


 ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011150096/15, 08.12.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.12.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 08.12.2011

(43) Дата публикации заявки: 20.06.2013 Бюл. № 17

(45) Опубликовано: 27.09.2013 Бюл. № 27

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2180116 C1, 27.02.2002. Кормление и питание грудных детей и детей раннего возраста. Химическое загрязнение. Медицина 2000 Найдено [12.10.2012] Найдено из интернета: <http://www.med2000.ru/artik270/voz54.htm>. МИТЬКОВ В.В. Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике. - М.: «Видар», 1996, 1 том, с.189. ПЫКОВ М.И. и др. Детская (см. прод.)

Адрес для переписки:

 614045, г.Пермь, ул. Орджоникидзе, 82,
 ФБУН "ФНЦ медико-профилактических
 технологий управления рисками здоровью
 населения", директору, Н.В. Зайцевой

(72) Автор(ы):

 Зайцева Нина Владимировна (RU),
 Пыков Михаил Иванович (RU),
 Возгомент Ольга Викторовна (RU),
 Устинова Ольга Юрьевна (RU),
 Аминова Альфия Иршадовна (RU),
 Акатова Алевтина Анатольевна (RU),
 Долгих Олег Владимирович (RU),
 Беляева Екатерина Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

 Федеральное бюджетное учреждение науки
 "Федеральный научный центр медико-
 профилактических технологий управления
 рисками здоровью населения" (ФБУН "ФНЦ
 медико-профилактических технологий
 управления рисками здоровью населения")
 (RU)

(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ХИМИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к иммунологии и аллергологии, и может быть использовано для диагностики реактивного изменения специфического иммунитета у детей в условиях химической контаминации. Для этого производят отбор пробы крови у детей, проживающих в условиях химической контаминации. Затем выполняют клинико-лабораторные исследования крови на содержание вредных химических соединений. Далее у детей проводят ультразвуковое исследование селезенки для оценки ее эхоструктуры с использованием датчика

частотой не менее 10 МГц. При наличии в ультразвуковом срезе селезенки гипоехогенных однородных округлых включений размером 0,3-1,0 мм, расположенных на расстоянии 1,5-2 мм друг от друга, а также при одновременном превышении концентрации вредного химического соединения в крови по сравнению с его референтным значением диагностируют реактивные изменения специфического иммунитета у детей. Изобретение обеспечивает создание информативного, безопасного и точного способа ультразвуковой диагностики при одновременной простоте и доступности для

широкого практического применения. 3 пр., 3 табл., 5 ил.

(56) (продолжение):

ультразвуковая диагностика. - М.: «Издательский дом Видар-М», 2001, с.362-370.

RU 2 4 9 4 4 0 1 C 2

RU 2 4 9 4 4 0 1 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2011150096/15, 08.12.2011**

(24) Effective date for property rights:
08.12.2011

Priority:

(22) Date of filing: **08.12.2011**

(43) Application published: **20.06.2013 Bull. 17**

(45) Date of publication: **27.09.2013 Bull. 27**

Mail address:

**614045, g.Perm', ul. Ordzhonikidze, 82, FBUN
"FNTs mediko-profilakticheskikh tekhnologij
upravlenija riskami zdorov'ju naselenija",
direktoru, N.V. Zajtsevoj**

(72) Inventor(s):

**Zajtseva Nina Vladimirovna (RU),
Pykov Mikhail Ivanovich (RU),
Vozgoment Ol'ga Viktorovna (RU),
Ustinova Ol'ga Jur'evna (RU),
Aminova Al'fija Irshadovna (RU),
Akatova Alevtina Anatol'evna (RU),
Dolgikh Oleg Vladimirovich (RU),
Beljaeva Ekaterina Sergeevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe bjudzhetnoe uchrezhdenie nauki
"Federal'nyj nauchnyj tsentr mediko-
profilakticheskikh tekhnologij upravlenija
riskami zdorov'ju naselenija" (FBUN "FNTs
mediko-profilakticheskikh tekhnologij
upravlenija riskami zdorov'ju naselenija") (RU)**

(54) DIAGNOSTIC TECHNIQUE FOR IMMUNE STATUS DISORDER IN CHILDREN UNDER CHEMICAL CONTAMINATION

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: what is used is sampling blood from children living under chemical contamination. That is followed by clinical laboratory blood examination for any detrimental compounds. Then, child's spleen ultrasound aims at evaluating the echostructure with using a sensor of frequency not less than 10 MHz. If hypoechogenic homogeneous rounded inclusions 0.3-1.0 mm spaced at 1.5-2 mm

are found in an ultrasonic spleen section in a combination with the fact that the blood detrimental compound concentration exceeds the reference, the reactive changes of the specific immunity in children are diagnosed.

EFFECT: providing the informative, safe and accurate ultrasonic diagnostic technique being simple and available for wide use in practice at the same time.

1 ex, 3 tbl, 5 dwg

Изобретение относится к области медицинской диагностики, в частности ультразвуковой, и может быть использовано для выявления (диагностирования) реактивного изменения специфического (приобретенного) иммунитета у детей, проживающих на экологически неблагоприятной территории в условиях с

повышенной контаминацией крови химическими токсикантами.

Изобретение может быть широко использовано для постановки предварительного диагноза как в специализированных клиниках при обследовании пациентов, так и в обычных учреждениях здравоохранения. Результаты указанных обследований необходимы для разработки индивидуальных программ наблюдения и лечения в зависимости от тяжести изменения иммунной системы ребенка, а кроме того, могут быть использованы при формировании санитарно-гигиенических мероприятий по предупреждению и устранению воздействия вредных химических веществ, обуславливающих формирование реактивного изменения приобретенного иммунитета у детей.

