



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 40468

(13) A

(51) 7 G01N33/53

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ІМУННОГО СТАТУСУ НОВОНАРОДЖЕНИХ

(21) 2001021366

(22) 27.02.2001

(24) 16.07.2001

(33) UA

(46) 16.07.2001, Бюл. № 6, 2001 р.

(72) Мокія Світлана Олексіївна, Сітало Сергій Григорович, Василенко Наталія Валентинівна

(73) Дніпропетровська державна медична академія, UA

(57) Спосіб прогнозування імунного статусу новонароджених, що базується на відборі та аналізі діагностичних показників з наступним прогнозуванням імунологічних порушень, який **відрізняється** тим, що діагностичні показники відбирають у великих гранульованих лімфоцитах периферійної крові, для яких визначають наступні морфологічні ознаки: рівномірність забарвлення цитоплазми, характер зернистості, кількість гранул; при аналізі діагностичних показників визначають відсоток клітин із

дистрофічними змінами цитоплазми (вакуолізація, нерівномірність забарвлення), середню кількість гранул у клітинах, відсоток клітин із крупною азурофільною зернистістю та розраховують прогностичний індекс; якщо внаслідок аналізу встановлено, що прогностичний індекс менше 2, прогнозують зниження показників клітинного імунітету і високу імовірність частоті інфекційної захворюваності на першому році життя, при умові, що прогностичний індекс розраховують за формулою:

$$PI=(A3+KГ):D3,$$

де: PI - прогностичний індекс;

A3 - відсоток клітин із крупною азурофільною зернистістю;

KГ - середня кількість гранул у клітинах;

D3 - відсоток клітин із дистрофічними змінами цитоплазми.

Винахід відноситься до медицини, а саме: до досліджень або аналізу матеріалів особливими способами, переважно біологічних, здебільшого периферичної крові, - та може бути використаним в клінічній медицині, наприклад, в педіатрії та неонатології.

Відомий спосіб діагностики імунного статусу новонароджених, який містить відбір та аналіз діагностичних показників з наступним прогнозуванням імунологічних порушень, відповідно до якого, відбір діагностичних показників здійснюють у перші дні після народження, аналізують у загальній кількості 10 і встановлюють наявність імунологічних порушень [1].

Причиною, що стримує досягнення означеного нижче технічного результату, є довга тривалість отримання кінцевого діагностичного результату, яка перевищує, наприклад, 1 добу.

Іншим аналогом [2, 3, 4] також притаманна низька оперативність визначення імунологічних порушень, що обмежує їхнє використання в педіатрії, а особливо, в неонатології. Поміж тим, відомі рішення задачі додатково характеризуються надмірною собівартістю 1-го дослідження (50-60 грн.) та необхідністю забору підвищеної кількості крові (близько 5 мл).

До основи способу діагностики імунного статусу новонароджених поставлена задача шляхом аналізу морфологічних особливостей великих гранульованих лімфоцитів підвищити оперативність прогнозування імунологічних порушень.

Означений вище технічний результат досягається тим, що у відомому способі діагностики імунного статусу новонароджених, який містить відбір та аналіз діагностичних показників з наступним прогнозуванням імунологічних порушень, особливість полягає в тому, що відбір діагностичних показників здійснюють у великих гранульованих лімфоцитах периферійної крові, з визначенням рівномірності забарвлення цитоплазми, характеру зернистості, кількості гранул, як морфологічних ознак, а при аналізі діагностичних показників визначають кількість клітин із дистрофічними змінами цитоплазми, середню кількість гранул у клітинах, кількість клітин з крупною азурофільною зернистістю та розраховують прогностичний індекс, при цьому, якщо прогностичний індекс менше 2, встановлюють зниження в клітинного імунітету та високу імовірність частоті інфекційної захворюваності на першому році життя при умові, що прогностичний індекс розраховують за формулою:

$$PI=(A3+KГ):D3,$$

де: ПІ - прогностичний індекс, ум. од.;

АЗ - кількість клітин із крупною азурофільною зернистістю, %;

КГ - середня кількість гранул у клітинах;

ДЗ - кількість клітин із дистрофічними змінами цитоплазми, %.

