



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34283 (13) A

(51) 6 G01N33/53

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ПОРУШЕНЬ ІМУНОЛОГІЧНОГО СТАТУСУ У ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

(21) 99063484

(22) 22.06.1999

(24) 15.02.2001

(33) UA

(46) 15.02.2001, Бюл. № 1, 2001 р.

(72) Чернишова Ольга Миколаївна, Зюбанова Лариса Федорівна, Брикалін Валерій Павлович, Лисенко Анатолій Іванович, Іванюк Євген Григорович, Пилипенко Наталія Олеговна

(73) Державне підприємство Харківський науково-дослідний інститут гігієни праці та професійних захворювань

(57) Спосіб діагностики порушень імунологічного статусу у людини та тварин шляхом визначення лейкоцитарної формули крові і індексу міграції лейкоцитів, що **відрізняється** тим, що для діагностики змін імунологічного статусу визначають кількість лімфоцитів, сегментоядерних нейтрофілів, індекс міграції лейкоцитів при навантаженні міто-

геном і по запропонованій формулі обчислюють коефіцієнт імунологічної реактивності (KIP)

$$KIP = \frac{ЛІМФ}{СЯЛ \cdot ІМ},$$

де KIP - коефіцієнт імунологічної реактивності, ЛІМФ - відсоток лімфоцитів у периферичній крові, СЯЛ - відсоток сегментоядерних нейтрофілів, ІМ - індекс гальмування міграції лейкоцитів по РГМЛ при навантаженні крові мітогеном - фітогемаглютиніном (ФГА) у капілярі, за допомогою цього коефіцієнта діагностують норму або ступінь та характер порушень в імунологічному статусі у людини, а саме: до 0,89 - імунодефіцитний стан, 0,9-1,09 - недостатність імунологічної реактивності організму, 1,1-1,59 - норму, 1,6-2,5 - помірну активізацію імунного статусу, більше 2,5 - виражений ступінь активізації імунологічної реактивності.

Винахід стосується медицини та біології і може бути використаний для діагностики порушень імунологічного статусу як у людини, так і у тварин при різних захворюваннях і несприятливих впливах на організм.

Відомий спосіб оцінки імунного статусу по відношенню числа хелперних та супресорних Т-лімфоцитів, які визначають в крові хворих за допомогою моноклональних антитіл (МАТ) (див.: Петров Р.В., Хаитов Р.М., Пипегин Б.Н. и др. // Иммунология. - 1992. - № 6. - С. 51-62).

В основі методу лежить визначення чисельності субпопуляції Т-хелперів (МАТ типу CD4) і Т-супресорів (МАТ типу CD8) і по їх співвідношенню судять про імунодефіцитний стан (нижче 1,5) або (навпаки) активізацію імунної системи при коефіцієнті вище 2,0.

Недоліком методу є використання реактивів, які дорого коштують - моноклональних антитіл, апаратури - необхідний люмінесцентний мікроскоп, а також його трудомісткість.

Відомий також "Способ оценки иммунологического статуса рабочих" (див.: Черных Л.В., Савченко М.В. А.с. № 1813213, МКВ G01 № 33/53, 1993, СССР).

Суть способу полягає у тому, що визначається кількість розеткоутворюючих клітин - загальних Т-

лімфоцитів і Т-хелперів, а також вміст в сироватці крові імуноглобулінів А і G і при комплексному зниженні цих показників порівняно з нормою на 10% роблять висновок про порушення імунологічного статусу.

Недоліком способу є його трудомісткість - використання методу розеткоутворення, імунодифузії по Манчині, а також його непридатність для експериментів з тваринами.

Найбільш близьким до винаходу та взятий як прототип є "Способ активности клеточного иммунитета" (див.: Кидрей Е.Г., Портнягин В.Ф., Корнев Ю.Д. А.с. № 1180001, МКВ А GIK39/00, 1983, СССР).

Суть способу полягає в тому, що основними клітинами, за станом яких оцінюють ступінь активності імунітету, є гранулоцити і лімфоцити. Перші використовуються як клітини-мішені (після інкубації їх з убитими бактеріальними клітинами), а також виявляється функціональна активність лімфоцитів - за їх цитокосичною дією на гранулоцити. Внаслідок цієї реакції гранулоцити гинуть, з їх середовища виходить фермент - міслопероксидаза, за підвищенням концентрації якої визначають ступінь функціональної активності клітинного імунітету.

(19) UA (11) 34283 (13) A

Недоліком способу є його суттєва трудомісткість, а також робота з бактеріальними культурами, що потребує відповідного обладнання, спеціальної підготовки, окрему кімнату або бокс.