Следует пояснить, что вследствие воздействия каких-либо внешних факторов, в частности, в результате появления вредных химических веществ в среде проживания, увеличивается вероятность изменения иммунитета в виде подавления иммунной защиты, следствием чего может быть повышение заболеваемости, особенно у детей, в связи с незрелостью адаптивных механизмов организма и иммунной системы.

Для задач оценки степени ранней диагностики нарушений здоровья, а также для оценки эффективности профилактики и лечения, актуальным является выделение маркерных показателей изменения специфического иммунитета, которые могут использовать в качестве дополнительных диагностических критериев санитарно-эпидемиологической обстановки.

Из уровня техники известно, что в настоящее время большинство способов диагностики иммунного состояния основано на использовании в качестве маркеров показателей крови. Например, известен способ прогнозирования иммунодефицитного состояния (далее ИДС) у детей на первом году жизни (Патент РФ №2121684) по исследованию пуповинной крови, согласно которому определяют относительное содержание Т-лимфоцитов, нейтрофилов с рецепторами к СЗ компоненту комплемента и спонтанную НСТ-активность и при их значениях Е-РОЛ менее 19%, ЕАС-РОН менее 15%, НСТ менее 19% прогнозируется развитие ИДС.

Также известен способ диагностирования ИДС (Патент РФ №2179316) по проведению оценки как процентного содержания Т-клеток в периферической крови относительно региональной нормы, так и иммунореактивности клеток в нагрузочном тесте розеткообразования *in vitro* с Т-активином и определение показателя относительного содержания Т-клеток (ПОТ) и показателя реактивности Т-клеток (ПРТ).

Однако указанные известные способы не обеспечивают достаточную точность при установлении ИДС населения, проживающего в условиях воздействия химических токсикантов, обусловленных средой обитания, т.к. анализируемые в качестве критериев иммунного статуса выборочные показатели клеточного иммунитета не могут отражать всю совокупность факторов и механизмов иммунного ответа, препятствующих ИДС.

А кроме того, указанными известными способами не учитывается вклад химической техногенной контаминации в формирование вторичных иммунодефицитных состояний.

Еще известен способ оценки влияния химических токсикантов на состояние

иммунного статуса населения (Патент РФ №2180116), согласно которому устанавливают в пробе венозной крови содержание токсиканта, обусловленного экологической средой обитания населения, выделяют из пробы лимфоциты (моноклеарные клетки) и добавляют к ним установленный токсикант в концентрации, соответствующей норме, полученную смесь инкубируют при температуре, соответствующей нормальной температуре организма человека, далее методом иммунологического анализа устанавливают в пробе количество лимфоцитов, содержащих дифференцировочные антигены, обусловленных воздействием токсиканта, и при снижении количества соответствующих кластеров лимфоцитов в пробе под воздействием токсиканта не менее чем в 1,5 раза по сравнению с контрольной пробой без введенного в нее дополнительно токсиканта, при одновременном обнаружении токсиканта в пробе крови в концентрации, превышающей норму, судят об ухудшении состояния иммунитета. Способ повышает точность и достоверность установления оценки влияния химического токсиканта на состояние иммунного статуса населения.

Однако и этот способ не лишен недостатков, т.к. для его использования необходимо наличие иммунологической лаборатории, специфическое оборудование, а также специальные реактивы, что ограничивает его широкое и повсеместное применение.

Из уровня техники не были выявлены ультразвуковые методы установления изменения приобретенного иммунитета у населения, в частности, у детей, что не позволяет установить наиболее близкий аналог к предлагаемому техническому решению.

Технический результат, обеспечиваемый заявляемым изобретением, заключается в создании информативного, безопасного и точного способа ультразвуковой диагностики реактивного изменения специфического (приобретенного) иммунитета у детей, обусловленного появлением вредных химических веществ в среде проживания, при одновременной простоте и доступности для широкого практического применения.

Указанный технический результат достигается предлагаемым способом диагностики реактивного изменения специфического иммунитета у детей в условиях химической контаминации, характеризующимся тем, что производят отбор пробы крови у детей, проживающих в условиях химической контаминации, выполняют клинико-лабораторные исследования крови на содержание вредных химических соединений, у детей проводят ультразвуковое исследование селезенки для оценки ее эхоструктуры с использованием датчика частотой не менее 10 МГц и при наличии в ультразвуковом срезе селезенки гипоехогенных однородных округлых включений размером 0,3-1,0 мм, расположенных на расстоянии 1,5-2 мм друг от друга, а также при одновременном превышении концентрации вредного химического соединения в крови по сравнению с его реферативным значением диагностируют реактивные изменения специфического иммунитета у детей.

В последнее время, благодаря развитию ультразвуковой диагностической техники, появились новые возможности при визуализации оцениваемых органов и систем. Селезенка представляет собой орган кровеносной и лимфатической системы и выполняет в организме широкий спектр функций, таких как фильтрация крови, регуляция лимфо- и гемопоэза, депонирование крови, а также формирование иммунного ответа. Ввиду своей многофункциональности, этот орган является индикатором большого числа патологических состояний.

Специфический (приобретенный) иммунный ответ формируется в лимфоузлах,

селезенке и лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками.

Селезенка, является самым крупным периферическим лимфоидным органом, в связи с чем этот орган может в большей степени отразить изменение специфического иммунитета у детей. Одной из причин изменения функционального состояния селезенки может быть нарушение иммунологической реактивности и длительный контакт разнообразно детерминированных иммунологически компетентных клеток с антигенами, находящимися в крови (в том числе токсикантами антропогенного происхождения). В последние годы отмечается тенденция к росту числа заболеваний, обусловленных иммунопатологическими состояниями, особенно на территориях санитарно-гигиенического неблагополучия.