Виходячи з того, що частота інфекційних захворювань на першому році життя залежить, насамперед, від особливостей онтогенезу імунної системи, а низькі рівні основних класів імуноглобулінів є фізіологічною особливістю новонароджених і дітей раннього віку, вважається, що при оцінці імунного статусу цієї групи дітей, доцільніше, замість використання показників гуморального імунітету (за виключенням випадків внутрішньоутробного інфікування), досліджувати клітинний імунітет, що збігається до вивчення стану гранульованих лімфоцитів, як морфологічних аналогів природних кілерів (ПК).

Система ПК є однією з важливих ланок клітинного імунітету, що створює "першу лінію захисту", яка запобігає розвитку вірусних захворювань. Завдяки властивості секретувати цитокини (інтерферони, інтерлейкіни та ін.), ПК грають важливу роль в регуляції багатьох імунних реакцій (особливо в продукції імуноглобулінів) [5, 6]. Морфологічними аналогами ПК являються великі гранульовані лімфоцити. Функціональну активність даної групи клітин відображають морфологічні особливості, в першу чергу, характер зернистості та кількість гранул, в яких містяться ферменти. Встановлено прямий зв'язок між кількістю великих гранульованих лімфоцитів, їхніми морфологічними особливостями та основними показниками клітинного імунітету, які визначалися методом із застосуванням моноклональних антитіл.

Як морфологічні критерії оцінки великих гранульованих лімфоцитів використовувались визначення: рівномірності забарвлення цитоплазми, характеру зернистості, кількості гранул. Дослідження проводили як у перші дні після народження, так і протягом всього першого року життя. Аналіз отриманих даних дозволив виявити тісний взаємозв'язок між середньою кількістю гранул у клітинах, відсотком клітин із крупною азурофільною зернистістю та відсотком клітин із дистрофічними змінами цитоплазми протягом всього періоду досліджень, що покладено в підґрунтя розрахування прогностичного індексу (ПІ).

Результати проведених досліджень дозволили встановити математичну залежність прогностичного індексу від середніх значень перелічених вище показників. Проведені дослідження свідчили, що у дітей з нормальними показниками імунітету прогностичний індекс перевищує 2, а у дітей зі зниженими показниками імунітету (особливо клітинної ланки) ПІ менше 2.

Саме завдяки аналізу морфологічних особливостей великих гранульованих лімфоцитів існує можливість підвищити оперативність прогнозування імунологічних порушень, майже у 25 разів.

Поряд з цим, об'ємність дослідження складала близько 1 грн., а обсяг аналітичної проби крові для його здійснення не перебільшує 0,3 мл, що інформує про додаткові переваги винаходу, про який йдеться, над відомими аналогами.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення способу прогнозування імунного статусу новонароджених, що пропонується, полягають в наступному.

Для здійснення способу прогнозування імунного статусу новонароджених необхідне таке обладнання і матеріали як: світовий мікроскоп, реактиви, у т.ч. фарба Романовського [7] тощо.

Морфологічні дослідження великих гранульованих лімфоцитів проводять в мазках периферійної крові, що робить зручним, швидким та малотравматичним метод забору матеріалу. Термін проведення дослідження обмежується однією годиною (з урахуванням часу на забір матеріалу та фарбування мазків). Висока технологічність виконання, мінімальний обсяг матеріалу, що вивчається, відсутність спеціальної апаратури підвищують оперативність діагностики та роблять її доступною для любого лікувального закладу.

Спосіб прогнозування імунного статусу новонароджених здійснюється у такій послідовності.

Спочатку виготовляють цитологічні мазки з периферійної крові, взятої з проколу великого пальця новонародженого; мазки фіксують розчином метанолу, після чого проводять фарбування мазків за методом Романовського [7]. Потім оцінюють перелічені вище морфологічні критерії та розраховують прогностичний індекс за умовами математичної моделі, що пропонується:

$$ПІ = (АЗ + КГ) : ДЗ,$$

де: ПІ - прогностичний індекс;

АЗ - кількість клітин із крупною азурофільною зернистістю, %;

КГ - середня кількість гранул у клітинах;

ДЗ - кількість клітин із дистрофічними змінами цитоплазми, %.

