



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **53135** (13) **U**
(51) **МПК (2009)**
A61B 10/00
G01N 33/49

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПОРУШЕНЬ ХРОМОСОМНОГО АПАРАТУ ПРИ ОСТЕОАРТРОЗІ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ

1

2

(21) u201003572

(22) 29.03.2010

(24) 27.09.2010

(46) 27.09.2010, Бюл.№ 18, 2010 р.

(72) БАГАЦЬКА НАТАЛІЯ ВАСИЛІВНА, ЛЕБЕЦЬ
ІРИНА СТЕПАНІВНА, НЕФІДОВА ВАЛЕНТИНА
СВГЕНІВНА

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ОХОРО-
НИ ЗДОРОВ'Я ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ АМН УКРАЇ-
НИ"

(57) Спосіб виявлення осіб високого ризику щодо
порушень стану хромосомного апарату у дітей та

підлітків, хворих на остеоартроз, шляхом прове-
дження цитогенетичного аналізу частоти та спектра
хромосомних порушень, який **відрізняється** тим,
що у хворих проводять цитогенетичне обстеження
із застосуванням методів гомогенного та дифере-
нційного С- та G-забарвлення препаратів хромо-
сом і оцінюють каріотип, і при виявленні 4-15 %
хромосомних порушень на 100 клітин визначають
осіб високого ризику щодо порушень хромосомно-
го апарату.

Корисна модель відноситься до медицини, а
саме до ревматології, і може бути використаний
для виявлення осіб високого ризику щодо пору-
шень стану хромосомного апарату у дітей та підлі-
тків, хворих на остеоартроз.

Остеоартроз - гетерогенна група захворювань
різної етіології, що проявляються появою симпто-
мів з боку суглобів, обумовлених порушенням ці-
лості суглобового хряща, а також змінами кістки,
яка приєднується. При цьому патологічні зміни при
остеоартрозі характеризуються нерівномірною
втратою хряща, найчастіше у зонах підвищеного
навантаження, склерозом субхондральної кістки,
формуванням субхондральних кіст, кінцевих осте-
офітів, підвищенням метафізального кровообігу та
запаленням синовіальної оболонки, що призвод-
ить до дегенерації і повної втрати суглобового
хряща.

За останній час спостерігається зростання ча-
стоти цього захворювання в підлітковому віці та тлі
вікових особливостей метаболізму основних ком-
понентів сполучнотканинного матриксу хряща та
нейрогуморальної перебудови в організмі. Серед
негативних чинників остеоартрозу слід визначити
наявність обтяженої спадковості щодо захворю-
вань суглобів, перенесений реактивний артрит,
гіпермобільність суглобів та інші. Тяжкий перебіг
остеоартрозу у дітей та підлітків може спричиняти
також негативний вплив на стабільність хромосо-

много апарату, порушуючи нормальний мітотичний
цикл. Вступ у мітоз клітин з нестабільним геномом
загрожує відтворенням анеуплоїдних дочірніх клі-
тин з підвищеною схильністю до онкогенної транс-
формації, а у майбутньому - до порушення ре-
продуктивної функції і появи у нащадків, хворих на
остеоартроз вроджених вад розвитку. Виникнення
хромосомних та геномних мутацій - складний, ба-
гатоступеневий процес, пов'язаний зі зростанням
та метаболізмом клітин, з активністю ферментів,
які включаються у процеси реплікації, репарації та
рекомбінації ДНК, із взаємодією ядерних та цито-
плазматичних генів. Запобігти цьому може раннє
цитогенетичне обстеження дітей та підлітків, хво-
рих на остеоартроз, та виявлення у них хромосо-
мних порушень з метою проведення їм своєчасної
адекватної терапії.

Відомий спосіб визначення аберацій хромосом
у хворих на остеоартроз із застосуванням методу
флуоресцентної гібридизації in situ (FISH) із вико-
ристанням двоколових центромерспецифічних
проб. [Аналог: Castellanos M. V., Hernandez J. M.,
Ramos L. et al. Chromosomal abnormalities are
related to location and grade of osteoarthritis //
Osteoarthritis Cartilage. - 2004. - N12(12). - P. 982-
985].