Учитывая, что ультразвуковое исследование позволяет получить точное представление о размерах органа, эхогенности и его эхоструктуре, то ультразвуковым критерием патологии селезенки у детей является изменение перечисленных параметров. Необходимо отметить, что эхогенность селезенки практически остается у детей неизменной, она сопоставима с эхогенностью здоровой печени или чуть более эхогенна. Линейные размеры органа переменны, критерием увеличения по существующим нормативам, является длина селезенки. Увеличение длины селезенки является неспецифическим признаком изменения ее функционального состояния.

Локальные изменения эхоструктуры селезенки у детей связаны с ограниченным числом патологических состояний, таких как опухоли, абсцессы, кисты, гематомы, инфаркты, кальцинаты.

Для обоснования неочевидности заявляемого технического решения, следует указать, что канадские исследователи (Doria A., Daneman A., Moineddin R. et al. Highfrequency sonographic patterns of the spleen in children // Radiology. 2006. V.240. P.821-897) также изучали изменения селезенки, положенные в основу предложенного изобретения. Однако они были расценены канадскими исследователями как визуализация нормальной анатомической эхоструктуры селезенки. К таким выводам исследователи пришли, проводя анализ подобных изменений структуры селезенки посмертно (9 опытов) и проводя взаимосвязь эхографической картины с макроскопическим и микроскопическим исследованием. Они сделали вывод, что гипоехогенные очаги на сонографических срезах ни что иное, как белая пульпа селезенки или лимфоидные фолликулы. Этот вывод был сделан в связи с тем, что расстояния между очагами, идентифицированные на сонограммах, коррелировали с гистологическими измерениями расстояний внутри белой пульпы (т.е. расстояний между двух лимфоидных узелков белой пульпы) ($r=0.71$, $p=0.03$, где r - коэффициент корреляции; p - показатель достоверности коэффициента корреляции), но не коррелировали с гистологическими измерениями расстояний внутри красной пульпы (т.е. расстояния между кровеносными сосудами красной пульпы).

Однако в результате наших исследований было обнаружено, что наличие в ультразвуковом срезе селезенки гипоехогенных однородных округлых включений (очагов) размером $0,3 \div 1,0$ мм, расположенных на расстоянии 1,5-2 мм друг от друга, наиболее часто встречается у детей, проживающих в условиях химической контаминации, в отличие от детей, живущих в нормальной санитарно-гигиенической обстановке и может служить маркером изменения специфического иммунитета у ребенка при одновременном условии превышения концентрации вредного химического соединения в крови ребенка по сравнению с его реферативным значением (нормой).

Диапазон заявляемых параметров в предлагаемом способе выбран, исходя из

следующего: минимальный размер округлых включений 0,3 мм обусловлен технической возможностью ультразвукового аппарата; максимальный размер округлых включений 1 мм обусловлен анатомическим строением органа и более высокий показатель может свидетельствовать не об активации реактивных пролиферативных процессов в фолликулах селезенки, а быть проявлением серьезных патологических состояний в виде деструктивных очагов на фоне инфекционного процесса, либо очаговых изменений на фоне лимфопролиферативных злокачественных заболеваний, а предлагаемый способ нацелен на выявление реактивного изменения специфического иммунитета ребенка на ранней стадии без проявления каких-либо клинических признаков. Выбор диапазона расстояния между выключениями связан с анатомическим строением органа. Принимая во внимание исследования Doria A. (Doria A., Daneman A., Moineddin R. et al. Highfrequency sonographic patterns of the spleen in children // Radiology. 2006. V.240. P.821-897), можно связать возможность визуализации гипоэхогенных однородных округлых включений в селезенке размером 0,3÷1,0 мм с процессами активации, пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, в первую очередь Т и В-лимфоцитов.

Благодаря использованию при реализации предлагаемого способа ультразвукового датчика частотой не менее 10 МГц, обеспечивается возможность детальной оценки эхоструктуры селезенки.

Кроме того, как показали наши исследования, точность предлагаемого способа обеспечивается и тем, что о факте изменения специфического иммунитета у детей, связанного с воздействием экологической обстановки, достоверно судят лишь в том случае, если имеют место одновременно два фактора, а именно: во-первых, имеют место вышеуказанные изменения в селезенке, и во-вторых, при одновременном обнаружении наличия химического токсиканта (контаминанта) в пробе крови в концентрации, превышающей реферативное значение (т.е. превышающей норму).

Предлагаемый способ иллюстрируется следующими рисунками, где на рис.1 приведен снимок неизменной эхоструктуры в ультразвуковом срезе селезенки ребенка при сканировании высокочастотным датчиком 10 МГц; на рис.2 - снимок измененной эхоструктуры в ультразвуковом срезе селезенки у детей с гипоэхогенными однородными округлыми включениями размером 0,3÷1,0 мм, расположенными на расстоянии 1,5-2 мм друг от друга; на рис.3-5 - достоверно значимые изменения иммунологических показателей крови детей группы наблюдения в зависимости от концентрации вредного химического вещества в крови детей, имеющих нарушение эхоструктуры селезенки.

