Якщо це з яких то причин не можливо, треба звільнити потерпілого від електропроводу. Для цього потрібно одягти гумові рукавички або обмотати руки шматком шовкової тканини и користуватися сухою дерев'яною палкою. Ні в якому разі не можна доторкатися до потерпілого голими руками. При відсутності ознак життя після звільнення потерпілого від дії електричного струму потрібно почати проведення реанімаційних заходів. Якщо дії виявилися успішними і потерпілий прийшов до тями, потрібно, не втрачаючи часу, накласти асептичні пов'язки на „мітки струму”, які є опіками, і відвезти потерпілого в лікарню.

При роботі з сироваткою крові можливе її потрапляння на шкіру, одяг, слизові оболонки. Всі біологічні рідини треба сприймати як потенційно заражені ВІЛ-інфекцією, тому згідно приказу № 120 МОЗ України від 20.05.00 розроблена перша допомога при цих випадках.

Так при потраплянні сироватки на халат, потрібно його зняти і замочити у дезінфікуючому розчині на 1 годину. Таким дезінфікуючим розчином може бути 0,5% р-н хлорантоїну, 0,5% р-н дезактину, 0,05% р-н бактоліну.

Якщо ж сироватка потрапила на шкіру, потрібно обробити уражену ділянку одним із дезінфікантів – це може бути 70⁰ спирт, 3% розчин перекису водню, 5% розчин йоду. Потім промивають шкіру двократно під проточною водою з милом, сушать стерильним рушником і знову обробляють дезінфікантом.

При потрапленні сироватки на слизові оболонки очей потрібно промити очі великою кількістю води і закапати 30% р-ном альбуциду, якщо ж сироватка потрапила на слизові оболонки ротової порожнини, потрібно прополоскати рот 70⁰ спиртом. Про всі випадки аварії потрібно повідомляти керівництво підприємства [83].

Таким чином, знаючи основні заходи безпеки при роботі в лабораторії і при використанні комп'ютерної техніки, я звела до мінімуму ризик появи будь-якого виду травм при проведенні біохімічних досліджень, що необхідні. Отже, ретельне виконання усіх правил безпеки дозволило мені уникнути надзвичайних та травматичних ситуацій під час виконання та написання кваліфікаційної роботи бакалавра.

ВИСНОВКИ

1. При гострому апендициті достовірно зростає ШОЕ ($12,6 \pm 0,37$ мм/год), загальна кількість лейкоцитів ($14,58 \pm 0,37 \times 10^9/\text{л}$) та спостерігається регенеративне зрушення нейтрофілів з високим вмістом паличкоядерних форм ($10,2 \pm 0,291$ %). Через два тижні після операції ШОЕ знижувалося до $10,3 \pm 0,3$ мм/год ($p < 0,010$), відносна кількість ПЯН у 5 разів і на 19 % збільшувалася відносна кількість лімфоцитів.

2. У хворих чоловіків індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ зростає до 1,83 у.о., що характеризує інтоксикацію, пов'язану з інфекційним процесом та знижується лімфоцитарно-гранулоцитарногоий індекс до 2,94 у.о., що свідчить про активацію запального процесу та зниження активності неспецифічної клітинної імунної ланки. Після лікування данні індекси наближались до рівня нормальних значень.

3. При гострому апендициті у чоловіків активність МПО на 39% нижча за контроль. Через два тижні після операції активність МПО повертається до показника контрольної групи і складає $177,5 \pm 1,734$ у.о. Рівень катіонних білків при гострому апендициті знижується на 36% і складає $105,9 \pm 0,912$ у.о. Після операції рівень КБ підвищується до $126,6 \pm 1,926$ у.о., проте не досягає контрольних значень ($p < 0,001$).

4. Кількості МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів при гострому апендициті та через 2 тижні після операції вищі за контроль ($p < 0,001$). Вміст МПО- та КБ-позитивних нейтрофілів до та після операції суттєвих відмінностей не мають.

5. Найбільшою кількістю клітин у крові при гострому апендициті у чоловіків є нейтрофіли із слабкопозитивною реакцією на МПО та КБ, вміст яких складає $91,1 \pm 0,971$ та $93,9 \pm 0,657$ % відповідно, перевищуючи у 3 рази показники післяопераційного періоду ($p < 0,001$). Після лікування кількість

нейтрофілів із слабкопозитивною реакцією на МПО та КБ знижується, а із помірною кількістю гранул та із багаточисельними гранулами – підвищується.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Вважаємо за доцільне з економічною метою при підозрі на гострий апендицит найбільш ефективно використовувати запропоновані допоміжні методи лабораторної діагностики.

2. Результати проведених досліджень можуть бути використані терапевтичними медичними закладами для оцінювання патологічного стану хворих з метою завчасної профілактики захворювань та їх лікування.

3. Найбільш ефективним способом діагностики незалежно від методики виконання є оцінка функціонально-метаболічної активності нейтрофілів, гематологічних показників та індексів запалення, що дають змогу прогнозувати перебіг запального процесу, виділення факторів ризику, що сприяють виникненню ускладнень та для вибору тактики подальшого лікування.

4. Результати досліджень можуть бути використані у педагогічному процесі при викладанні дисциплін «Анатомія людини», «Імунологія» та «Методи лабораторної (клінічної) імунології».

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Кондратенко П.Г., Конькова М.В. Ультразвукове дослідження в діагностиці гострого апендициту. *Шпитальна хірургія*. 2006. № 3. С. 83-86.
2. Акимова В.Н. Особенности гуморального иммунитета при острых воспалительных процессах брюшной полости. *Universum: Биология и химия*. 2015. №1. С. 22-30.
3. Wangensteen O.H., Buirge R.E., Dennis C., Ritchie W.P. Studies in the etiology of acute appendicitis. *Ann. Surg.* 2015. Vol. 16, No 2. P. 91.
4. Касимов Р.Р., Мухин А.С. Современное состояние диагностики острого аппендицита. *СТМ*. 2013. № 4. С.112-117.
5. Balthasar E.S., Megisow A. J., Birubaum B.A., Siegel S.E. Appendicitis: Prospective evolution with high resolution CT. *Radiology*. 2017. Vol.3, No 2. P. 21-24.
6. Лебедев Н. В., Климов А. Е., Бархударов А. А. Аппендицит. Москва : Хирургия, 2016. 96 с.
7. Bohannon W., Frazee R. Laparoscopic appendectomy for complicated appendicitis. *Arch Surg*. 2016. Vol.131, No 3. P. 509-511.
8. Сандер С. В., Желіба М. Д., Бондарчук О. І., Козлов О. В. Динаміка захворюваності на гострий апендицит. *Клінічна хірургія*. 1998. № 2. С. 11-12.
9. Колесова В. І., Данилов О. А., Доманський О. О., Христенко В. В. Гострий апендицит. *Журнал практичного лікаря*. 2007. № 4. С. 19-24.
10. Santacrose L. N. Appendicitis. *Emed J*. 2001. Vol. 2, No 10. P. 25.
11. Tucker J. G. Appendicitis. *Emed J*. 2001. Vol. 2, No 10. P. 2-10.
12. Carr N. J. The pathology of acute appendicitis. *Ann Diagn Pathol*. 2000. Vol. 4, No 1. P. 46-58.
13. Желіба М. Д., Омовський І. В., Чернопищук Р. М. Місцеві фактори ризику розвитку раневої інфекції після апендектомії та їх профілактика. *Харківська хірургічна школа*. 2014. № 5. С. 44-45.

14. Пархоменко Ю. Г., Али-Риза А. Е., Лозовская А. С., Гринько В. А. Иммуноморфологическая характеристика червеобразного отростка при вирусно-бактериальном его поражении у детей с аппендицитом. *Архив патологии*. 1994. Т. 53, № 5. С. 33-38.
15. Reddick E., Saye W. Laparoscopic appendectomy. *Surgical laparoscop.* 2015. Vol. 2, No 1. P. 22-39.
16. Lewis F.R. Laparoscopic appendectomy. Critical Review of Diagnosis and Treatment in 1000 Cases. *Arch. Surg.* 2015. Vol 110, No 5. P. 67-680.
17. Фомин С. А. Диагностика и лечение острого аппендицита. Москва : Хирургия, 2012. 128 с.
18. Совцов С. А. Современные принципы диагностики и лечения острого аппендицита. Москва : Медицина, 2013. 272 с.
19. Peftokalio K.R. Evolution of The age distribution and mortality of acute appendicitis. *Arch Surg.* 1981. Vol. 116, No 3. P.153-156.
20. Шухрат Ю. В. Интенсивная терапия и профилактика при аппендиците у детей. Москва : Медицина, 2013. 136 с.
21. Липатов В. А. Диагностика острого аппендицита. *Клінічна хірургія*. 2015. №4. С. 7-15.
22. Жукова О. Б., Рязанцева Н. В., Новицкий В. В. Острый аппендицит. Томск : Полиграфия, 2014. 142 с.
23. Кругликов Г. Г., Пекарский М. И. Характеристика функциональной морфологии клеток крови. Москва : Медицина, 2005. 176 с.
24. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Москва : Медиасфера, 2016. 582 с.
25. Рулева Н. Ю., Звонков А. А. Общая характеристика нейтрофилов. Метаболические системы нейтрофилов. Москва : Медиасфера, 2013. 192 с.
26. Маянский Н А. Особенности физиологии и значение нейтрофилов. *Иммунология*. 2014. №5. С. 31-37.
27. Hengartner M. O. The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 2015. Vol. 407, No 10. P. 770-776.