В основі винаходу поставлена задача створення досить простого і точного методу, що дозволяє лікарю впевнено встановлювати діагноз імунодефіцитного стану (найбільш несприятливого) або констатувати активізацію імунної системи організму, пов'язаної з стресовим навантаженням, обумовленим різноманітними причинами.

Поставлена задача вирішується таким способом. В одній пробі крові визначають число сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів, а також ставлять тест-реакцію гальмування міграції лейкоцитів (РГМЛ) із навантаженням мітогеном і підраховують індекс міграції. По цих трьох показниках обчислюють їх співвідношення, яке дозволяє діагностувати імунодефіцитний стан, норму, або активізацію імунологічної реактивності організму.

Спосіб здійснюється таким чином. В пробі крові людини виявляють число сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів і визначають індекс міграції лейкоцитів при навантаженні мітогеном - фітогено-глютиніном (ФГА) і на підставі цих даних розраховують коефіцієнт імунологічної реактивності (KIP) по формулі:

$$KIP = \frac{ЛІМФ}{СЯЛ \cdot ІМ},$$

де ЛІМФ - відсоток лімфоцитів у периферичній крові, СЯЛ - відсоток сегментоядерних нейтрофілів, ІМ - індекс гальмування міграції лейкоцитів по РГМЛ при навантаженні крові мітогеном - ФГА у капілярі.

По величині коефіцієнту, що пропонується, виявляють ступінь порушення імунного статусу.

Так, при значеннях KIP діагностують: до 0,89 - імунодефіцитний стан, 0,9-1,09 - недостатність імунологічної реактивності організму, 1,1-1,59 - норму, 1,6-2,5 - помірну активізацію імунного статусу, більше 2,5 - виражений ступінь активізації імунологічної реактивності.

#### Приклад 1

Хвора Н.О.М. 17 років, іст. хвороби № 613, знаходилась на лікуванні в клініці інституту гігієни праці та профзахворювань з 21.04.97 до 29.05.97 р. Діагноз: Залишкові проявлення нейроінфекції з помірно вираженим лікворно-гіпертензійним та астеничним синдромом. Супутні захворювання: хронічний тонзиліт, компенсована форма.

Дані лабораторних досліджень:

до лікування	при виписці
1 лімфоцити 28%	31%
2 сегментоядерні 55%	48%
3 індекс міграції 0,92	0,5

Згідно з представленими даними, у хворої при вступі у клініку KIP складав

$$KIP = \frac{28}{55 \cdot 0,92} = 0,55,$$

тобто був на рівні імунодефіцитного стану.

Проведено лікування за допомогою мікрохвильової резонансної терапії на біологічні точки голови та лицевого черепа, масаж, вітамінотерапія та медикаментозна терапія. Після проведеного лікування KIP склав

$$KIP = \frac{31}{48 \cdot 0,5} = 1,29,$$

тобто перейшов у ранг норми. Позитивна динаміка KIP підтверджується і іншими показниками імунного статусу

до лікування	при виписці
T-лімфоцити - 56%	57,5%
B-лімфоцити - 5,5%	9,5%
O-лімфоцити - 34,5%	30,5%
T-хелпери-12%	36%
T-супресори - 40%	28%
індекс хелп/супр - 0,3	1,29
Ig A - 1,48 г/л	1,82 г/л
Ig M - 1,26 г/л	1,31 г/л
Ig G - 7,72 г/л	10,49 г/л

Як видно з наведених імунограм, після лікування підвищився відсоток B-лімфоцитів, змінилось співвідношення хелпери/супресори з 0,5 до 1,29 і досягло показника нормального KIP. Підвищився вміст в сироватці крові імуноглобулінів А та G. Стан хворої покращав. Таким чином величина KIP дозволяє судити про нормалізацію показників імунного статусу в цілому.

#### Приклад 2

К.М.А. 35 років, амбулаторна хвора. Карта імунологічного обстеження від 15.04.97 № 498 і від 14.05.97 № 523. Діагноз - хламідійний уретрит. Супутнє захворювання - гіперплазія щитовидної залози.

Дані лабораторних досліджень:

до лікування	при виписці
1 лімфоцити 31%	45%
2 сегментоядерні 62%	40%
3 індекс міграції 0,98	0,35

До лікування KIP становив:

$$KIP = \frac{31}{62 \cdot 0,98} = 0,51,$$

що дозволило встановити імунодефіцитний стан.