При реализации предлагаемого способа осуществляют следующие операции в нижеуказанной последовательности:

- на экологически неблагополучной территории, характеризующейся наличием вредных химических веществ, представляющих опасность развития неблагоприятных эффектов со стороны иммунной системы, проводят ультразвуковое исследование селезенки у детей. В качестве приоритетных факторов при осуществлении предлагаемого способа могут быть выбраны, например, металлы - магний, свинец, и органические вещества - ацетон, дибромхлорметан, толуол, фенол, формальдегид, отрицательно влияющие на здоровье детей;

- у всех детей в амбулаторных условиях производят забор крови, при исследовании которой применяют стандартное оборудование клинической, иммунологической и химико-аналитической лабораторий; устанавливают в крови содержание вредных химических веществ;

- далее проводят ультразвуковое исследование селезенки с оценкой эхоструктуры датчиком частотой не менее 10 МГц. При этом ультразвуковое исследование селезенки выполняется по стандартной методике утром натощак, лежа на спине или на правом боку, запрокинув левую руку за голову для увеличения ширины межреберных промежутков. Селезенка измеряется в длину от одного полюса до другого на уровне ворот, толщина определяется по линии перпендикулярной длине. Измерение дополнительного размера, ширины проводится на поперечном срезе, при повороте датчика на 90 градусов относительно первого положения. Затем оценивается эхогенность, эхоструктура. Наличие гипоехогенных однородных округлых включений по всему ультразвуковому срезу органа размером от 0,3 мм до 1 мм, расположенных на расстоянии 1,5-2 мм друг от друга расценивается как присутствие реактивных клеточных изменений селезенки, обусловленных процессами активации, пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток;

- далее по наличию указанных изменений селезенки и при одновременном превышении содержания вредных химических загрязнителей в крови над реферативными, диагностируют реактивное изменение специфического (приобретенного) иммунитета у детей под воздействием контаминации крови вредными химическими токсикантами промышленного происхождения (например, ацетон, дибромхлорметан, магний свинец, толуол, формальдегид, фенол);

- далее для каждого ребенка разрабатывают индивидуальные программы специфического исследования, наблюдения и лечения в зависимости от тяжести изменения иммунной системы.

Пример. Предлагаемый способ был опробован на примере территорий Пермского края, имеющих неблагоприятный экологический фон и характеризующейся присутствием в объектах окружающей среды таких вредных химических токсикантов (загрязнителей), как ацетон, дибромхлорметан, магний свинец, толуол, фенол, формальдегид,

В качестве группы детей были выбраны здоровые на момент обследования дети (492 ребенка) в возрасте 3-14 лет, постоянно проживающие на указанной территории. Указанную группу разделили на группу наблюдения и группу сравнения.

В группу сравнения вошли 284 ребенка, эхоструктура селезенки, которых по данным УЗИ не имела нарушений и была охарактеризована как однородная мелкозернистая (рис.1).

В группу наблюдения вошли 208 детей, эхоструктура селезенки которых характеризовалась наличием множественных гипоехогенных однородных округлых включений по всему ультразвуковому срезу органа размером от 0,3 мм до 1 мм, расположенных на расстоянии около 1,5-2 мм друг от друга, (рис.2).

У всех детей была взята венозная кровь, в которой устанавливали содержание вредных химических токсикантов. Среднегрупповые значения, полученные в ходе испытаний приведены в таблице 1.

Данные, приведенные в таблице 1, показывают, что по всем химическим токсикантам в крови детей группы наблюдения выявлено достоверное ($p < 0,05$) их превышение по сравнению с реферативной концентрацией (нормой), в то время как у детей группы сравнения эти показатели были в пределах нормы.

Далее в пробе крови были определены наиболее важные лабораторные показатели, характеризующие специфический иммунитет. Согласно современной литературе следует, что «Приобретенный (специфический, адаптивный) иммунный ответ организован вокруг двух основных компонентов - Т и В лимфоцитов. В основе этого

(т.е. приобретенного иммунитета) лежат сложные генетико-молекулярные механизмы, а основными компонентами являются Т- и В-лимфоциты, а также продуцируемые ими цитокины, и синтезируемые В-лимфоцитами иммуноглобулины. (Глава 3)

(Иммунология детского возраста (под ред. проф. А.Ю. Щербины и проф. Е.Д.

Пашанова), - М.: ИД МЕДПРАКТИКА-М, 2006, 432 с.)). Исходя из рекомендаций современной литературы, касающейся иммунологии, были определены следующие иммунологические показатели: CD16+56+лимфоциты - клетки - естественные киллеры; CD19+лимфоциты - В-лимфоциты; CD3+CD8+лимфоциты - цитотоксические Т-лимфоциты; CD3+CD95+лимфоциты - Т-лимфоциты, регулирующие клеточную гибель - апоптоз; CD3+лимфоциты - Т-лимфоциты; CD4+лимфоциты - Т-хелперы; лимфоциты (ОАК); иммуноглобулин G (IgG); иммуноглобулин A (IgA) и иммуноглобулин M (IgM). Данные, полученные в ходе испытаний, приведены в таблице 2.

Данные, приведенные в таблице 2, показывают, что в группе наблюдения, дети которой имеют изменения в экоструктуре селезенки при одновременном превышении содержания химических токсикантов в крови по сравнению с нормой, наблюдается повышение среднегрупповых значений общего пула Т-лимфоцитов, в том числе лимфоцитов маркеров естественной клеточной гибели, Т-цитотоксических и естественных киллеров, обеспечивающих противовирусный иммунитет, а также В-лимфоцитов и всех иммуноглобулинов G, A и M, по сравнению с группой сравнения, что доказывает реактивные изменения специфического (приобретенного) иммунитета. При этом следует указать, что хотя и значения вышеприведенных средних показателей находятся в границах нормы, но у группы наблюдения они ближе к верхней границе, что подтверждает вывод о наличии у детей этой группы реактивных изменений специфического (приобретенного) иммунитета. Если бы эти показатели уже выходили за пределы нормы, то имело бы место клиническое проявление болезни. Это следует из учебника «Иммунология» - Хаитов Р.М., Игнатьева Г.Л., Сидорович И.Г. Учебник. - Москва, Медицина, 2000, с.265: «На определенных этапах работы иммунной системы происходит переход нормы в патологию. Этому предшествует сбой в иммунной системе в виде нарушений субпопуляций лимфоцитов, «порочные круги не правильной работы» иммунной системы закрепляются и в дальнейшем возникает иммунодефицитное или иммунопролиферативное заболевание, которое проявляется клинически. Превышение лабораторных показателей в сравнении с нормативными значениями свидетельствуют о выраженном нарушении работы иммунной системы». Поэтому, исходя из указанной информации, чем ближе показатели специфического иммунитета к границе нормы, тем выше степень изменения такого иммунитета.