Але цей метод потребує додаткового облад-
нання для проведення цитогенетичного дослі-
дження й коштовних реактивів (праймерів ДНК)

(19) **UA** (11) **53135** (13) **U**

для ідентифікації кожної конкретної перебудови в конкретній хромосомі, він не дозволяє отримати загальну картину стану хромосомного апарату дітей та підлітків, хворих на остеоартроз.

Відомий спосіб виявлення окремих цитогенетичних порушень при остеоартрозі на підставі виявлення асоціацій між двома локусами на хромосомі 2 та вузлуватим остеоартрозом із застосуванням мікросателітних маркерів методом полімеразної ланцюгової реакції [Аналог: Wright G. D., Hughes A. E., Regan M., and Doherty M. Association of two loci on chromosome 2 with nodal osteoarthritis // *Ann. Rheum. Dis.* - 1996. - N55(5). - P.317-319].

Недоліком цього методу є потреба у ПЛР-лабораторії та коштовних ДНК-праймерах; він дозволяє виявити лише поодинокі мутації для окремих хромосом, не дає змогу оцінити загальний стан хромосомного апарату у хворих на остеоартроз. Метод потребує значних економічних витрат.

Найбільш близьким за технічною суттю до корисної моделі, що заявляється, є спосіб визначення рівня хромосомних аберацій у хворих на ревматоїдний артрит, остеоартроз та інші хвороби суглобів шляхом оцінки за GTG-методом кількості ушкоджених хромосом [Прототип: Kinne R. W., Leibr T., Beensen V. et al. Mosaic chromosomal aberrations in synovial fibroblast of patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and other inflammatory joint diseases // *Arthritis Res.* - 2001. - N3(5). - P. 319-330]. Недоліком цього методу є проведення цитогенетичного дослідження у синовіальних фібробластах, що є складним при виконанні для практичної охорони здоров'я.

Задачею запропонованої корисної моделі є створення такого способу оцінки виявлення осіб високого ризику щодо порушень хромосомного апарату у дітей та підлітків, хворих на остеоартроз, при якому шляхом проведення цитогенетичного дослідження із застосуванням методів гомогенного та диференційного C- та G- забарвлення препаратів хромосом можна визначити рівень та типи хромосомних порушень. Цитогенетичне обстеження хворих на остеоартроз дозволяє в більш ранні строки виявляти носіїв не тільки аномалій каріотипу, але й структурних порушень хромосом та проводити їм своєчасну терапію, що мінімізує негативні наслідки у майбутньому репродуктивному житті цих осіб. Перспективність використання цитогенетичного методу зумовлена тим, що біологічним матеріалом є периферична кров, забір якої не спричиняє негативного враження на хвору дитину, цей метод може використовуватися незалежно від віку людини, він не потребує значних економічних витрат.

Спосіб прогнозування, що заявляється, відрізняється від прототипу тим, що пропонується використання цитогенетичного обстеження хворих на остеоартроз із застосуванням методів гомогенного та диференційного C- та G-забарвлення препаратів хромосом, яке проводиться з метою виявлення особливостей каріотипу, рівня та типів хромосомних порушень. При виявленні високого рівня хромосомних порушень >3% обстежену дитину відносять до групи високого ризику, якій необхідно

проводити адекватне лікування, що спричинятиме елімінацію ушкоджених ділянок хромосом.

Методика цитогенетичного дослідження здійснюється за Р. Moorhead et al., 1960. Матеріалом для цитогенетичного аналізу слугують препарати хромосом, отримані з культури лімфоцитів периферичної крові хворих.

Суть способу полягає в тому, що у хворих дітей та підлітків проводять забір крові із ліктьової вени у кількості 1,0мл, потім розливають у два культуральних флакони з поживним середовищем та фітогемаглютینیном, і культивують у термостаті при $t+37^{\circ}\text{C}$ протягом 72 годин. На наступному етапі клітини крові гіпотенізують, потім проводять фіксацію препаратів розчином етилового спирту (95%) та льодяної оцтової кислоти (3:1). Суміш наносять на предметне скло і проводять ідентифікацію хромосом на гомогенно забарвлених барвником Гімза препаратах або за C- та GTG-технікою.

