



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **41503** (13) **U**  
(51) **МПК (2009)**  
**A61B 5/00**  
**G01N 33/53**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЕКОЛОГІЧНО ЗАЛЕЖНОГО ПОРУШЕННЯ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ДИТИНИ**

1

(21) u200814623

(22) 19.12.2008

(24) 25.05.2009

(46) 25.05.2009, Бюл.№ 10, 2009 р.

(72) КУЛЯС ВАЛЕНТИНА МИХАЙЛІВНА, UA, ТРУНОВА ОЛЬГА АРНОЛЬДІВНА, UA, ЄРМАЧЕНКО ОЛЕКСАНДР БОРИСОВИЧ, UA, ФУРСОВ ІВАН ВАЛЕНТИНОВИЧ, UA, САДЕКОВ ДМИТРО РИФАНОВИЧ, UA

(73) ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. ГОРЬКОГО, UA

2

(57) Спосіб діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у дитини шляхом визначення рівня лізоциму в пробі її слини, аналізу результатів визначення та діагностування екологічно залежного порушення гуморального імунітету, який **відрізняється** тим, що додатково в пробі слини дитини визначають рівні імуноглобулінів А, G та секреторного імуноглобуліну А, а екологічно залежне порушення гуморального імунітету у дитини діагностують в разі відхилення від територіальної норми рівня всіх визначених показників.

Корисна модель належить до медицини, точніше до імунології, і може бути використана для донозологічної діагностики порушення імунного статусу у дитини, яка мешкає на екологічно забрудненій території.

Дослідження, виконані як у нашій країні, так і за рубежом, свідчать про безперервно зростаючий «техногенний прес» на організм людини, який пов'язаний з антропогенним забрудненням навколишнього середовища і найбільш значимо проявляється в промислових регіонах. Зростаючий негативний вплив шкідливих факторів зовнішнього середовища антропогенної природи на здоров'я населення України характеризується зміною імунологічних показників, збільшенням числа хворих на алергози, дерматити, бронхіальну астму та ін. Особливу небезпеку техногенне забруднення навколишнього середовища представляє для здоров'я дітей, організм яких через морфофункціональну незрілість відрізняється підвищеною чутливістю до екологічних забруднювачів, при цьому імунну систему дитини варто розглядати як чутливий індикатор, що відображає стан зовнішнього середовища. Для оцінки впливу викидів, виявлення характеру та спрямованості їхнього впливу на людину в світовій практиці прийнято використовувати аналіз здоров'я дитячого населення як найбільш об'єктивного в силу своєї соціальної однорідності, відсутності професійних шкідливих впливів і шкід-

ливих звичок, наявності постійного перебігу процесів морфофункціонального розвитку організму.

Найбільш чутливими показниками стану здоров'я дитячого населення в умовах негативного впливу факторів довкілля вважають показники імунологічної реактивності організму.

Відомий спосіб діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у дитини шляхом визначення кількісного зв'язку між рівнями реального інгаляційного хімічного навантаження й станом здоров'я (Суржиков Д.В., Суржикова В.Д., Олещенко А.М. Оцінка ризика впливу забруднення атмосферного повітря на здоров'я в системі соціально-гігієнічного моніторингу // Гігієна і санітарія. - 2004. - №5. - С.64-8).

Недоліком відомого способу діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у дитини є його низька точність.

Причиною низької точності відомого способу діагностики є врахування в способі впливу забруднень повітря лише на окремі показники здоров'я та відсутність комплексної оцінки цього впливу.

Відомий обраний за прототип спосіб діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у дитини (Деркачов Е.А., Огір Л.Б., Дрозд Т.Є. та ін. Донозологічна діагностика стану здоров'я населення у зв'язку з впливом факторів навколишнього середовища /Метод, рекомендації: МР 2.2. 12. - 068 - 2000. - Київ: ДМП «Полімед», 2000. - 36с.) шляхом комплексної оцінки впливу

(13) **U**

(11) **41503**

(19) **UA**

екологічних забруднень на імунітет дитини. Відомий спосіб діагностики включає визначення фагоцитарної активності (ФА) поліморфноядерних лейкоцитів (ПЯЛ) в периферичній крові та рівня лізоциму в пробі слини дитини, аналіз результатів дослідження та діагностування екологічно залежного порушення гуморального імунітету у дитини в разі відхилення від норми рівня хоча б одного з визначених показників.