Также в ходе испытаний проводили оценку кратности изменения показателей иммунограммы у детей группы наблюдения и у детей группы сравнения (Таблица 3). Данные, приведенные в таблице 3, показывают, что например, по достоверному превышению показателя: CD3+CD95+лимфоциты, абс. относительно нормы, у детей из группы наблюдения (45,2%) было достоверно выше в 2,4 раза по сравнению с детьми группы сравнения (18,8%); по достоверному превышению показателя: CD3+CD95+лимфоциты, отн. относительно нормы, у детей из группы наблюдения (45,2%) было достоверно выше в 2,7 раза по сравнению с детьми группы сравнения (16,7%); по достоверному превышению показателя: CD3+лимфоциты, абс. относительно нормы, у детей из группы наблюдения (22,7%) было достоверно выше в 2,55 раза по сравнению с детьми группы сравнения (8,9%) и т.д. по другим приведенным в таблице 3 достоверным показателям. Таким образом, приведенные в таблице 3 данные по

кратности изменения показателей показывают, что количество детей группы наблюдения с достоверным увеличением по сравнению с нормой параметров Т- и В-лимфоцитов в 2,4-2,7 раза превосходит количество детей из группы сравнения. Это доказывает, что изменения иммунологического статуса достоверно чаще (в 2,4-2,7
 5 раза) встречаются у детей с наличием в крови повышенной концентрации химического токсиканта при одновременном наличии округлых включений в селезенке по сравнению с детьми без этих проявлений. Это доказывает наличие реактивных изменений иммунной системы детей группы наблюдения.

10 Исследование изменений лабораторных иммунологических показателей под воздействием химических токсикантов, обнаруженных в крови детей группы наблюдения, проводилось на основе построения и анализа вероятностных логистических моделей, выборочно приведенных в качестве примера на рисунках 3-5.

15 При этом оценка результатов математического моделирования, определяющая причинно-следственные связи: изменение лабораторных показателей крови в зависимости от концентрации вредного химического вещества в крови детей, имеющих нарушение экстроструктуры селезенки, показала достоверно значимое (проверка статистических гипотез относительно полученных модельных зависимостей
 20 проводилась с использованием критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$) влияние содержания ряда металлов и органических соединений на состояние иммунологического гомеостаза у детей, что доказывает достоверность и точность предлагаемого способа. Математический анализ проводился с использованием метода логистической регрессии на основе построения
 25 вероятностных логистических моделей. Полученные результаты показали следующее.

Повышение концентрации ацетона в крови детей группы наблюдения достоверно приводит к повышению различных субпопуляций Т-лимфоцитов, характеризующих клеточное звено иммунного ответа, в том числе лимфоцитов маркеров естественной
 30 клеточной гибели, Т-лимфоцитов хелперов. Увеличение ацетона достоверно увеличивает вероятность повышения CD19+лимфоцитов - маркеров В-лимфоцитов (рис.3).

Также установлено, что с нарастанием уровня формальдегида в крови детей группы наблюдения достоверно увеличивается вероятность повышения CD3+
 35 лимфоцитов - Т-лимфоцитов (рис.4).

Увеличение концентрации свинца в крови детей группы наблюдения достоверно увеличивает вероятность повышения Т-лимфоцитов маркеров естественной клеточной гибели и Т-цитотоксических (CD3+CD8+лимфоциты) (рис.5).

40 Для иллюстрации реализации предлагаемого способа приведены два примера по конкретным пациентам одного возраста и пола из группы наблюдения и группы сравнения.

Пример 1. Мальчик, 6 лет из группы наблюдения, у которого при проведении ультразвукового исследования выявлены множественные гипоехогенные однородные
 45 округлые включения по всему ультразвуковому срезу органа размером от 0,3 мм до 1 мм, расположенные на расстоянии около 1,5-2 мм друг от друга. Химико-аналитический анализ крови показал увеличение в крови фенола до 0,06 мг/дм³, наличие толуола до 0,015 мг/дм³, и превышение формальдегида относительно
 50 фоновых значений до 0,027 мг/дм³. Иммунологические показатели в анализе крови имели следующие значения: CD19+лимфоциты - 0,48; CD3+лимфоциты - 2,16; CD3+CD8+лимфоциты - 0,8; CD16+56+лимфоциты - 0,34, CD3+CD95+лимфоциты - 0,72; IgG - 15,4 г/дм³; IgM - 1,9 г/дм³; IgA - 2,6 г/дм³. Анализируя представленные данные,

необходимо отметить что представленный ребенок относился к группе длительно и часто болеющих (ОРЗ 3 раза в год, бронхопневмония в анамнезе), из чего можно сделать вывод, что у пациента имеются изменения в специфической иммунной системе, в частности, иммунодефицитное состояние. При этом следует принять во внимание следующее. Несмотря на прогресс высокотехнологичных лабораторных методик, клинические аспекты заболевания по-прежнему играют основную роль на раннем этапе диагностики нарушений иммунной системы. Немаловажную роль в выявлении такого нарушения играет правильная оценка анамнеза жизни и заболевания ребенка, а также семейного анамнеза. Подавляющее большинство иммунодефицитных состояний проявляется повышенной частотой и тяжестью инфекционных заболеваний. Наличие в анамнезе повторных пневмоний, а также тяжелых инфекционных процессов, например, сепсис, гнойный менингит, остеомиелит, гнойные инфекции кожи, требуют проведения лабораторного иммунологического обследования. («Иммунология детского возраста» (под ред. проф. А.Ю. Щербины и проф. Е.Д. Пашанова), - М.: ИД МЕДПРАКТИКА-М, 2006, 432 с.); ссылка на 56).