Призначений курс лікування - максаквін по 0,5 тричі на день протягом 10 днів та курс озонотерапії, для чого в/в вводили озонові розчини хлориду натрію 0,9% в кількості 400,0 із швидкістю 80±10 крапель на хвилину з початковою концентрацією озону 2 мг/л і щоденним ступінчастим підвищенням концентрації протягом 10 днів на 0,5±0,1 мг/л до максимальної - 7 мг/л.

Після лікування KIP становив:

$$KIP = \frac{40}{45 \cdot 0,35} = 2,89,$$

що дозволяє говорити про значну стимуляцію імунної системи організму в результаті проведеної терапії. Інші показники дали таку динаміку:

до лікування	при виписці
T-лімфоцити - 61%	75%
B-лімфоцити - 15%	8%
O-лімфоцити - 22%	12,5%
T-хелпери-31%	37%
T-супресори - 20,5%	29%
індекс хелп/супр - 1,59	1,28
Ig A - 1,2 г/л	1,6 г/л
Ig M - 1,38 г/л	1,74 г/л
Ig G - 6,82 г/л	9,7 г/л

Як видно з наведених даних, відмічалось помірне збільшення кількості Т-хелперів та Т-супресорів, а також вмісту імуноглобулінів в сироватці крові, що свідчить про підвищення активності

імунної системи. Вміст В-лімфоцитів та індекс хелпери/супресори нормалізувались.

Таким чином, КІР у даному випадку може бути критерієм оцінки ступеню порушення імунного статусу до лікування та ступеня напруженості адаптаційних реакцій після проведеного курсу озонотерапії, в результаті чого нормалізувались показники імунного статусу та покращав стан здоров'я хворої.

#### Приклад 3

Хворий М.В.К. 1932 р.н., іст. хвороби № 39, перебував на лікуванні в клініці НДІ ГП та ПЗ з 9.01.97 до 29.01.97 р.

Основний діагноз: хронічний обструктивний бронхіт у фазі нестійкої ремісії.

Дифузний пневмосклероз. Емфізема легенів.

Дані лабораторних досліджень:

	до лікування	при виписці
1	лімфоцити 42%	48%
2	сегментоядерні 49%	49%
3	індекс міграції 0,16	0,43

До лікування КІР становив:

$$KIP = \frac{42}{49 \cdot 0,16} = 5,38,$$

що дозволяє діагностувати виражений ступінь активізації імунологічної реактивності.

Призначений курс мікрохвильової резонансної терапії (МРТ). Параметри: 53,5 ГГц, 1 мкВт/см<sup>2</sup>, по точках акупунктури Е/36, 22VC протягом 10 сеансів.

Після проведеного лікування КІР становив

$$KIP = \frac{48}{49 \cdot 0,43} = 2,28,$$

тобто знизився більш ніж у 2,5 рази, досягнувши стадії помірної активізації імунологічної реактивності.

Інші показники імунограми мали такий рівень:

до лікування	при виписці
Т-лімфоцити - 72%	78%
В-лімфоцити - 8%	7%
О-лімфоцити - 18%	14%
Т-хелпери - 50%	56%
Т-супресори - 18%	32%
індекс хелп/супр - 2,63	1,70
Ig A - 3,6 г/л	2,86 г/л
Ig M - 1,1 г/л	1,19 г/л
Ig G - 12,4 г/л	13,9 г/л

Як випливає з наведених імунограм, показники імунного статусу після проведеної терапії покращались. При відсутності значних зрушень з боку Т-В-О-лімфоцитів, призвело до більш гармонійного співвідношення основних імунорегуляторних форм - хелперів, та супресорів. В свою чергу, зниження вмісту імуноглобуліну класу А може вказувати на менший ступінь вираженості запального процесу.

Отже, зниження КІР у даному випадку відображає напрямки процесів, що відбуваються в імунному статусі та в організмі в цілому.

Таким чином, спосіб за винаходом для діагностики порушень імунного статусу у людини та тварин, розроблений на основі показників, що відображають співвідношення кількості імунокомпетентних клітин (лімфоцитів) і клітин, що відповідають за фагоцитарні властивості крові (нейтрофілів), тобто кількісний потенціал з одного боку, а також функціональної активності лімфоцитів, тобто якісних характеристик імунокомпетентних клітин, дозволяє об'єктивно оцінити стан імунологічної реактивності організму як людини, так і у тварин.

Метод простий та доступний, придатний для використання в умовах звичайної сільської лікарні, оскільки не потребує складного устаткування, окрім звичайного світлового мікроскопу.

---

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

---

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60x84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

---

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22

---