Недоліками відомого способу діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у дитини є низька точність діагностики та інвазивність тестування при визначенні ФА ПЯЛ.

Причиною низької точності діагностики за відомим способом - прототипом є односторонність досліджень імунологічного стану організму дитини, а саме: дослідження проводять тільки в нейтрофілах крові, враховують ФА ПЯЛ, яка характеризує лише неспецифічну реактивність імунної системи.

В основу корисної моделі поставлено задачу в способі діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету дитини шляхом додаткового визначення специфічних показників імунного статусу забезпечити високу точність діагнозу та неінвазивність тестування. Спосіб, що заявляється, є високоточним (до 100% співпадіння результатів за подальшими клінічними спостереженнями) та безпечним, доступним, економічним, безболісним, неінвазивним, зручним для хворого і лікаря.

Поставлена задача вирішується тим, що створено спосіб діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у дитини шляхом визначення рівня лізоциму в пробі її слини, аналізу результатів визначення та діагностування екологічно залежного порушення гуморального імунітету.

Новим в створеному способі є те, що додатково в пробі слини дитини визначають рівні імуноглобулінів А (IgA), G (IgG) та секреторного імуноглобуліну А (s-IgA), а екологічно залежне порушення гуморального імунітету у дитини діагностують в разі відхилення від територіальної норми рівня всіх визначених показників.

Між сукупністю ознак корисної моделі і технічним результатом, якого можна досягти при її реалізації, існує причинно-наслідковий зв'язок.

Імунітет є тонким індикатором впливу навколишнього середовища на організм незалежно від характеру впливу. У наш час розроблені високоінформативні неінвазивні методи для діагностики ранніх змін у стані здоров'я дитини, що виникають під впливом несприятливих факторів. Дослідження гуморальних факторів захисних реакцій є об'єктивними методиками для визначення рівня неспецифічного імунітету та виявлення пригнічення функцій імунної системи й схильності до розвитку неспецифічних захворювань.

Для діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету дитини до відомого способу-прототипу включено визначення рівня лізоциму в пробі слини людини та ФА ПЯЛ в периферичній крові. Саме ФА ПЯЛ в периферичній крові як складова відомої комплексної діагностики знижує точність останньої: дослідження проводять тільки в нейтрофілах крові, враховують ФА ПЯЛ,

яка визначає лише неспецифічну реактивність імунної системи, оскільки зміна ФА ПЯЛ може відбуватися не лише під впливом екологічних факторів, а і вірусних чи бактеріальних агентів (Тотолян А.А., Фрейлин І.С. Клетки иммунной системы. - СПб: Наука, т. 1. - 2000. - 340с.).

На відміну від відомого способу-прототипу за способом діагностики, що заявляється, проводять визначення специфічного місцевого гуморального імунітету. Визначення імуноглобулінів IgA, IgG, s-IgA у слині (безпосередньо те середовище, яке першим контактує з забруднювачами повітря) проводять для визначення характеристик першого місцевого захисту. Визначення рівня лізоциму (фермент класу гідролаз) слини доповнює дані про гуморальний імунітет, бо також є його складовою. Лізоцим слини руйнує стінки бактеріальної клітини, відіграючи в організмі людини роль неспецифічного бактеріального бар'єра (Химический энциклопедический словарь / Под ред. И.Л. Кнунянц. - М.: «Советская энциклопедия», 1983. - С.300).

Заявлена діагностика дозволяє визначати екологічно залежне порушення гуморального імунітету дитини з високою точністю (до 100%) на відміну від прототипу (50%).

Окрім того, перевагою способу, що заявляється, є неінвазивність всіх тестувань, в той час, коли за відомим способом-прототипом для визначення ФА ПЯЛ необхідна проба венозної крові. Ця процедура завжди є стресовою для маленького пацієнта та створює можливість інфікування в разі недбалства медперсоналу.

Застосування в практичній охороні здоров'я населення способу діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету дитини, що заявляється, сприятиме поліпшенню якості моніторингу розвитку екологічно залежної патології, яка розвивається під впливом несприятливих факторів навколишнього середовища, підвищенню точності діагностики, скороченню термінів лікування захворювання, викликаного екологічно залежним порушенням імунного статусу.