При вивченні частоти і спектру хромосомних аберацій у хворих із остеоартрозом аналізують 100 метафазних пластинок. Враховують всі структурні аберації хроматидного (одиначні фрагменти) та хромосомного типів (парні фрагменти, розриви по центромері, кільцеві хромосоми, дицентричні хромосоми, передчасне розходження центромер) та числові аберації (поліплоїдні клітини) хромосом.

Дітей та підлітків, хворих на остеоартроз, у котрих виявляється підвищений рівень хромосомних аберацій (від 4 до 15%), відносять до групи високого генетичного ризику щодо стабільності стану хромосомного апарату, яким необхідно назначати відповідну терапію.

Для визначення прогностичної значущості рівня хромосомних порушень у дітей та підлітків, хворих на остеоартроз, для віднесення їх до групи високого ризику, застосовують методику послідовної процедури Вальда з визначенням інформативності ознак за допомогою критерію Кульбака. За допустимого помилку при прогнозуванні захворювання приймали 5,0% поріг.

Прогностичним є рівень хромосомних аберацій від 3 до 5% ($\text{ПК}=+5,1$; $\text{Інф}=0,8$), але найбільше значення має рівень хромосомних аберацій від 6 до 13 % ($\text{ПК}=+6,3$; $\text{Інф}=0,7$).

Запропонований спосіб визначення осіб, хворих на остеоартроз, у котрих виявляється підвищений рівень хромосомних порушень, дозволяє своєчасно провести профілактичні заходи і тим самим мінімізувати несприятливі наслідки в майбутньому.

Приклад 1. Хвора Оксана 3., 12 років (історія хвороби №572), надійшла до кардіоревматологічного відділення клініки зі скаргами на артралгії в колінних суглобах, набряки, обмеження руху, запаморочення.

Із анамнезу життя: дівчинка народилась від другої фізіологічної вагітності, других фізіологічних пологів. Маса тіла при народженні - 3100г., довжина тіла - 52см. До року психомоторний розвиток дівчинки відповідав віковим нормам. Артралгії в колінних суглобах спостерігалися протягом двох років.

Із анамнезу хвороби: з 5-ти років часто хворіла на бронхіти, з 10-ти років було встановлено діаг-

ноз: бронхіальна астма.

Операцій, травм не було.

Об'єктивно: на момент обстеження дівчинки загальний стан здоров'я задовільний. Дівчинка надмірної ваги, правильної статури. Шкіра, слизові оболонки чисті, звичайного кольору. В легенях везикулярне дихання, тони серця ритмічні, достатньої звучності, ніжний систолічний шум на верхівці. Живіт м'який, помірно болісний в епігастрії. Печінка, селезінка не збільшені. Набряки нижніх заворотів колінних суглобів, рухливість у повному обсязі, при згинанні - грубий хрускіт.

За даними лабораторних досліджень: клінічний аналіз крові та сечі без особливостей.

Біохімічний аналіз крові - цукор крові: 4,7ммоль/л.

Гострофазові показники: СНБ - негативн., сіалові кислоти - 132од., серомукоїди - 0,143од., глюкопротейди - 0,293од.

За даними УЗД колінних суглобів: синовіт з обох сторін, більше - з правої, стовщення синовіальної оболонки.

За даними клініко-генеалогічного аналізу: спадковість не обтяжена щодо захворювань суглобів.

При проведенні цитогенетичного аналізу було встановлено каріотип 46,XX, який відповідав нормальному жіночому, підвищений рівень хромосомних аберацій - 4% (2 парних фрагменти, 1 передчасне розходження хроматид, 1 поліплоїдна клітина).

Клінічний діагноз: остеоартроз колінних суглобів, гіпоталамічний синдром пубертатного віку, астено-невротичний синдром, синдром вегетативної дисфункції, синдром лікворної гіпертензії.

Приклад 2. Хвора Ірина К., 13 років (історія хвороби № 3109) надійшла до клініки зі скаргами на артралгії в колінних суглобах незалежно від навантаження.

