



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114022** (13) **C2**  
(51) МПК (2017.01)  
**G01N 33/50** (2006.01)  
**A61B 10/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<b>(21)</b>	Номер заявки:	<b>а 2015 07392</b>	<b>(56)</b>	Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
<b>(22)</b>	Дата подання заявки:	<b>23.07.2015</b>		UA 28147 U, 26.11.2007
<b>(24)</b>	Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>10.04.2017</b>		UA 37271 U, 25.11.2008
<b>(41)</b>	Публікація відомостей про заявку:	<b>10.02.2016, Бюл.№ 3</b>		UA 35984 U, 10.10.2008
<b>(46)</b>	Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>10.04.2017, Бюл.№ 7</b>		UA 58839 U, 26.04.2011
<b>(72)</b>	Винахідник(и): <b>Фролова Тетяна Володимирівна (UA), Охапкіна Ольга Володимирівна (UA), Сіняєва Ірина Резівна (UA), Терещенкова Ірина Іванівна (UA), Стенкова Наталія Федорівна (UA), Атаманова Олена Володимирівна (UA)</b>			UA 78306 U, 11.03.2013
<b>(73)</b>	Власник(и): <b>ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пр. Леніна, 4, м. Харків, 61022 (UA)</b>			US 5869273 A, 09.02.1999
<b>(74)</b>	Представник: <b>Євтушенко Тамара Григорівна</b>			Фролова Т.В. Стратифікація факторів ризику формування остеопенії в дітей з дисплазією сполучної тканини / Т.В. Фролова, О.В. Охапкіна, І.І. Терещенкова, К.Г. Коліушко // Проблеми остеології. - 2014 - Т. 17. - №1. - С. 37-40
				Охапкіна О.В. Патогенетичні основи донозологічної діагностики системних уражень сполучної та кісткової тканини / О.В. Охапкіна, Т.В. Фролова, Л.О. Климовська, Л.В. Черкашина і інш. // Патологія. - 2008. - С. 129
				Чурлина А.В. Нарушение метаболизма соединительной ткани при некоторых патологических состояний у детей /А.В. Чурлина, О.Н. Москалюк // Здоров'я дитини. - 2006. - 1(1). - С. 1-5 [Інтернет-публікація], URL: <a href="http://www.mif-ua.com/archive/article/240">http://www.mif-ua.com/archive/article/240</a> (збережено WayBack Machine 27.02.2010, знайдено 06.03.2017)

**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ПРОГРЕСУВАННЯ ДИСПЛАСТИКОЗАЛЕЖНОЇ ПАТОЛОГІЇ У ДІТЕЙ З СИНДРОМОМ НЕДИФЕРЕНЦІЙОВАНОЇ ДИСПЛАЗІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ****(57) Реферат:**

Винахід належить до медицини, а саме до педіатрії. Спосіб діагностики прогресування диспластикозалежної патології у дітей з синдромом недиференційованої дисплазії сполучної тканини включає визначення рівня екскреції в добовій сечі оксипроліну та кератансульфатів (ГАГ<sub>III</sub>). Одержані значення вводять у формулу:  $ISK = 0,755 - 0,0044 \times \text{оксипролін (мг/л доб)} + 0,025 \times \text{ГАГ}_{III}$  (ум. од), де ISK - індекс стабільності колагену, 0,755, 0,0044, 0,025 - встановлені в результаті регресійного аналізу коефіцієнти. Прогресування диспластикозалежної патології діагностують при значенні ISK  $0,25 \pm 0,05$ . Винахід дозволяє обґрунтовано проводити превентивну профілактику щодо формування різноманітної диспластикозалежної патології в системі диспансерного нагляду та у системі клінічного моніторингу дитячого населення.

**UA 114022 C2**



Винахід належить до медицини, а саме до педіатрії та шкільної медицини, і може бути використаним для діагностики прогресування диспластикозалежної патології у дітей з синдромом недиференційованої дисплазії сполучної тканини, що дозволить обґрунтовано проводити превентивну профілактику щодо формування різноманітної диспластикозалежної патології в системі диспансерного нагляду та у системі клінічного моніторингу дитячого населення.

Дисплазія сполучної тканини (ДСТ) - генетично детермінований стан, який характеризується дефектами волокнистих структур і основної речовини сполучної тканини, що призводить до розладу гомеостазу на тканинному, органному і системному рівнях у вигляді різних морфофункціональних порушень вісцеральних і локомоторних органів з прогресивним перебігом [Шабалов Н.П. Современное состояние проблемы дисплазий соединительной ткани и значение данной патологии для клинической практики педиатра / Н.П. Шабалов, Н.Н. Шабалова Н.Н. // Педиатрия, журн. им. Сперанского. - 2013. - Т. 94, № 4. - С. 4-9].