Для клінічної перевірки точності способу діагностики, що заявляється, були відібрані 118 дітей (основна група) у віці 4-8 років - мешканців зони впливу шкідливих викидів промислового підприємства (Донецька область). Всі ці діти відвідували дитячі заклади, розташовані на відстані до 3,0 км від теплоелектростанції (ТЕС). Дітей основної групи діагностували як за способом, що заявляється, та і за відомим способом-прототипом. Контрольна група складалася з 92 дітей, що проживали у населеному пункті, де немає джерел забруднення атмосферного повітря. Значення визначених показників у дітей цієї групи вважали територіальною нормою характеристики гуморального імунітету.

При проведенні досліджень використовували метод спрямованого відбору однорідних груп, що підвищує вірогідність статистичних даних. Критерієм однорідності груп були час проживання в даному районі, тривалість відвідуваності дошкільної або шкільної установи.

Імунологічне обстеження включало визначення рівнів лізоциму в слині відомим нефелометричним методом за ступенем лізису індикаторної

культури *Micrococcus lysodecticus* (Кацнельсон Б.А., Дегтярева Т.Д., Привалова Л.И. Принципы биологической профилактики профессиональной и экологически обусловленной патологии от воздействия неорганических веществ. - Екатеринбург, 1999. - 106с.), а також IgA, IgG і s-IgA у слині відомим методом радіальної імунодифузії в гелі за Манчини (Иммунологические методы /Под ред. Г. Фриммеля. - М: Медицина, 1987. - 472с.). Для перевірки гуморального імунітету за відомим способом-прототипом до досліджень включили і визначення ФА ПЯЛ, для чого у дітей взяли пробу крові з вени та провели дослідження за відомою методикою (Деркачов Е.А., Огір Л.Б., Дрозд Т.Є. та ін. Донозологічна діагностика стану здоров'я насе-

лення у зв'язку з впливом факторів навколишнього середовища /Метод, рекомендації: МР 2.2.12. - 068 - 2000. - Київ: ДМП «Полімед», 2000.-С.10-11). Середні значення одержаних показників занесли до Табл. 1. Як видно з Табл. 1, порівняно з контрольною групою рівні лізоциму, IgG, s-IgA в слині піддослідних дітей-мешканців екологічно забрудненої території зростають, а концентрація IgA зменшується. Виявлені порушення гуморального імунітету в цих дітей надалі можуть сприяти розвитку різних імунодефіцитних станів на тлі початку дисбалансу механізмів імунорегуляції. Зменшення концентрації IgA і підвищення рівня s-IgA у слині може бути пов'язане з підвищеним синтезом у слизовій оболонці

Таблиця 1

Значення показників ( $M \pm m$ ) гуморального імунітету груп дітей-мешканців екологічно чистої (контрольна) та забрудненої (основна) територій

Групи	Показники гуморального імунітету					
	Лізоцим, г/л	IgG, г/л	IgA, г/л	s-IgA, г/л	ФА ПЯЛ, %	
					4-6 років	7-8 років
Контрольна	2,6 $\pm$ 0,2	0,085 $\pm$ 0,007	0,331 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,02	23-73	40-95
Основна	4,9 $\pm$ 0,5*	0,132 $\pm$ 0,01*	0,112 $\pm$ 0,009**	0,45 $\pm$ 0,06*	26-75	47-98

Примітка - вірогідність розходжень щодо контролю: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

носоглотки s-IgA з IgA шляхом приєднання до останнього секреторного компонента для повноцінного здійснення захисної функції організму щодо впливу шкідливих факторів зовнішнього середовища малої інтенсивності.

Для постановки чи спростування діагнозу екологічно залежного порушення гуморального імунітету у кожної дитини з основної групи за заявленим і відомим способами провели аналіз одержаних даних щодо кожної дитини, а результати занесли до Табл. 2.