Із анамнезу життя: дівчинка народилась від першої вагітності, яка перебігала з загрозою переривання та гестозом 2 половини вагітності, перших фізіологічних пологів. Маса тіла при народженні - 2700г., довжина тіла - 49см. До року психомоторний розвиток дівчинки відповідав віковим нормам. Артралгії в колінних суглобах спостерігалися протягом останнього року.

Із анамнезу хвороби: часті ГРЗ, вітряна віспа.

Операцій не було, була травма: розтягнення зв'язок правого гомілковостопного суглоба.

Об'єктивно: на момент обстеження дівчинки загальний стан здоров'я задовільний. Дівчинка астеничної статури. Шкіра, слизові оболонки чисті, звичайного кольору. В легенях везикулярне дихання, тони серця ритмічні, приглушені, короткий систолічний шум. Живіт м'який, при пальпації безболісний. Печінка, селезінка не збільшені. Суглоби зовні не змінені. Рухливість - гіпермобільність багатьох суглобів.

За даними лабораторних досліджень: клінічний аналіз крові та сечі без особливостей.

Гострофазові показники: СНБ - негативн., сіалові кислоти - 140од., серомукоїди - 0,124од., глюкопротейди - 0,315од.

Дослідження на обмін сполучної тканини дало такі результати: кров: ГАГС загальні - 10од., 1 фр.

- 6,4од., 2 фр. - 2,4од., 3 фр. - 1,2од., хондроїтин-сульфати - 0,097г/л, кальцій - 2,4ммоль/л, фосфор - 1,5ммоль/л, ЛФ - 4,2 од. Бод, КФ - 5,7од. Бод, магній - 0,91ммоль/л. Сеча: оксипролін - 177мг/доб, уронові кислоти - 5,2мг/доб, кальцій - 115мг/доб, фосфор - 0,64мг/доб.

Рентгенографія колінних суглобів: ущільнення суглобових поверхонь великогомілкових кісток, зовнішніх та внутрішніх поверхонь надколінників. подовжені міжвиросткові підвищення, медіальні - загострені.

УЗД колінних суглобів: явищ синовіту немає. Синовіальна оболонка не змінена, суглобова щілина нерівномірно звужена, товщина хряща зменшена.

За даними клініко-генеалогічного аналізу - спадковість щодо захворювань суглобів обтяжена з материнської лінії у родички другого ступеня спорідненості (бабуся з боку матері).

При проведенні цитогенетичного аналізу було встановлено каріотип 46,XX, який відповідав нормальному жіночому, та підвищений рівень хромосомних аберацій - 13% (парні фрагменти - 9, передчасне розходження сестринських хроматид - 1, нерозходження хромосом - 1, тотальне ушкодження хромосом - 1 та 1 поліплоїдна клітина).

Клінічний діагноз: вторинний остеоартроз колінних суглобів, системна дисплазія сполучної тканини, дискінезія жовчовивідних шляхів.

Приклад 3. Хвора Олена К., 15 років (історія хвороби №440), надійшла до клініки зі скаргами на артралгії в колінних суглобах протягом двох з половиною років.

Із анамнезу життя: дівчинка народилась від другої вагітності, яка супроводжувалася залізодефіцитною анемією, перших пологів зі стимуляцією. Маса тіла при народженні - 3500г., довжина тіла - 52см. До року психомоторний розвиток дівчинки відповідав віковим нормам. Артралгії в колінних суглобах спостерігалися протягом двох з половиною років, хруст - з 6 років.

Із анамнезу хвороби: часті ГРЗ, вітряна віспа.

Операцій, травм не було.

Об'єктивно: на момент обстеження дівчинки загальний стан здоров'я задовільний. Шкіра, слизові оболонки чисті, звичайного кольору. В легенях везикулярне дихання, тони серця ритмічні, приглушені. Живіт м'який, при пальпації болісний в епігастрії. Печінка, селезінка не збільшені. Суглоби зовні не змінені. Рухливість в повному обсязі. При згинанні спостерігається грубий хрускіт.

За даними лабораторних досліджень: клінічний аналіз крові та сечі без особливостей.

Гострофазові показники: СНБ - негативн., сіалові кислоти - 140од., серомукоїди - 0,124од., глюкопротейди - 0,315од.