Пример 2. Мальчик, 6 лет из группы сравнения который не имел изменений селезенки по эхографическим данным, в химико-аналитическом анализе крови все показатели ниже фоновых значений: фенол - 0,06; толуол - отсутствовал, свинец - 0,1; дибромхлорметан - отсутствовал; ацетон - 0,025, магний - 31,2. В иммунологическом анализе значения показателей были следующими: CD19+лимфоциты - 0,36; CD3+лимфоциты - 1,72; CD3+CD8+лимфоциты - 0,6; CD16+56+лимфоциты-0,23, CD3+CD95+лимфоциты - 0,52 IgG - 7,1 г/дм³; IgM - 0,92 г/дм³; IgA - 1,54 г/дм³. Анализируя представленные данные, необходимо отметить, что ребенок относится к 1 группе здоровья, и за последний год не обращался к врачу по поводу острых заболеваний. Изменения в специфическом иммунитете отсутствуют.

Таким образом, в результате исследования было установлено негативное воздействие металлов и органических соединений на иммунную систему детей, которое заключается в реактивной активации специфического (приобретенного) иммунитета.

Исходя из вышеизложенного, было доказано, что при реализации предлагаемого способа действительно можно достоверно и точно определить факт реактивного изменения специфического (приобретенного) иммунитета у детей, проживающего в условиях воздействия химической контаминации.

При этом предлагаемый способ прост, не инвазивен, доступен, может быть широко использован как в специализированных клиниках при обследовании пациентов, так и в рядовых учреждениях здравоохранения.

Кроме того, этот заявляемый способ имеет актуальное значение в настоящих условиях, т.к. позволяет контролировать изменение иммунитета детей, формирующегося под воздействием химических факторов среды обитания, и учитывать этот факт при проведении мероприятий социально-гигиенического мониторинга.

Таблица 1				
Содержание контаминантов (металлов и органических соединений) в крови детей группы наблюдения и группы сравнения, мг/дм ³				
Химический токсикант	Реферативная концентрация (норма)	Группа наблюдения	Группа сравнения	Межгрупповое достоверное различие (p) по средним значениям
		M±m	M±m	
Ацетон	0,037±0,852	0,05±0,0159	0,03±0,007	0,0063
Дибромхлорметан	0,00000411±0,00000416	0±0,0000122	0±0,00000416	0,0240

Магний	33,25±2,865608619	41,71±3,97	30,32±1,75	0,0000
Свинец	0,1245±0,01787815	0,11±0,008	0,1±0,0065	0,0059
Толуол	0	0,02±0,0112	0,01±0,00681	0,0431
Фенол	0,01±0,011801192	0,05±0,011	0,04±0,0084	0,0163
Формальдегид	0,0019±0,005436712	0,03±0,0072	0,01±0,0031	0,0003
M±m - среднегрупповое значение ± ошибка				
p - достоверность различий				

Таблица 2					
Иммунный профиль детей группы наблюдения и группы сравнения					
Показатель	Группа наблюдения		Группа сравнения		Межгрупповое достоверное различие (p) по средним значениям
	N	M±m	N	M±m	p<0,05
CD16+56+лимфоциты, абс	110	0,32±0,03	112	0,27±0,03	0,0119
CD19+лимфоциты, абс	110	0,46±0,04	112	0,4±0,03	0,0226
CD3+CD8+лимфоциты, абс	110	0,77±0,06	112	0,68±0,05	0,0194
CD3+CD95+лимфоциты, абс	42	0,69±0,07	48	0,56±0,06	0,0046
CD3+CD95+лимфоциты, отн	42	25,31±2,12	48	20,84±1,77	0,0016
CD3+лимфоциты, абс	110	2,11±0,13	112	1,89±0,1	0,0064
Лимфоциты (ОАК)	110	42,6±1,04	112	39,1±0,63	0,0004
IgG	110	10,49±0,31	112	10,03±0,34	0,049
IgM	110	1,31±0,21	112	1,22±0,20	0,012
IgA	110	1,35±0,34	112	1,26±0,33	0,047

Примечание:

N - количество обследованных пациентов;

M±m - среднегрупповое значение ± ошибка;

CD16+56+лимфоциты - клетки - естественные киллеры (норма 0,09-0,59×10⁹ дм³);

CD19+лимфоциты - В лимфоциты (норма 0,09-0,66×10⁹ дм³);

CD3+CD8+лимфоциты - цитотоксические Т-лимфоциты (норма 0,19-1,14×10⁹ дм³);

CD3+CD95+лимфоциты - Т-лимфоциты, регулирующие клеточную гибель - апоптоз (норма 0,4-0,7×10⁹ дм³);

CD3+лимфоциты - Т-лимфоциты (норма 0,69-2,54×10⁹ дм³);

Лимфоциты (ОАК) - относительное количество лимфоцитов в общем анализе крови (норма кардинально зависит от возраста);

IgG - иммуноглобулин G (норма 6,5-15,1 г/дм³);

IgM - иммуноглобулин M (норма 0,55-2 г/дм³);

IgA - иммуноглобулин A (норма 0,73-25 г/дм³).