Таблиця 2

Порівняльна ефективність способу діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у дитини, що заявляється як корисна модель, та відомого способу-прототипу ( $n=118$ )

Спосіб діагностики	Число дітей, у яких показники відповідають контрольному значенню					Діагноз порушення імунітету у числа дітей		Діагноз підтверджено у числа дітей (%)	
	лізоцим	IgA	IgG	s-IgA	ФА ПЯЛ	порушення	здорові	порушення	здорові
заявлений	18	18	18	18	-	100	18	100 (100)	18 (100)
відомий	18	-	-	-	9	109	9	100 (97)	18* (50)

Примітка: \* у 9 дітей з 18 - гіпердіагностика

У 18 зі 118 дітей основної групи концентрації лізоциму, IgG, IgA та s-IgA перебували в межах значень показників дітей в контрольній групі (див. Табл. 1). У інших 100 дітей основної групи визначені показники не відповідали значенням контрольної групи: рівні лізоциму, IgG, s-IgA були вищими, рівень IgA - нижчим. Отже за способом діагностики, що заявляється, у цих 100 дітей діагностували екологічно залежне порушення гуморального імунітету. У 18 дітей основної групи порушення імунітету не виявлено.

Аналіз результатів визначення ФА ПЯЛ за відомим способом-прототипом показав, що у 109 дітей ФА була вищою за значення контрольної групи (див. Табл. 1). Отже, за відомим способом-

прототипом порушення імунітету не виявлено лише у 9 дітей основної групи, а не 18, як за заявленим способом.

Правильність проведеної діагностики перевірили за ретельним комплексним клінічним обстеженням всіх 118 дітей. Діагноз підтверджено щодо 18 та 100 дітей, визначений за заявленим способом. У 9 дітей з 18, у яких за відомим способом-прототипом діагностовано екологічно залежне порушення гуморального імунітету, визнано гіпердіагностику. Оскільки ФА ПЯЛ є неспецифічним показником, його значення змінилось у цих 9 дітей через наявність у них в'яло перебігаючої вірусної респіраторної інфекції.

Спосіб діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету дитини, що заявляється, реалізують наступним чином.

Дитині, що мешкає в промисловому регіоні з антропогенним забрудненням навколишнього середовища, з метою діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету визначають рівні лізоциму та імуноглобулінів у пробі слини. Пробу слини беруть вранці натщесерце до чищення зубів. Слину відбирає сама дитина в пробірку впродовж 2-х хвилин. Визначення концентрації лізоциму в 10 мл відібраної слини здійснюють відомим нефелометричним методом за ступенем лізису індикаторної культури *Micrococcus lysodecticus* (Кацнельсон Б.А., Дегтярева Т.Д., Привалова Л.И. Принципы биологической профилактики профессиональной и экологически обусловленной патологии от воздействия неорганических веществ. - Екатеринбург, 1999. - 106с). Ще 1 мл відібраної слини використовують для визначення концентрації IgA, IgG і s-IgA відомим методом радіальної імунодифузії в гелі за Манчині (Иммунологические методы /Под ред. Г. Фриммеля.- М.: Медицина, 1987. - 472с.). Одержані результати аналізують та в разі відхилення від територіальної норми (див. контрольну групу в Табл. 1) визначеного рівня всіх показників діагностують екологічно залежне порушення гуморального імунітету у дитини - з точністю до 100%. Таку дитину направляють на ретельне лікарське обстеження з метою виявлення хворобливих процесів, що починають розвиватись. Дітям, у яких тільки деякі показники гуморального імунітету не відповідають но-

рмальним значенням, призначають оздоровчі заходи.

Конкретні приклади реалізації способу, що заявляється.

#### Приклад 1

Дівчинку Олю Л., 5 років, мати привела на консультацію до педіатра. Оля із сім'єю мешкає на відстані 3-4 км від ТЕС у великому місті з розвинутою металургійною промисловістю. Дитина часто хворіє на респіраторні захворювання. Мати пов'язує часті хвороби дитини з екологічним неблагополуччям в місці проживання.

Дівчинці Олі Л. для встановлення діагнозу призначили діагностику екологічно залежного порушення гуморального імунітету за способом, що заявляється. Для цього провели визначення рівня лізоциму та імуноглобулінів у пробі слини. Пробу слини взяли вранці натщесерце до чищення зубів. Слину відбирала сама дитина в пробірку впродовж 2-х хвилин. Визначення концентрації лізоциму в 10 мл відібраної слини виконали відомим нефелометричним методом за ступенем лізису індикаторної культури *Micrococcus lysodecticus* (Кацнельсон Б.А., Дегтярева Т.Д., Привалова Л.И. Принципы биологической профилактики профессиональной и экологически обусловленной патологии от воздействия неорганических веществ. - Екатеринбург, 1999. - 106с.). Ще 1мл відібраної слини використали для визначення концентрації IgA, IgG і s-IgA відомим методом радіальної імунодифузії в гелі за Манчині (Иммунологические методы /Под ред. Г. Фриммеля.- М.: Медицина, 1987. - 472с.). Результати досліджень занесли в Табл. 3.