Дослідження на обмін сполучної тканини: кров: колагеназа - 13,8мкМ/л/г, еластаза - 35,3мкМ/л/г, інгібітор еластази - 0,12 г/л.

Рентгенографія колінних суглобів: ущільнення суглобових поверхонь великогомілкових кісток, зовнішніх та внутрішніх поверхонь надколінників, подовжені та загострені міжвиросткові підвищення.

УЗД колінних суглобів: суглобова щілина нерівномірно звужена, де фігурація суглобів.

За даними клініко-генеалогічного аналізу - спадковість щодо захворювань суглобів обтяжена з материнської лінії у родички другого ступеня спорідненості (бабусі з боку матері).

При цитогенетичному обстеженні було встановлено каріотип 46,XX, який відповідав нормальному жіночому, рівень хромосомних порушень складав 6% (3 парних фрагменти, 2 передчасних розходження сестринських хроматид та 1 поліплоїдна клітина).

Клінічний діагноз: вторинний остеоартроз колінних суглобів, системна дисплазія сполучної тканини, хронічний ерозивний гастрит з нормальною кислотоутворюючою функцією, гіпоталамічний синдром пубертатного періоду.

Приклад 4. Хворий Микола С, 16 років (історія хвороби №3338) надійшов до клініки Інституту зі скаргами на артралгії та хрускіт у колінних і кульшових суглобах, головні болі підвищену, стомленість, періодичні підйоми АТ.

Із анамнезу життя: хлопчик народився від другої вагітності, що супроводжувалася токсикозом І половини, других фізіологічних положів. Маса тіла при народженні - 2600г., довжина тіла - 50см. До року психомоторний розвиток хлопчика відповідав віковим нормам.

Із анамнезу хвороби: часті ГРЗ, вітряна віспа.

Операцій, травм не було.

Об'єктивно: на момент обстеження хлопчика загальний стан здоров'я задовільний. Шкіра, слизові оболонки чисті, звичайного кольору. В легенях везикулярне дихання, тони серця звучні, поодинокі екстрасистולי, систолічний шум. Живіт м'який, при пальпації безболісний. Печінка, селезінка не збільшені. Суглоби зовні не змінені. Рухливість - в повному обсязі, при русі колінних суглобів - грубий

хрускіт.

За даними лабораторних досліджень: клінічний аналіз крові та сечі без особливостей.

Гострофазові показники: СНБ - негативн., сіалові кислоти - 95од., серомукоїди - 0,100од., глюкотеїди - 0,284од.

Дослідження на обмін сполучної тканини: кров: ГАГС загальні -11,1од., 1 фр. - 8,3од., 2 фр. - 1,7од., 3 фр. - 1,1од., хондроїтинсульфати - 0,212г/л, кальцій - 2,3ммоль/л, фосфор - 1,35ммоль/л, ЛФ - 5,9од. бод, КФ - 5,0од. бод, магній - 0,95ммоль/л. Сеча: оксипролін - 46мг/доб, уронові кислоти - 6,1мг/доб, кальцій - 186мг/доб, фосфор - 0,43мг/доб.

Рентгенографія колінних суглобів: ущільнення суглобових поверхонь великогомілкових кісток. Медіальні міжвиросткові підвищення подовжені та загострені. Суглобові щілини нерівномірно звужені.

Рентгенографія кульшових суглобів: ущільнені криши вертлюжних впадин. Суглобові щілини звужені, більше з правого боку.

За даними клініко-генеалогічного аналізу - обтяжена спадковість щодо захворювань суглобів у родичів другого ступеня спорідненості за обома лініями (бабусі з боку батька та матері).

При проведенні цитогенетичного аналізу було встановлено каріотип 46,XY, який відповідає нормальному чоловічому, та підвищений рівень хромосомних аберацій - 5% (4 парних фрагменти та 1 одиночний фрагмент).

Клінічний діагноз: вторинний остеоартроз колінних та кульшових суглобів, системна дисплазія сполучної тканини, дифузний зоб І ст., ВСД, І артеріальна гіпертензія, хронічний тонзиліт.