Таблица 3				
Кратность изменения показателей иммунограммы детей группы наблюдения и группы сравнения				
Показатель	Группа наблюдения	Группа сравнения	Анализ частот выше нормы по отношению к группе сравнения, %	Межгрупповое достоверное различие (p) по кратностям превышения нормы (p<0,05)
	M±m выше нормы, %	M±m выше нормы, %		
CD3+CD95+лимфоциты, абс	45,2	18,8	61,9	0,0108
CD3+CD95+лимфоциты, отн	45,2	16,7	61,9	0,0171
CD3+лимфоциты, абс	22,7	8,9	49,1	0,0132
IgG	43,2	37	42,1	0,0486
IgA	53,8	38,9	44,2	0,0403
IgM	36,2	19,2	47,2	0,005

Формула изобретения

Способ диагностики реактивного изменения специфического иммунитета у детей в условиях химической контаминации, характеризующийся тем, что производят отбор пробы крови у детей, проживающих в условиях химической контаминации, выполняют клинико-лабораторные исследования крови на содержание вредных химических соединений, у детей проводят ультразвуковое исследование селезенки для оценки ее эхоструктуры с использованием датчика частотой не менее 10 МГц и при наличии в ультразвуковом срезе селезенки гипоехогенных однородных округлых включений размером 0,3-1,0 мм, расположенных на расстоянии 1,5-2 мм друг от друга, а также при одновременном превышении концентрации вредного химического соединения в крови по сравнению с его референтным значением диагностируют реактивные изменения специфического иммунитета у детей.