На завершення порівнюють значення прогностичного індексу з критеріальним та прогнозують відсутність імунологічних порушень при значенні ПІ більше 2 або наявність зниження показників клітинного імунітету та високу імовірність інфекційної захворюваності на першому році життя при значенні ПІ менше 2.

Тривалість визначення патологічного стану за даною пропозицією може скоротитися майже у 25 разів.

Приклад 1. Новонародженій В., яка народилася доношеною із затримкою внутрішньоутробного розвитку (гіпотрофічний варіант, середнього ступеню тяжкості) на 2-й день після народження проведено морфологічне дослідження великих гранульованих лімфоцитів у мазках периферійної крові з наступним визначенням прогностичного індексу ( $ПІ = 1,25$ ); порівнявши розрахований прогностичний індекс з критеріальним значенням, спрогнозовано зниження показників клітинного імунітету. Даний прогноз підтверджено наступним визначенням основних показників клітинного імунітету за допомогою доступної панелі моноклональних антитіл. Дівчинка на протязі першого року життя тричі перехворіла на ГРВІ.

Приклад 2. Новонароджений К., строк гестації 39 тижнів, у матері під час вагітності діагностовано гестаційний пієлонефрит, проводилося відповідне лікування. При обстеженні на другий день життя

розраховано прогностичний індекс, який склав 1,24. На першому місяці життя хлопчик перехворів пневмонією, у віці 3-х місяців - ГРВІ. При дослідженні імунограми у віці 20 днів виявлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів, Т-хелперів, NK-клітин, зниження імунорегуляторного індексу.

Приклад 3. Новонароджена Д., народилася доношеною, мати дитини за тиждень до пологів перехворіла ГРВІ, при госпіталізації у породіллі діагностовано кольпіт. Враховуючи високий ризик внутрішньоутробного інфікування, на 2-й день життя проведено морфологічне дослідження великих гранульованих лімфоцитів з наступним визначенням прогностичного індексу, який склав 3,46. Прогнозовано відсутність суттєвих змін в імунному статусі. На першому році життя дівчинка розвивалася відповідно віку, інфекційними захворюваннями не хворіла.

Отже, після проведення клінічного випробування запропонованого способу прогнозування імунного статусу новонароджених, встановлено, що запропонований спосіб може бути широко використаний в практичній педіатрії; для запропонованого об'єкту у тому вигляді, який наданий у незалежному пункті формули, підтверджена можливість його здійснення за допомогою вказаних у заявці або відомих до дати пріоритету діагностичних приладів і середовищ; спосіб, що втілює запропонований винахід при здійсненні забезпечує досягнення позитивного результату, а саме: прискорення прогнозування імунного статусу новонародженого у 25 разів по відношенню до прототипу з міні-

мальними економічними витратами та мінімальною травматизацією пацієнта.

Отже, розроблений винахід відповідає умовам "промислової придатності", "новизна", "винахідницький рівень" і може бути кваліфікований винаходом України.

#### Джерела інформації:

1. Ткаченко Ю.П., Леженко Г.А. Состояние иммунной системы у новорожденных с задержкой внутриутробного развития // Иммунология та алергологія. - 2000. - № 2-3. - С. 53-56.
2. Пат. 17409 Україна, МПК 6 G01N33/53. Спосіб діагностики імунологічного статусу / О.М. Чернишева, Є.М. Будянська, М.В. Чепняк, І.В. Завгородній, І.М. Шевченко, Л.В. Зюбанова (Україна). - № 96020652, заявл. 21.02.96; опубл. 31.10.97, Бюл. № 5.
3. Круглова И.Ф. Естественные киллеры и методы их исследования // Лабораторная діагностика. - 1998. - № 2. - С. 32-36.
4. Чернишов В.П. Сучасні підходи до оцінки імунного статусу у дітей та новонароджених // Педіатрія, акушерство та гінекологія. - 1994. - № 3. - С. 3-6.
5. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и алергология. - Одеса: Астро Принт, 1999. - 604 с.
6. Bradley J., McCluskey J. Clinical immunology. - Oxford University Press, 1997. - 572 p.
7. Зак К.П., Киндзельский Л.П., Бутенко А.К. Большие гранулосодержащие лимфоциты в патологии. - Київ: Наукова думка, 1992. - 164 с.

---

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

---