28. Bain C.C., Mowat A.M. Macrophages in intestinal homeostasis and inflammation. *Immunological reviews*. 2016. Vol. 260, No 7. P. 102-117.
29. Beyrau M, Bodkin JV, Nourshargh S. Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity. *Open Biol*. 2017. Vol. 201 Vol 9, No 5. P. 102-117.
30. Беллвуд Б. Б., Андрасик-Каттон М. А. Строение структурных элементов крови. Москва : Медицина, 2016. 144 с.
31. Герасимов И. Г. Неоднородность нейтрофилов в фагоцитозе и респираторном взрыве. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2014. № 6. С. 34-36.
32. Borregaard N. G., Herlin T. P. Energy metabolism of human neutrophils during phagocytosis. *J. Clin. Invest*. 1982. Vol. 70, P. 550-557.
33. Тутельян А. В., Клебанов Г. И. Прайминг фагоцитов и его применение в системе оценки специфической активности иммунорегуляторных соединений. *Иммунология*. 2004. № 15. С. 14-16.
34. Саркисян Н. С. Активация лейкоцитов. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2014. № 4. С. 22-23.
35. Васильчева Ж. М., Космачёва Е. Д., Чуприненко Л. М. Активация нейтрофильных лейкоцитов и уровень нейтрофилов. Москва : Медицина, 2012. С. 32-41.
36. Niemann H. N., Blasi J. M. Clostridial neurotoxins: new tools for dissecting exocytosis. *Trends Cell Biol*. 1994. Vol. 4, P. 179-185.
37. Муфазалова Н. А., Муфазалова Л. Ф., Мухаметзянова А. Я., Батракова К. В. Функциональная активность фагоцитов. *Теоретические и прикладные аспекты современной науки*. 2015. № 8. С. 124-128.
38. Гомоляко І. В., Тумосова К. П., Клочкова Н. Є. Нейтрофільні гранулоцити крові в нормі та при патології. Цитологічне дослідження. *Лабораторна діагностика*. 2006. № 4. С. 50-55.
39. Криль И. И. Изменения функциональной активности нейтрофилов у подростков при остром аппендиците. *Иммунология*. 2014. № 3. С. 60-67.

40. Пекарский М. И. Цитоплазматическая зернистость нейтрофильных лейкоцитов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2007. № 3. С. 39-43.
41. Михеев А. Г., Сидельникова А. А. Первичные и вторичные гранулы нейтрофилов человека. *В мире научных открытий*. 2009. № 6. С. 117-124.
42. Долгушин И. В. Особенности нейтрофильных гранулоцитов. Москва : Медицина, 2011. 248 с.
43. Тумасова К. П. Структурно-функциональная характеристика кислородзависимой бактерицидной системы нейтрофильных гранулоцитов. *Клінічна хірургія*. 1997. № 5. С. 252-258.
44. Охотина С. В., Сомова Л. М. Бактерицидные системы нейтрофилов. Москва : Медицина, 2011. 164 с.
45. Прийма О. Б. Неферментативные катионные белки лейкоцитов периферической крови – фактор неспецифической реакции организма на повреждения. *Клиническая медицина*. 1997. № 2. С. 4-8
46. Savage C. O., Rees A. J. Immunopharmacology of Neutrophils. *Academic Press*. 1994. Vol. 7, P. 259-273.
47. Арнхольд Ю. В. Свойства, функции и секреция миелопероксидазы человека. *Биохимия*. 2015. № 1. С. 8–15.
48. Раменская Н. П. Миелопероксидаза – фактор неспецифической резистентности организма. *Вопросы биохимии в педиатрии*. 1993. № 4. С. 36–48.
49. Гавриленко Т. И., Рыжкова Н. А., Пархоменко А. Н. Миелопероксидаза и ее роль в развитии острого аппендицита. *Украинский медицинский журнал*. 2014. № 4. С. 119-126.
50. Рулева Н. Ю., Звягинцева М. А., Дугин С. Ф. Миелопероксидаза: биологические функции и клиническое значение. *Современные наукоемкие технологии*. 2007. № 8. С. 4-8.
51. Марина А. С., Наточин Ю. В. Активность миелопероксидазы. Москва : Медицина, 2016. 95 с.

52. Проскуряков И. Г. Изменение ферментной формулы нейтрофильных лейкоцитов при острых заболеваниях органов брюшной полости : автореф. ... кан. мед. наук : 14.00.27. Краснодар, 1998. 19 с.

53. Меньшикова Е. Б. Метаболическая активность гранулоцитов при хронических неспецифических заболеваниях. *Клиническая медицина*. 2014. № 11. С. 85-87.

54. Меньшикова Е.Б., Зенков Н. К. Гранулоциты крови при воспалении. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2015. №3. С. 14-16.

55. Шапошников В. И. О нарушении адаптационной возможности биологической самозащиты нейтрофилов при острых хирургических заболеваниях брюшной полости. *Успехи современного естествознания*. 2005. № 8. С. 94-95

56. Жаворонок Т. В. Редокс-зависимые механизмы изменений функциональных свойств нейтрофилов при остром воспалении и окислительном стрессе : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.03. Томск, 2012. 82 с.

57. Гомолако І. В., Тумасова К. П., Колочкова Н. С., Самсонова Г. В. Критерії оцінки стану системи нейтрофільних гранулоцитів крові у пацієнтів з рановою інфекцією. *Клінічна хірургія*. 2006. № 11. С. 54.

58. Акімова В.М. Особливості гуморального імунітету при деструктивних формах гострого апендициту. *Практична медицина*. 2016. №1. С.28-31.

59. Акімова В.М. Показники клітинного імунітету у хворих на гострий апендицит з різним ступенем деструктивних змін червоподібного відростка. *Вісник морської медицини*. 2017. №2. С. 74-77.

60. Томашук И.П., Томашук И.И. Острый аппендицит. Київ : Здоров'я, 2015. 96 с.

61. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. Санкт-Петербург : Наука, 2016. 231 с.

62. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н. Иммунная система и воспаление. *Современные проблемы аллергологии, иммунопатологии, иммунофармакологии*. 2017. №5. С. 269-280.

63. Луців Н.З., Акімова В.М. Реактивність фагоцитуючих клітин при гострому запальному процесі. *Біологія тварин*. 2015. №4. С. 195.

64. Гешелин С.А., Каштальян М.А., Шаповалов В.Ю. Сроки восстановления гомеостаза крови после открытой и лапароскопической аппендэктомии по данным лазерной корреляционной спектроскопии и интенсивности перекисного окисления липидов. *Клін. хірургія*. 2017. № 5-6. С. 23-24.

65. Островский В.К., Мищенко А.В., Янголенко Д.В. Лейкоцитарный индекс интоксикации и некоторые показатели крови при оценке тяжести течения и определения прогноза воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваний различных локализаций. *Анестезиология и реаниматология*. 2015. № 6. С. 25-29.

66. Акімова В.М., Лаповець Л.Є. Адаптаційні реакції та інтегральні гематологічні індекси неспецифічної резистентності при гострих та хронічних запальних процесах в черевній порожнині. *Вісник проблем біології та медицини*. 2015. № 1. С. 79-82

67. Сперанский И.И., Самойленко Г.Е., Лобачева М.В. Общий анализ крови — все ли его возможности исчерпаны? Интегральные индексы интоксикации как критерии оценки тяжести течения эндогенной интоксикации, ее осложнений и эффективности проводимого лечения. *Острые и неотложные состояния в практике врача*. 2016. № 6. С. 273.

68. Камышников В.С. Методы клинических лабораторных исследований. Москва : Гоэтар-Медиа, 2015. 752 с.

69. Кишкун А.А. Клиническая лабораторная диагностика. Москва : Гоэтар-Медиа, 2016. 976 с.

70. Вялова С.С. Диагностическое значение лабораторных исследований. Москва : Медпресс-информ, 2015. 176 с.

71. Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. Биохимические анализы в клинике Москва : Медпресс-информ, 2015. 216 с.
72. Инькова А.Н. О чем говорят анализы. Серия «Медицина для Вас». Ростов на Дону : «Феникс», 2016. 96 с.
73. Саидов М. В., Пинегин Б. В. Способы определения активности миелопероксидазы в фагоцитирующих клетках. *Лабораторное дело*. 1991. № 3. С. 56-59.
74. Базарный В. В., Тихонина Е. Н., Кондрашов К. В. Определение миелопероксидазы нейтрофилов при хирургическом лечении. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012. № 7. С. 8-10.
75. Гордієнко А. І., Гордієнко А. Н., Ісакова Л. М. Метод визначення фагоцитарної активності нейтрофілів і моноцитів периферичної крові. *Імунологія*. 2004. № 213. С. 5-7.
76. Трухачёв В. И., Родин В. В., Михайленко В. В., Дергунов А. А. Цитохимическое определения пероксидазы и катионных белков в лейкоцитах : учебно-методологическое пособие. Москва : «Триада - X», 2010. 78 с.
77. Лакин Г. Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. ВУЗов. Москва, 1990. 352 с.
78. Бююль А., Цефель П. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. Санкт-Петербург, 2005. 608 с.
79. Семенов А. С. Охорона праці і техніка безпеки по хімії. Москва : Хімія, 1981. 142 с.
80. Кучерявий В. О. Охорона праці. Львів : Оріяна-Нова, 2007. 368 с.
81. Кузнецов В. А. Пожежна безпека. Харків : УЦЗУ, 2008. 575 с.
82. Керб Л. П. Основы охраны труда. Київ : КНЕУ, 2006. 216 с.
83. Ткачук К. Н., Халімовський М. О., Запарний В. В. Охорона праці та промислова безпека. Київ : Основа, 2006. 448 с.

ДОДАТКИ

Додаток А

Гранули мієлопероксидази в цитоплазмі нейтрофільного гранулоциту крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

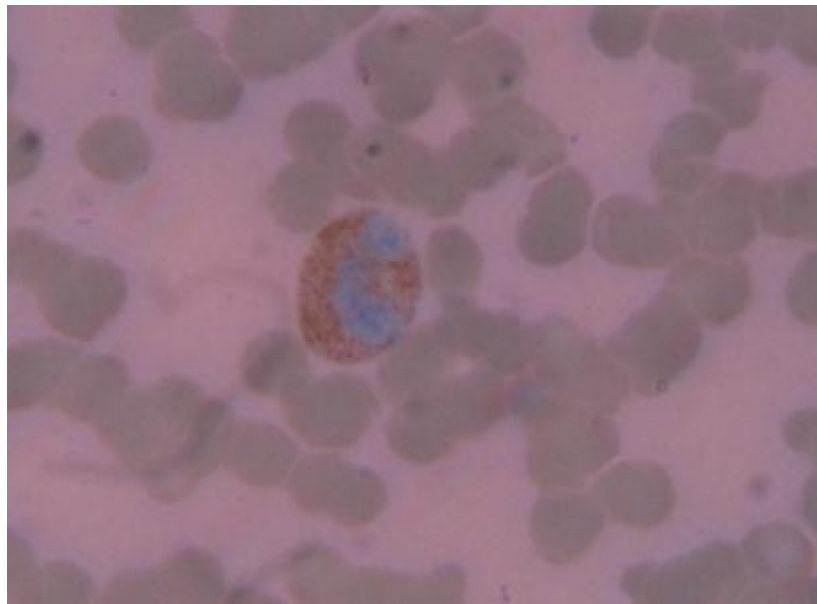


Рисунок А.1 – Нейтрофіл з високою активністю мієлопероксидази

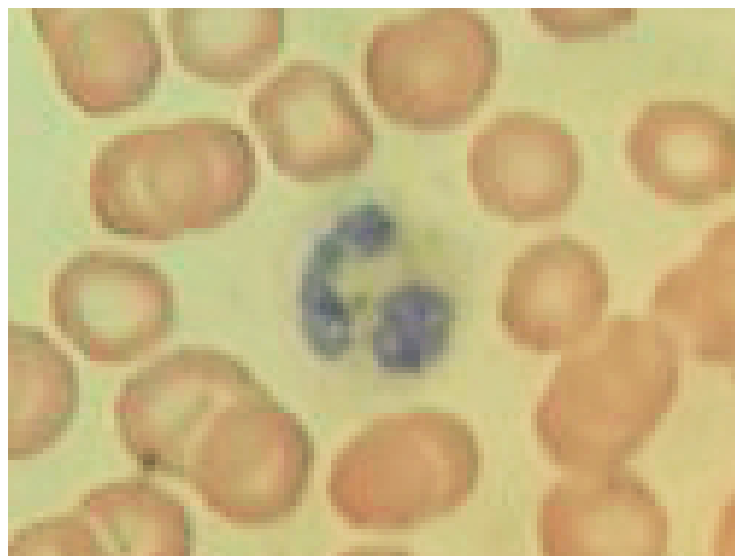


Рисунок А.2 – Нейтрофіл з відсутньою активністю мієлопероксидази

Додаток Б

Гранули катіонних білків в цитоплазмі нейтрофільного гранулоциту крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