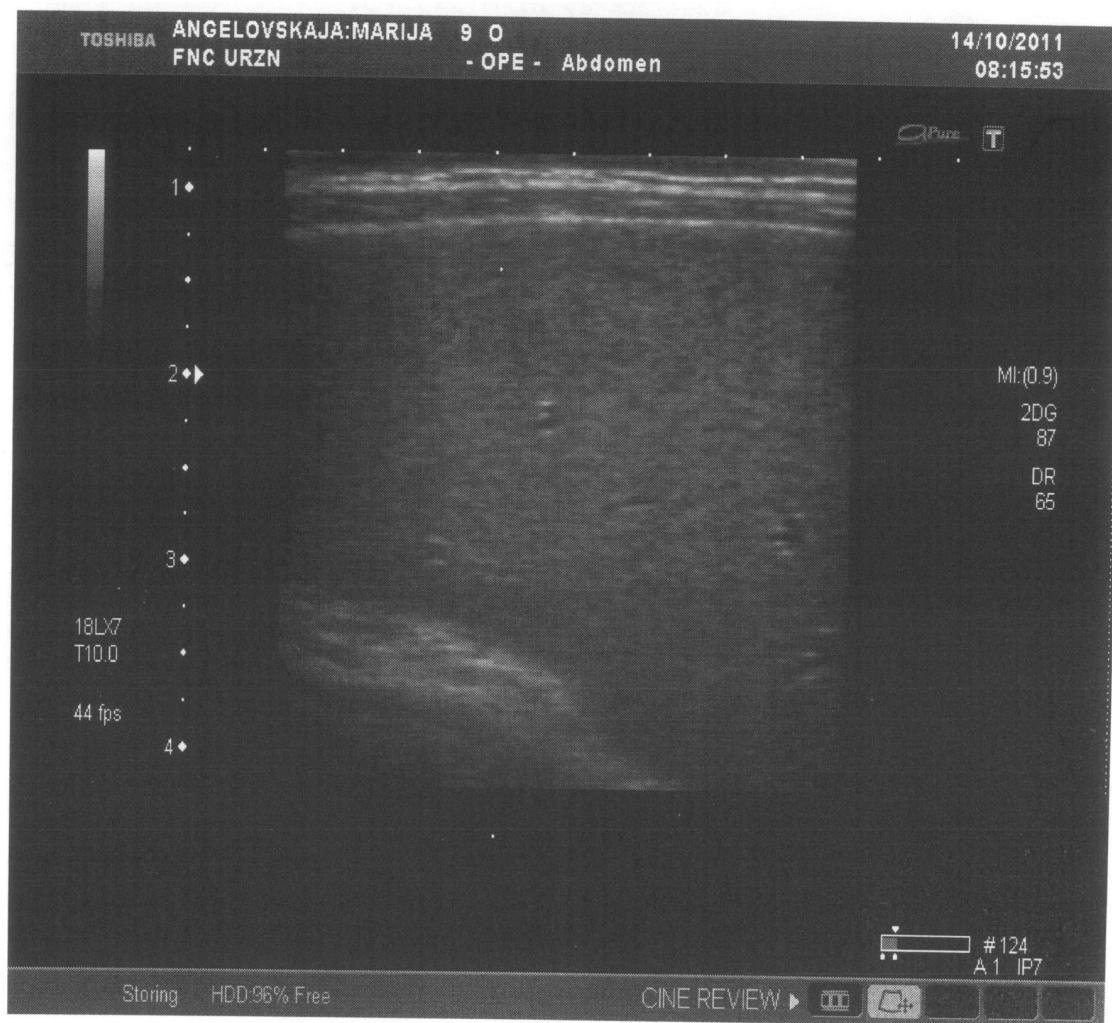


Рис. 1



Рис.2

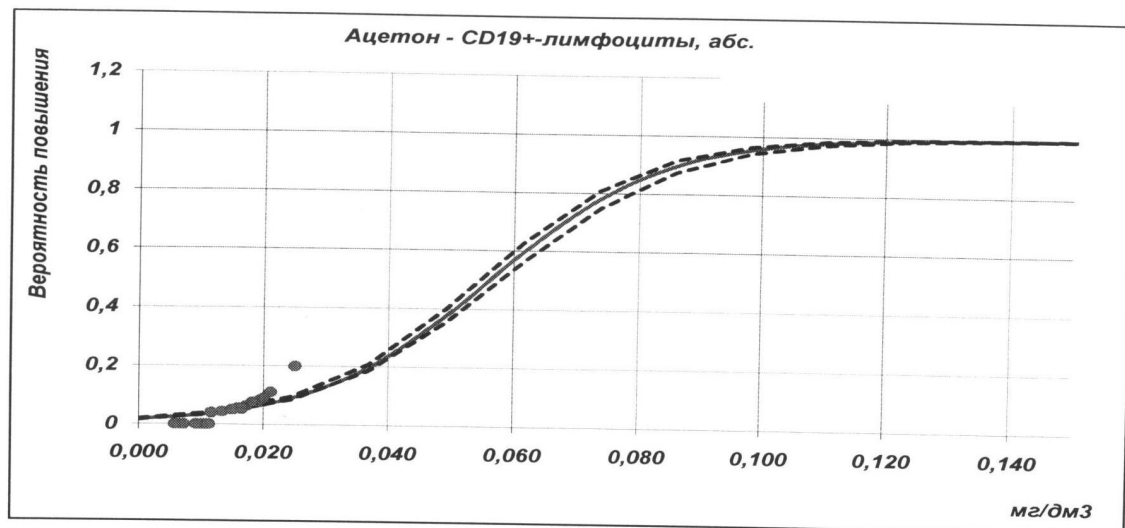


Рис.3

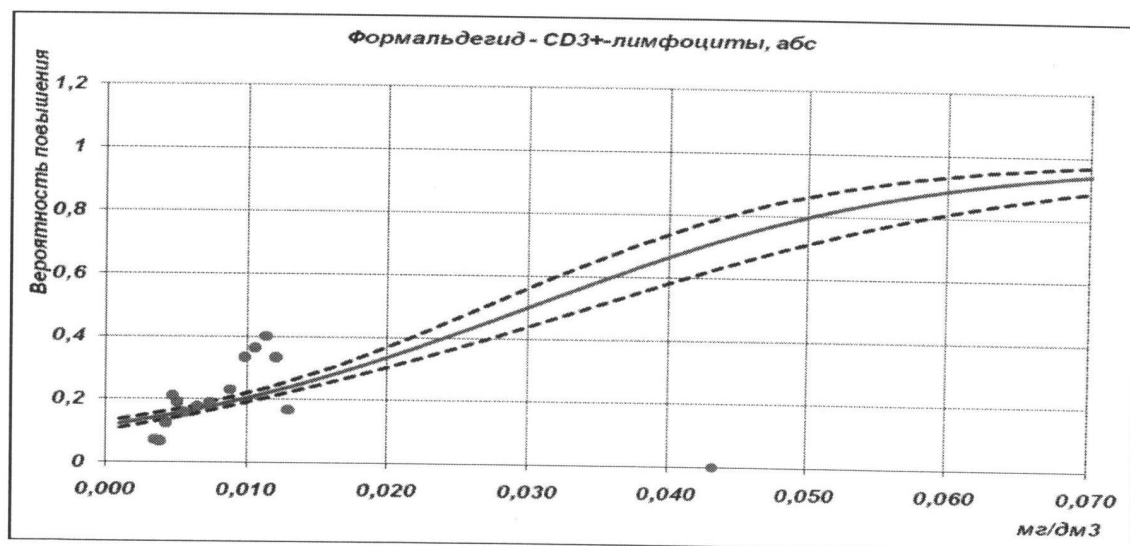


Рис.4

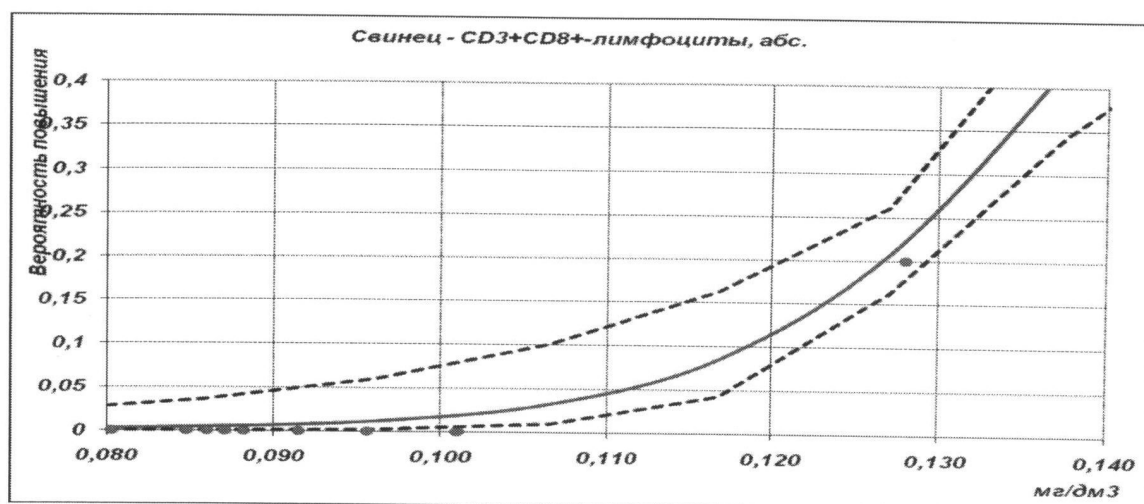


Рис.5