Таблица 3

Результати діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у п'ятирічної дівчинки Олі Л.

Показники гуморального імунітету	Лізоцим, г/л	IgG, г/л	IgA, г/л	s-IgA, г/л
територіальна норма	2,6±0,2	0,085±0,007	0,331±0,02	0,23±0,02
показники Олі Л.	5,2	0,142	0,120	0,51

Одержані результати проаналізували, визначений рівень всіх показників зіставили зі значеннями територіальної норми. Як видно з Табл. 3, значення 3-х показників гуморального імунітету дівчинки Олі Л. - лізоциму, IgG та s-IgA - перевищили норму, а четвертий показник - IgA - нижчий за значення територіальної норми. Тому за способом, що заявляється, п'ятирічній Олі Л. діагностували екологічно залежне порушення гуморального імунітету. Дитину направили на ретельне лікарське обстеження в обласну дитячу лікарню з метою виявлення хворобливих процесів, що починають розвиватись. В лікарні у Олі Л. виявили хронічний бронхіт, призначили необхідне лікування та рекомендували змінити місце проживання на екологічно чисте.

#### Приклад 2

Хлопчика Колю С., 4 років, мати привела на консультацію до педіатра. Впродовж останнього року Коля із сім'єю мешкає на відстані 5 км від кок-

сохімічного заводу. Дитина двічі підряд з місячною перервою хворіла на гострі респіраторні захворювання. Мати просила перевірити, наскільки сильно впливає на стан дитини екологічне забруднення в місці проживання.

Хлопчику Колі С. для встановлення діагнозу призначили діагностику екологічно залежного порушення гуморального імунітету за відомим способом-прототипом. Для цього провели визначення рівня лізоциму в пробі слини, як це описано в прикладі 1. Для визначення ФА ПЯЛ у дитини взяли пробу крові з вени та провели дослідження за відомою методикою (Деркачов Е.А., Огір Л.Б., Дрозд Т.Є. та ін. Донозологічна діагностика стану здоров'я населення у зв'язку з впливом факторів навколишнього середовища /Метод. Рекомендації: МР 2.2.12. - 068 - 2000. - Київ: ДМП «Полімед», 2000. - С.10-11). Результати досліджень занесли в Табл. 4.

Таблиця 4

Результати діагностики екологічно залежного порушення гуморального імунітету у чотирирічного хлопчика Колі С.

Показники гуморально-го імунітету	Лізоцим, г/л	ФА ПЯЛ, %	IgG, г/л	IgA, г/л	s-IgA, г/л
		для 4 років			
територіальна норма	2,6±0,2	23	0,085 ±0,007	0,331±0,02	0,23±0,02
показники Колі С	2,5	25,1	0,087	0,282	0,35

Одержані результати проаналізували, визначені рівні обох показників зіставили зі значеннями територіальної норми. Як видно з Табл. 4, значення показника гуморального імунітету хлопчика Колі С. - лізоциму - перебуває в межах норми, а ФА ПЯЛ перевищує вікову норму. Згідно зі способом - прототипом у дитини діагностували екологічно залежне порушення гуморального імунітету через відхилення від норми визначеного рівня одного з показників - ФА ПЯЛ. Для порівняння провели діагностику порушення імунітету і за способом, що заявляється. Для цього додатково виконали дослідження рівня імуноглобулінів у пробі слини (як за прикладом 1). Одержані значення IgG, IgA та s-

IgA також занесли в Табл. 4. Причому величина IgG перебувала в межах норми, а IgA та s-IgA норми не відповідали. Згідно зі способом, що заявляється, діагностували відсутність екологічно залежного порушення гуморального імунітету у чотирирічного Колі С. Ретельне лікарське обстеження показало, що підвищенню значень ФА ПЯЛ сприяла присутність вірусної респіраторної інфекції у дитини. Додаткові лікарські дослідження порушення гуморального імунітету у Колі С. не виявили. Оскільки два показники гуморального імунітету у Колі С. все ж не відповідають нормальним значенням, йому призначили комплекс оздоровчих заходів.