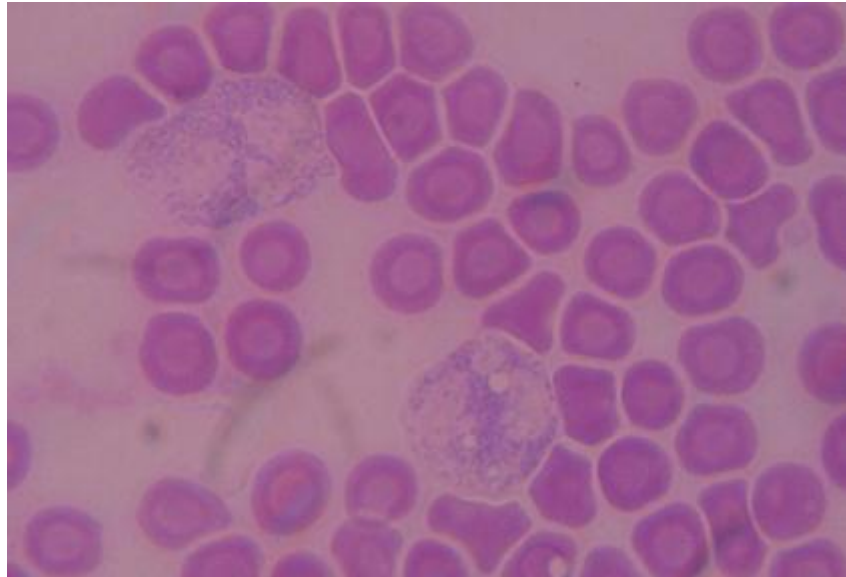


Рисунок Б.1 – Нейтрофіли з катіонними білками

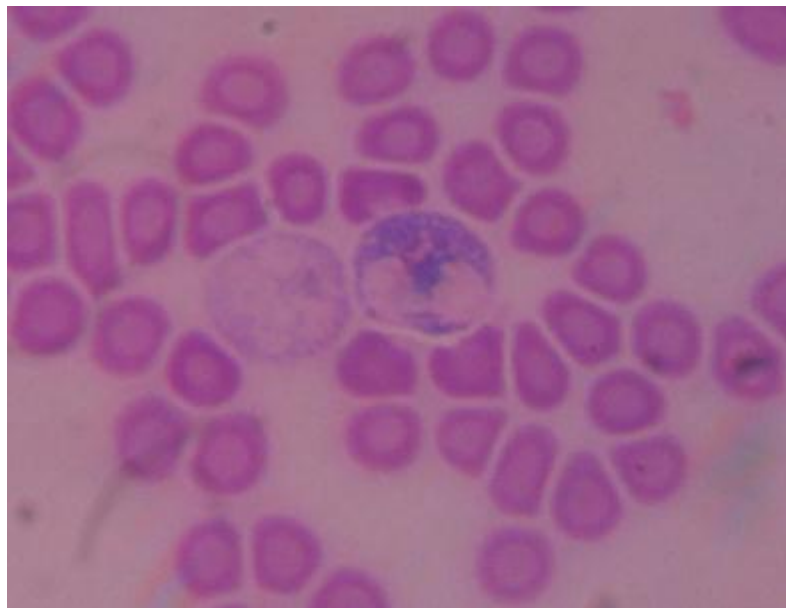
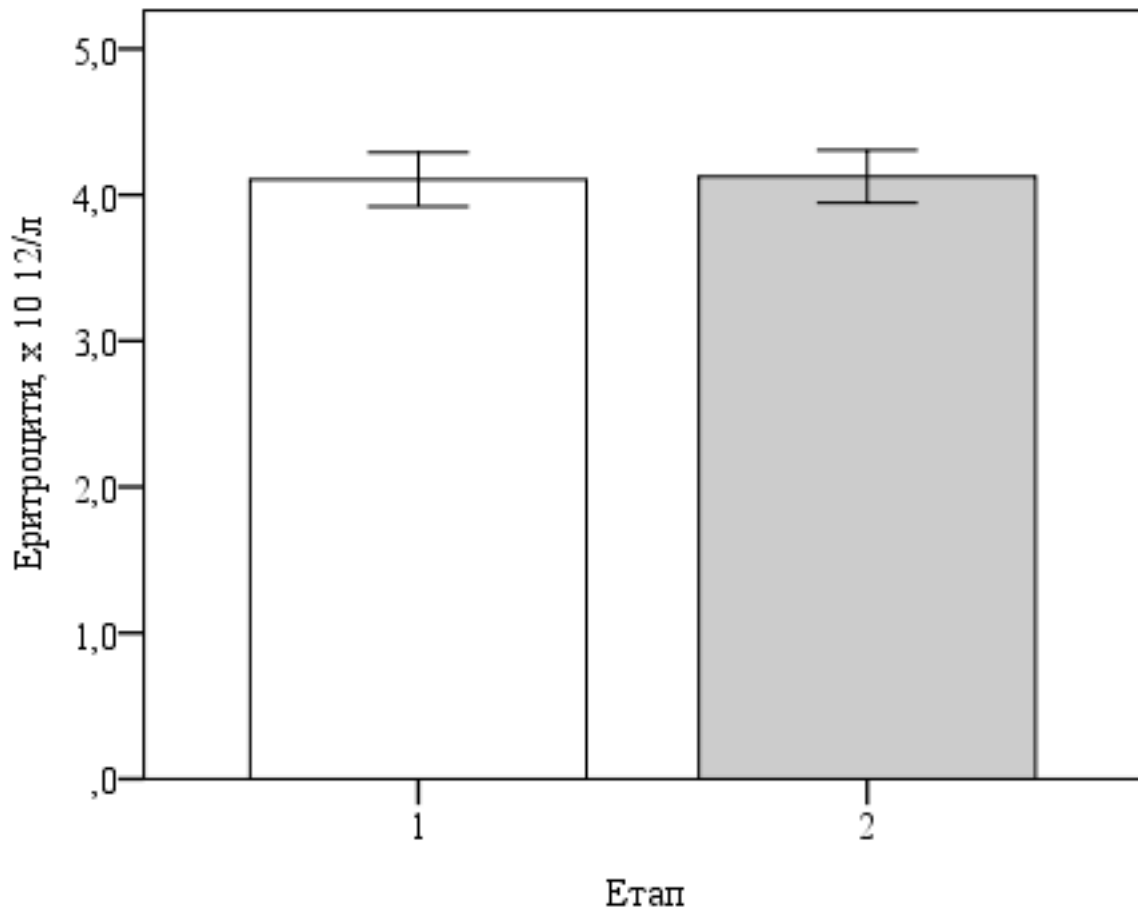


Рисунок Б.2 – Токсична зернистість у нейтрофілі

Додаток В

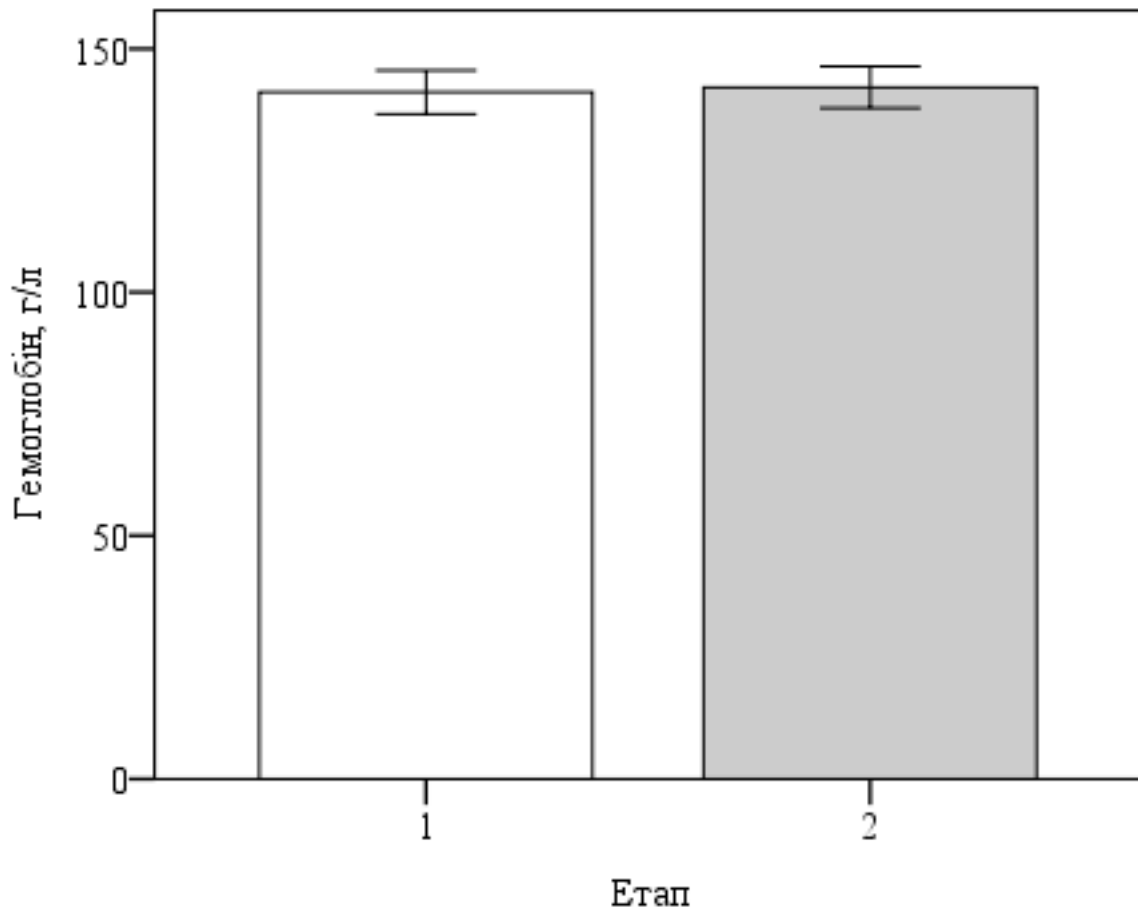


1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

Рисунок В.1 – Кількість еритроцитів в крові чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток Г

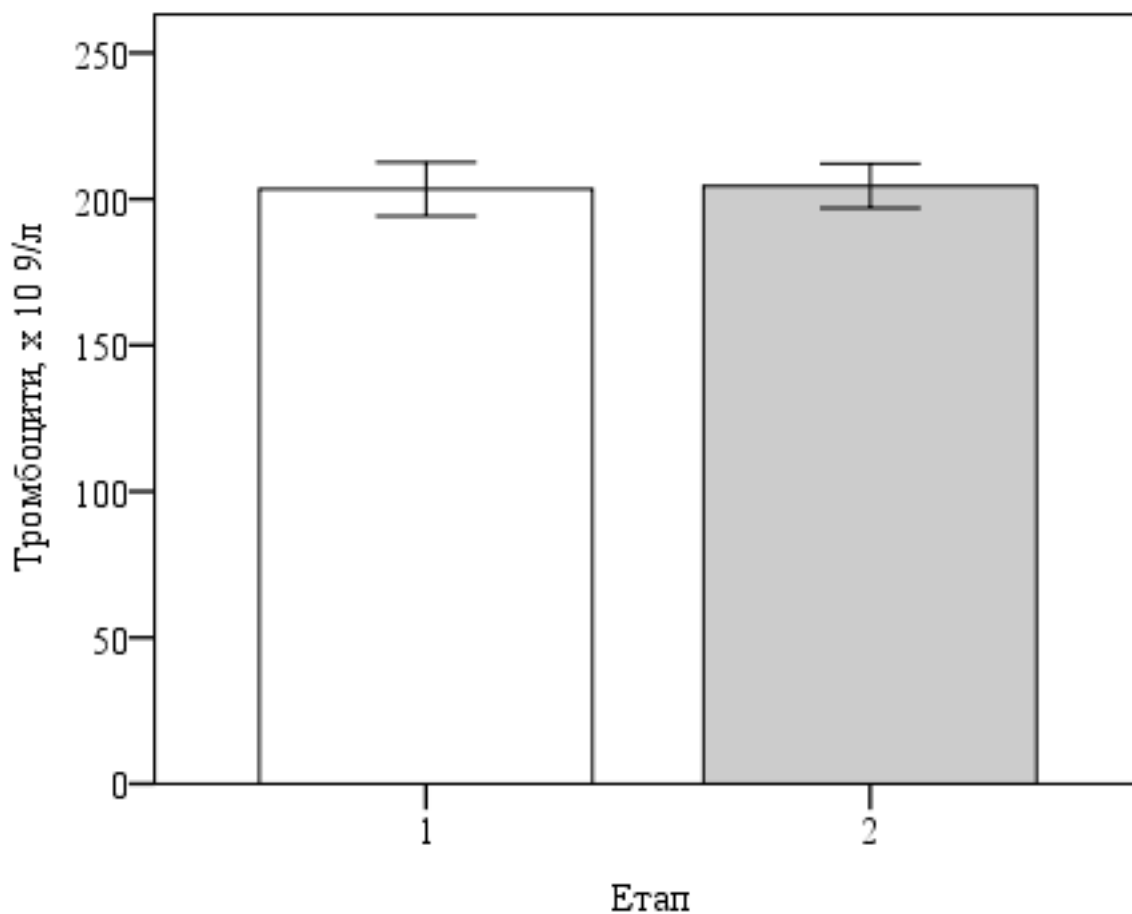


1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

Рисунок Г.1 – Кількість гемоглобіну в крові чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток Д

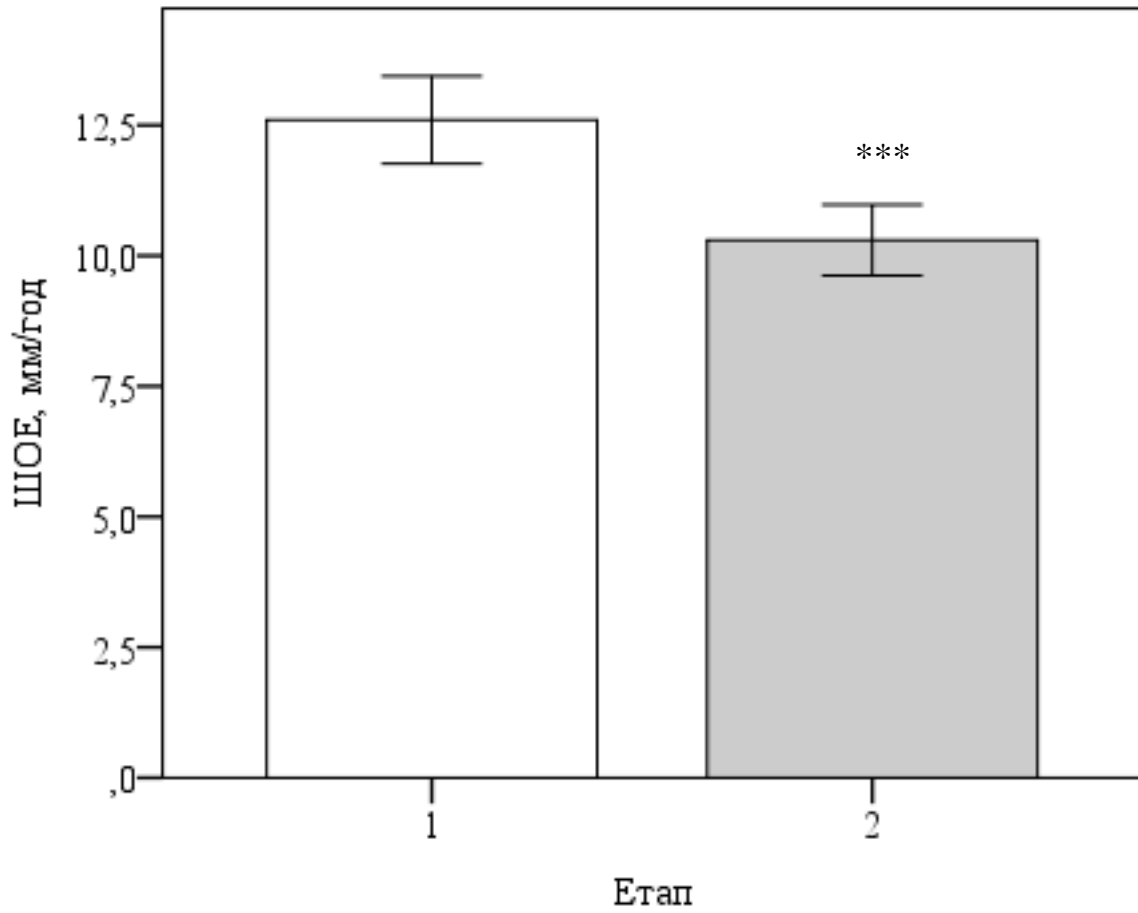


1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

Рисунок Д.1 – Кількість тромбоцитів в крові чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток Е



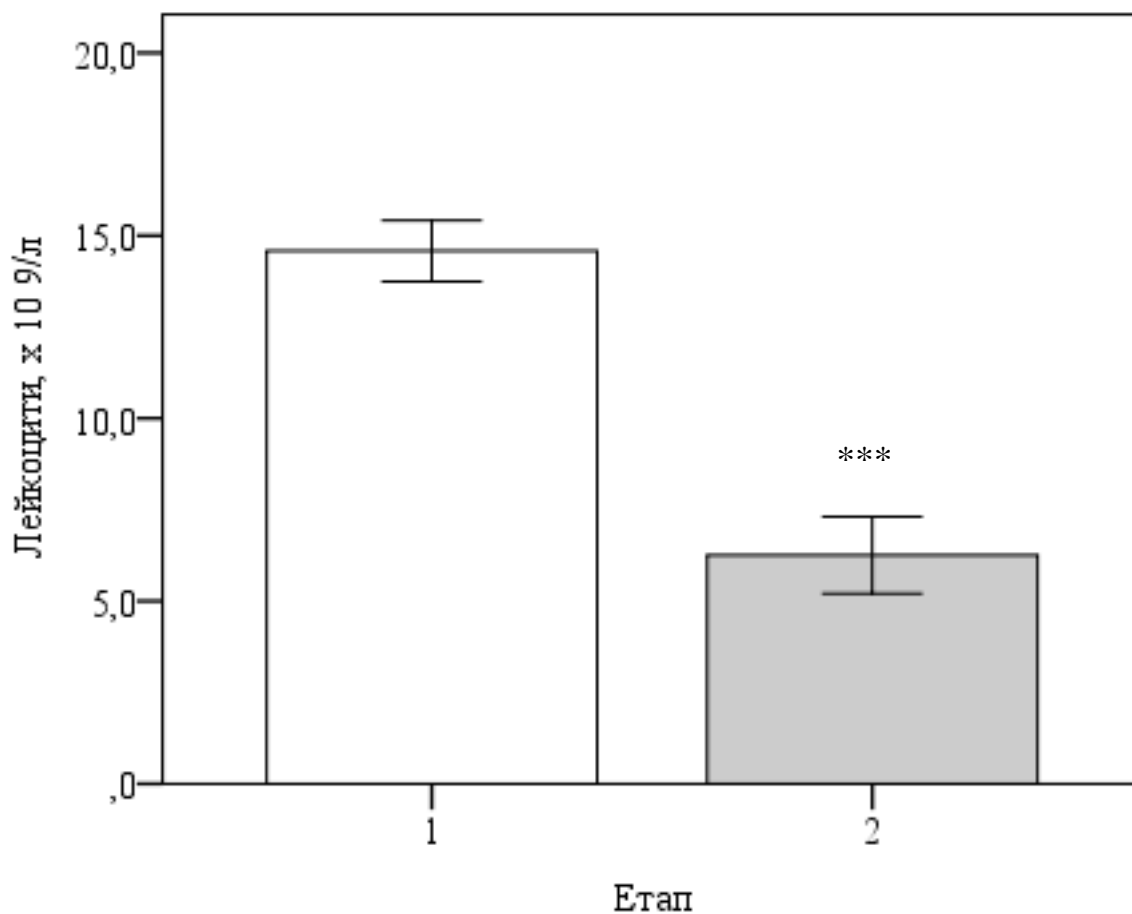
1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

*** – $p < 0,001$.

Рисунок Е.1 – ШОЕ у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток Ж



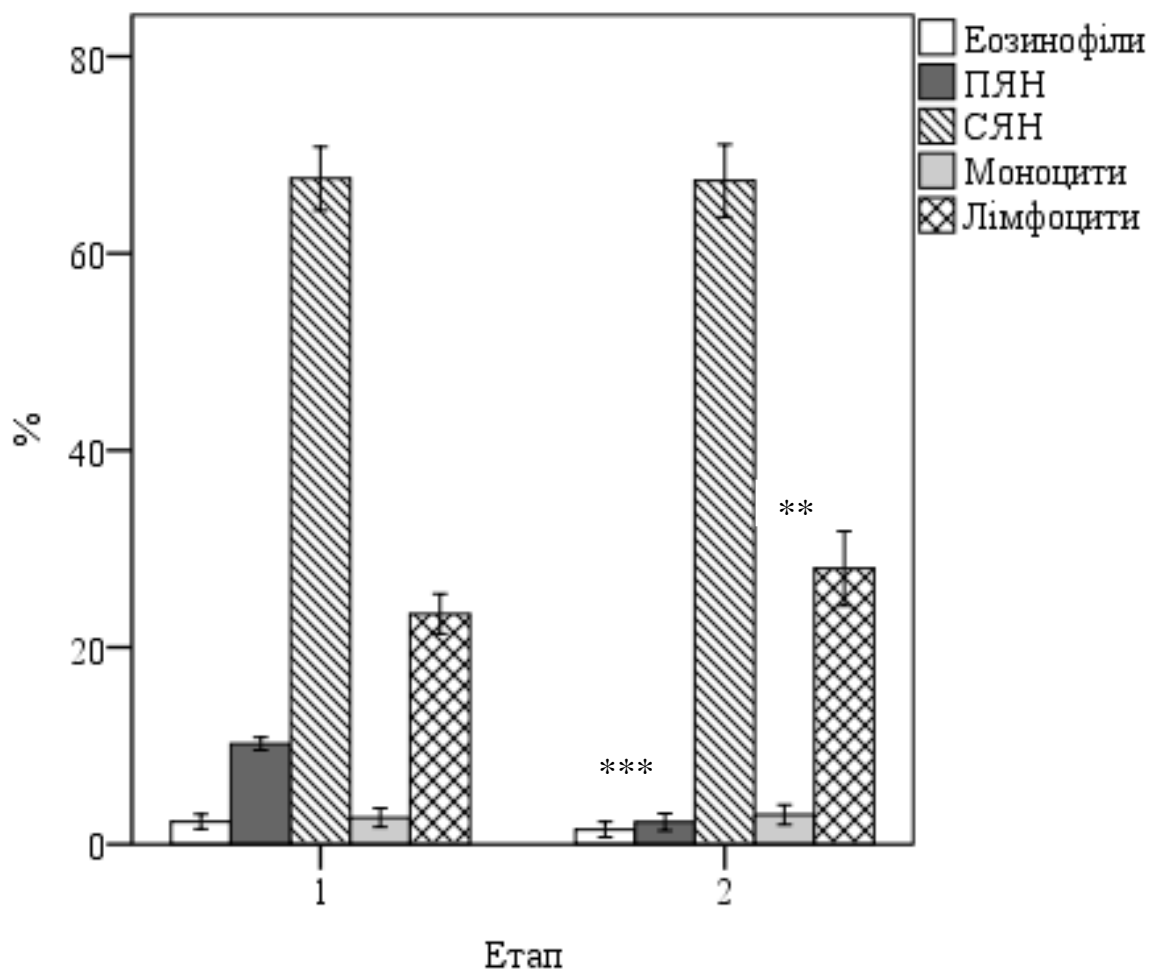
1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

*** – $p < 0,001$.

Рисунок Ж.1 – Загальна кількість лейкоцитів в крові чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток И



1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

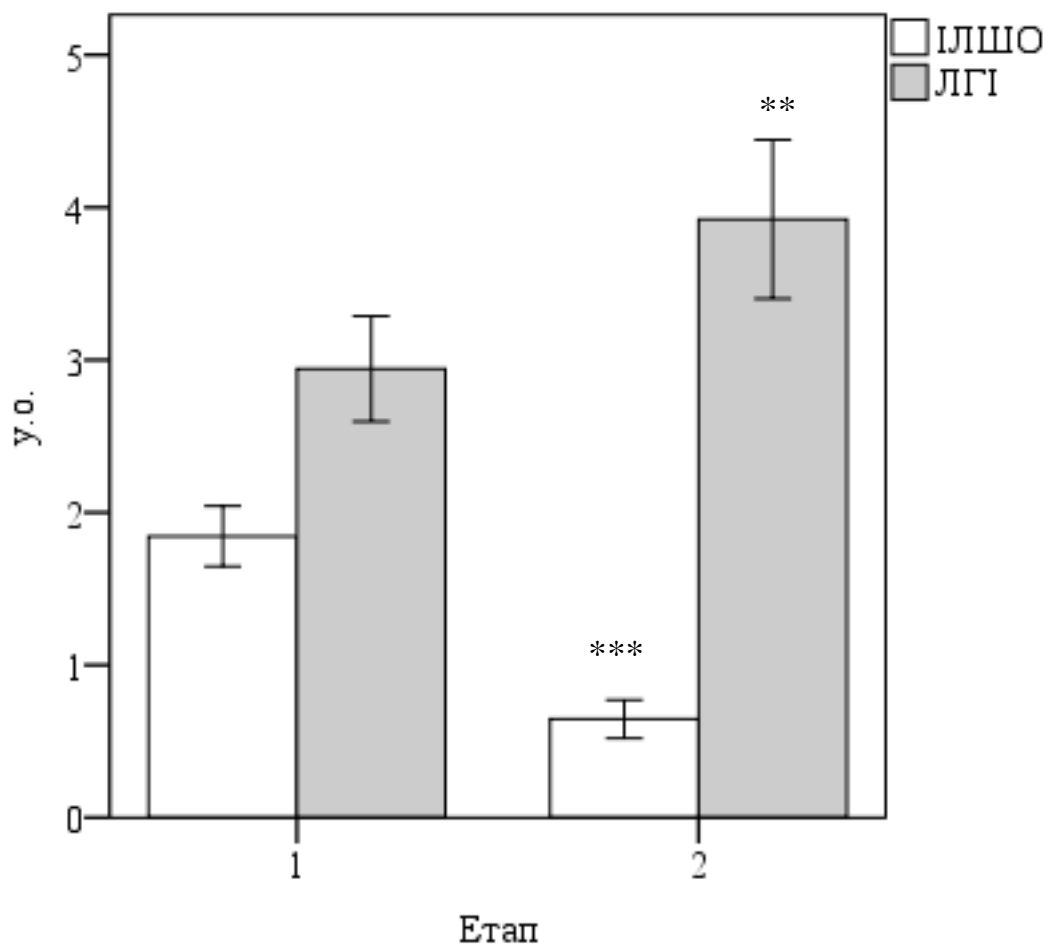
2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

** – $p < 0,01$.

*** – $p < 0,001$.

Рисунок И.1 – Лейкограма крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток К



1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

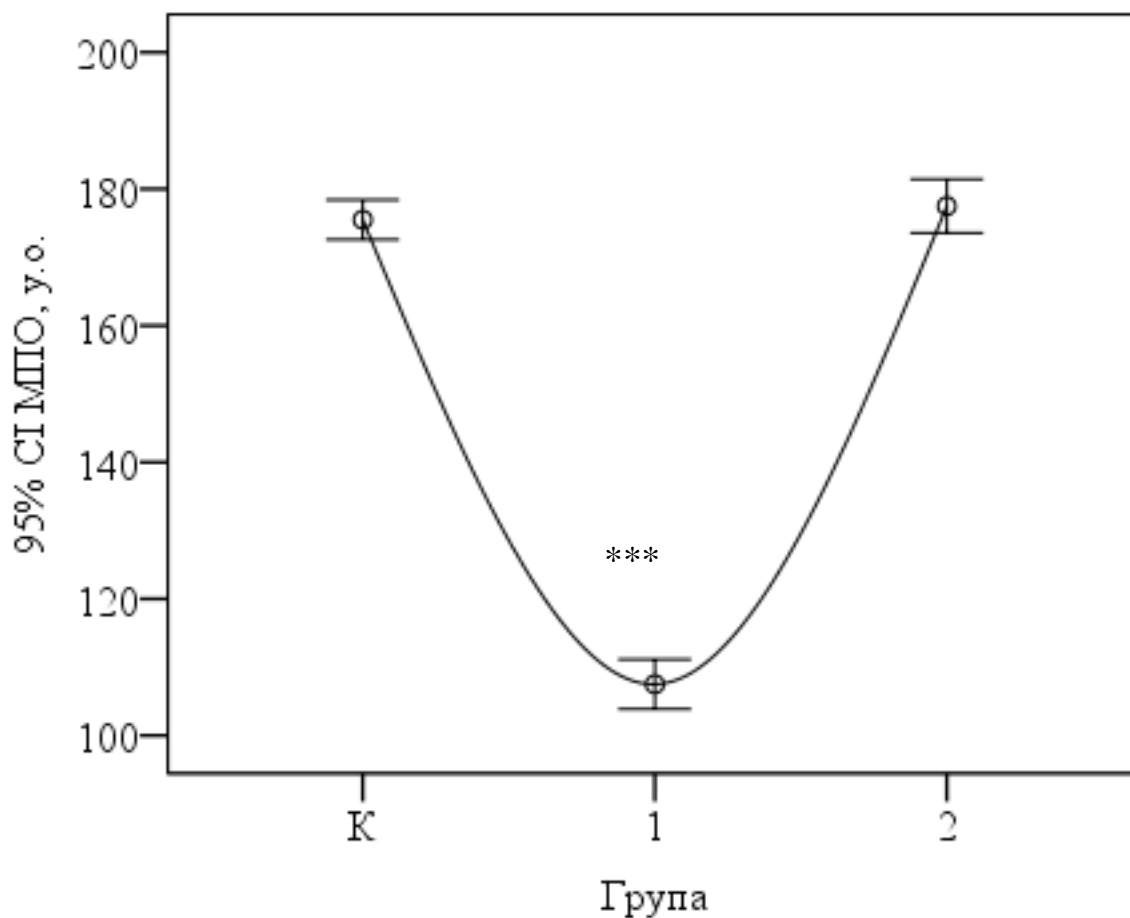
ІЛШО – індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ, ЛГІ – лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс.

** – $p < 0,001$.

*** – $p < 0,001$.

Рисунок К.1 – Індeksi активності запалення крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток Л



К – контроль.

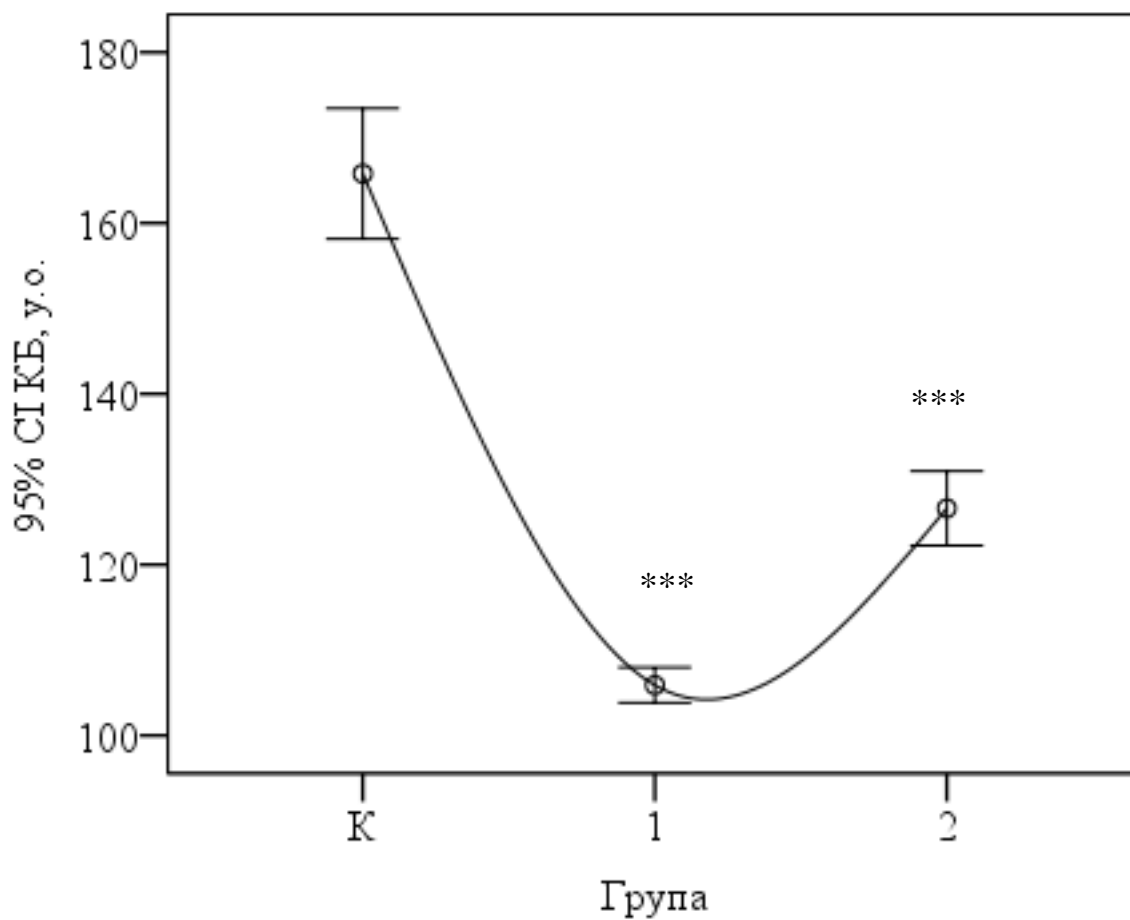
1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

*** – $p_{К-1, 2-3} < 0,001$.

Рисунок Л.1 – Стан активності МПО нейтрофілів крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток М



К – контроль.

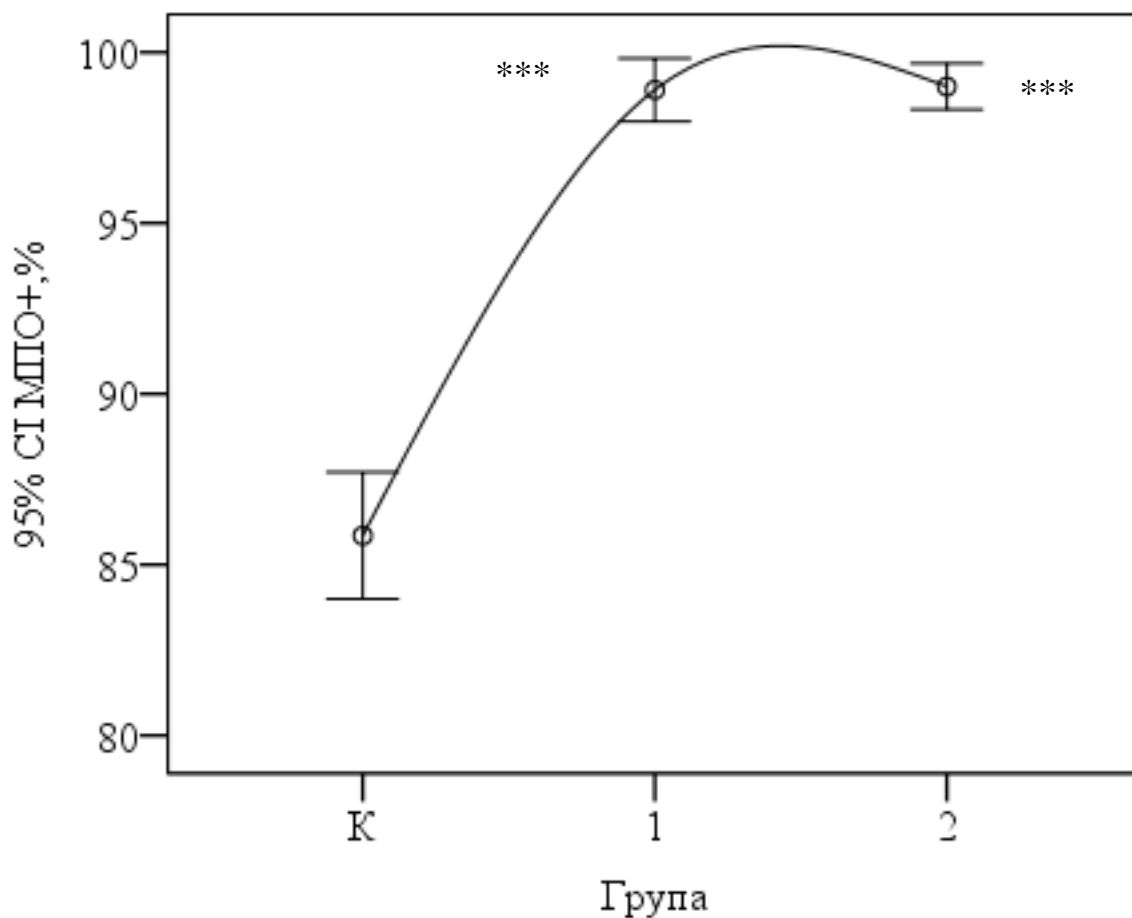
1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

*** – $p_{К-1, К-2, 2-3} < 0,001$.

Рисунок М.1 – Рівень КБ нейтрофілів крові у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток Н



К – контроль.

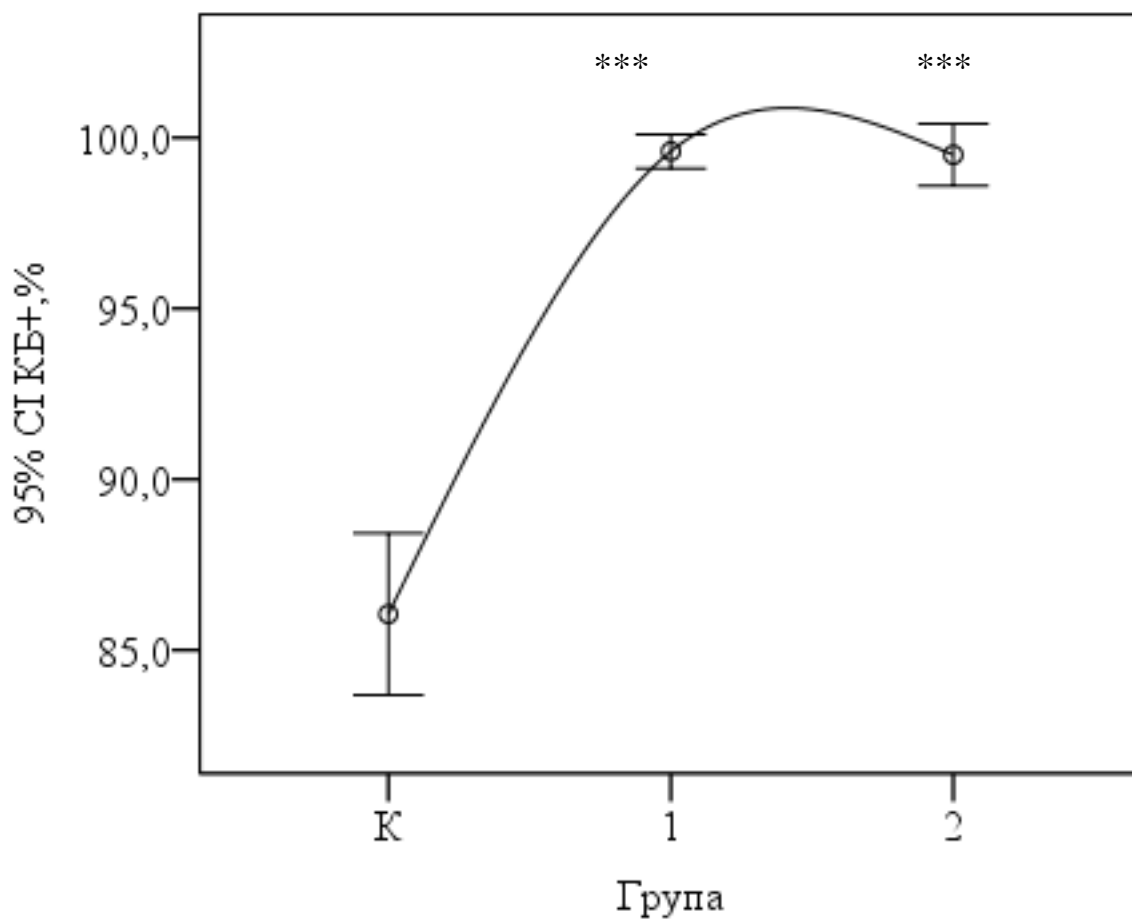
1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції;

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

$p_{2-3} < 0,01$, $p_{К-1, К-2} < 0,001$.

Рисунок Н.1 – Кількість МПО-позитивних нейтрофілів у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток П



К – контроль.

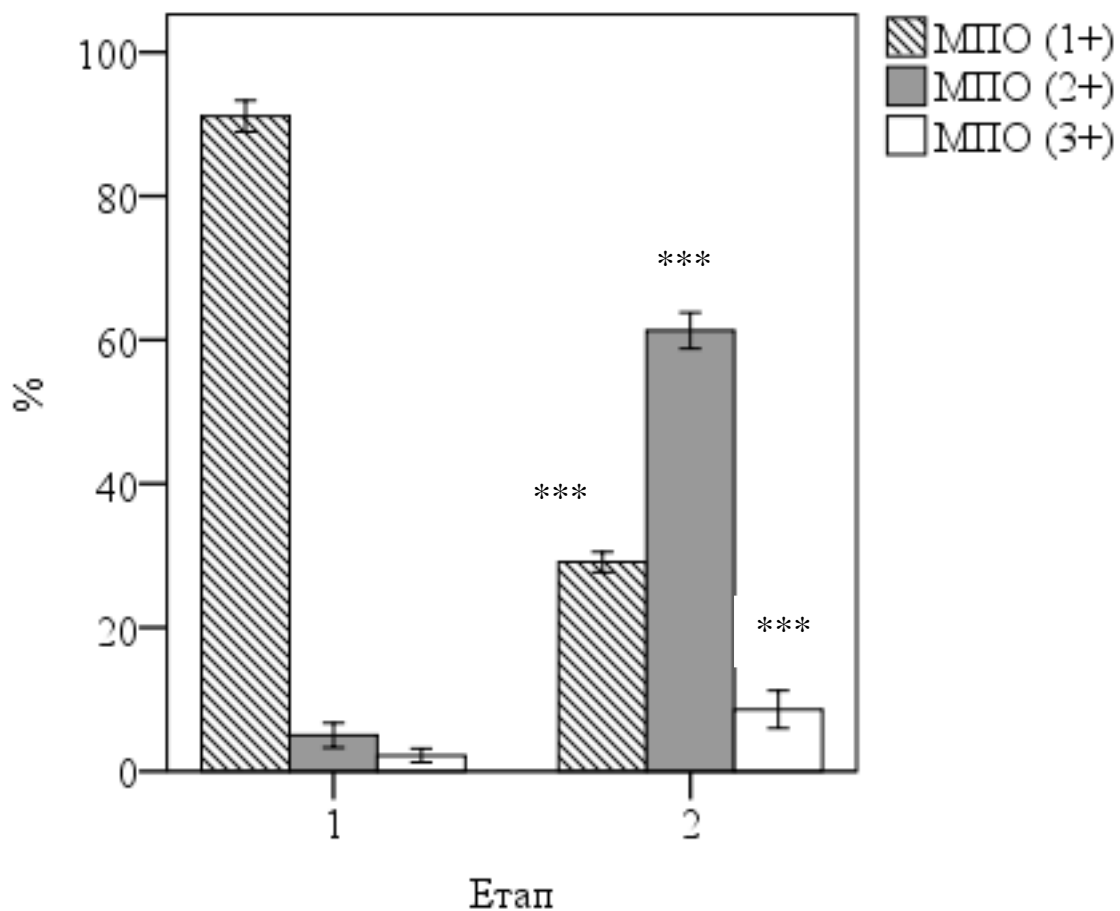
1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції.

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції.

*** – $p < 0,001$ відносно контролю.

Рисунок П.1 – Кількість КБ-позитивних нейтрофілів у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток Р



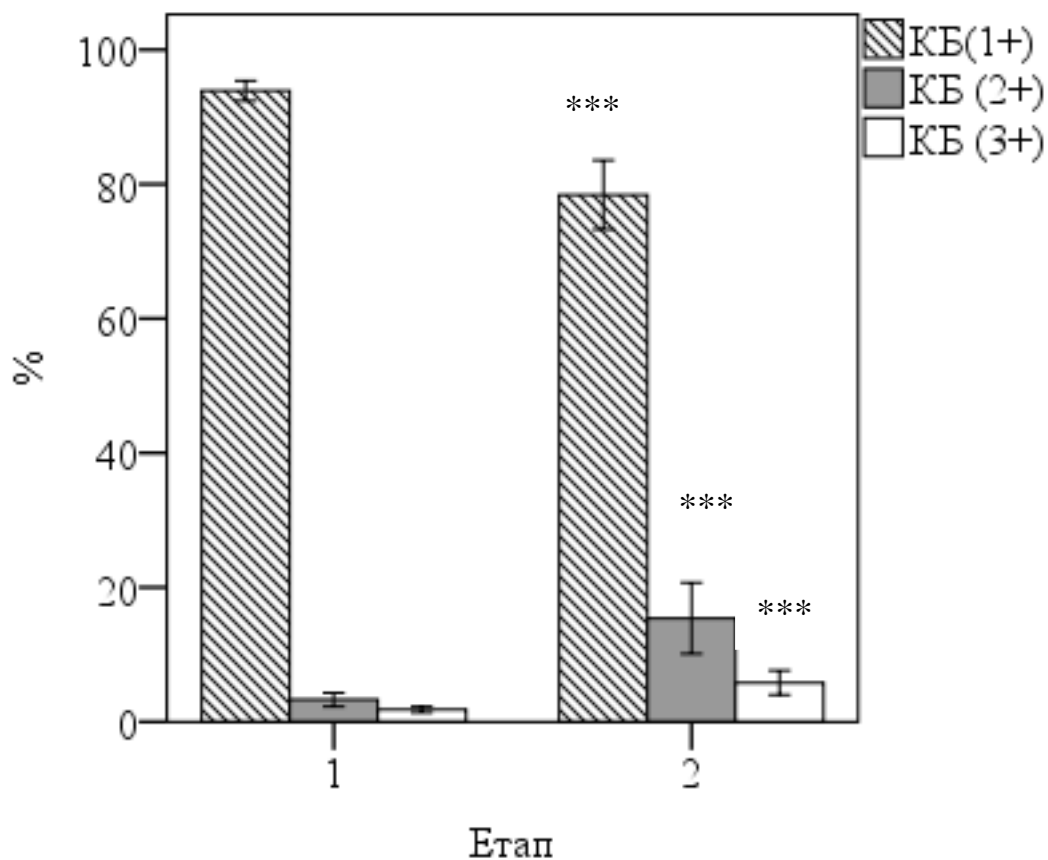
1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції;

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції;

*** – $p < 0,001$.

Рисунок Р.1 – Ступінь інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів крові на МПО у чоловіків, хворих на гострий апендицит

Додаток С



1 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит до операції;

2 – група чоловіків, хворих на гострий апендицит через два тижні після операції;

*** – $p < 0,001$.

Рисунок С.1 – Ступінь інтенсивності специфічного забарвлення нейтрофілів крові на КБ у чоловіків, хворих на гострий апендицит