Патогенетичні механізми розвитку ДСТ, зокрема її недиференційованої форми (НДСТ), в першу чергу взаємозв'язані із залученням волокнистих структур сполучної тканини, тобто колагенових і еластичних волокон, порушення будови яких може відбуватися на будь-якому етапі формування ДСТ з різних причин [Арсентьев В.Г. Результаты молекулярно-генетического обследования детей с дисплазиями соединительной ткани / В.Г. Арсентьев, М.В. Асеев, В.С. Баранов, Н.П. Шабалов // Педиатрия, журн. им. Сперанского. - 2013. - Т. 94, № 4. - С. 22-27]. Окрім змін колагенових, еластичних фібрил, глікопротеїдів, протеогліканів і фібробластів, в основі яких лежать наслідковані мутації генів, ДСТ морфологічно характеризується змінами структурних білків і білково-вуглеводних комплексів, а також мутаціями генів ферментів і кофакторів до них [Молекулярно-клеточные маркеры дисплазии соединительной ткани / А.Е. Сизикова, А.С. Подъяблонский, Л.А. Дмитриева и др. // Медицина в XXI веке: тенденции и перспективы: матер. III Междунар. научн. Интернет-конф.; Казань, 16 апреля 2014. - Казань. - 2014. - С. 200-203].

Таким чином, діагностику НДСТ проводять на підставі фенотипічних ознак та специфічних диспластичних змін внутрішніх органів, а остаточний діагноз виставляють на підставі визначення оксипроліну, глікозаміногліканів (ГАГ), протеогліканів, хондроїтинсульфатів (ХІС), сіромукоїдів та інших показників обміну колагену [Арсентьев В.Г. Дисплазии соединительной ткани у детей: этиология, классификация, клиника, критерии диагностики, принципы лечения // Детская медицина Северо-Запада. - 2011. - Т. 2. - № 3. - С. 43-52].

Даний спосіб діагностики диспластикозалежної патології у дітей з синдромом недиференційованої дисплазії сполучної тканини є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю і результатом, який може бути досягнутим, тому його вибрано за прототип.

Однак застосування способу орієнтовано лише на діагностику саме синдрому НДСТ та не дає можливості уявити ступінь порушення процесів фібрилогенезу, а, відповідно, і ризику залучення органів та систем у диспластичний процес.

У зв'язку з вищенаведеним, в основу винаходу поставлено задачу створення способу діагностики прогресування диспластикозалежної патології у дітей з синдромом НДСТ, який включає, в тому числі, створення уніфікованого індексу стабільності колагену.

Задачу, яку поставлено в основу винаходу, вирішують тим, що у відомому способі діагностики диспластикозалежної патології у дітей з синдромом НДСТ, який включає визначення оксипроліну та глікозаміногліканів (ГАГ), згідно з винаходом, для діагностики прогресування диспластикозалежної патології визначають рівень екскреції в добовій сечі оксипроліну та кератансульфатів (ГАГ<sub>III</sub>), одержані значення вводять у формулу:  $ISK = 0,755 - 0,0044 \times \text{оксипролін (мг/л доб)} + 0,025 \times \text{ГАГ}_{III} \text{ (ум. од)}$ , де ISK - індекс стабільності колагену, 0,755, 0,0044, 0,025 - встановлені в результаті регресійного аналізу коефіцієнти, і прогресування диспластикозалежної патології діагностують при значенні  $ISK 0,25 \pm 0,05$ .

Технічний ефект винаходу, а саме можливість діагностики прогресування диспластикозалежної патології у дітей з синдромом НДСТ, який включає створення уніфікованого індексу стабільності колагену, обумовлений синергізмом заходів, які заявляються.

Спосіб виконують наступним чином: для діагностики прогресування диспластикозалежної патології визначають рівень екскреції в добовій сечі оксипроліну та ГАГ<sub>III</sub>, одержані значення вводять у формулу:  $ISK = 0,755 - 0,0044 \times \text{оксипролін (мг/л доб)} + 0,025 \times \text{ГАГ}_{III} \text{ (ум. од)}$ , де ISK - індекс стабільності колагену, 0,755, 0,0044, 0,025 - встановлені в результаті регресійного аналізу коефіцієнти. Прогресування диспластикозалежної патології діагностують при значенні  $ISK 0,25 \pm 0,05$ .

Ефективність способу доказана клінічними дослідженнями.

Для визначення найбільш інформативних біохімічних показників обміну колагену для розробки уніфікованого індексу стабільності колагену провели аналіз головних біохімічних маркерів сполучної тканини у 310 дітей із різною виразністю порушень процесів колагеноутворення (групи з ізольованими, поєднаними і генералізованими формами НДСТ) і у

контрольній групі, яку склали 20 умовно здорових дітей відповідного віку. Для порівняння основної і контрольної груп використовували U-критерій Mann-Whitney. З метою порівняння показників біохімічних маркерів сполучної тканини (СТ) в залежності від форми виразності синдрому НДСТ між групами та групою контролю використовували ранговий дисперсійний аналіз Kruskal-Wallis.

Так, при аналізі рівня екскреції оксипроліну в добовій сечі, як головного показника обміну колагену, встановлено, що у дітей з наявністю синдрому НДСТ його рівень значно вище у порівнянні з показниками дітей контрольної групи ( $p < 0,0001$ ). При порівнянні груп дітей з різними формами виразності синдрому НДСТ і контрольною групою відмічені статистично значущі відмінності показників кожної групи з показниками групи контролю ( $N=33,5750$ ;  $p=0,00001$ ), що вказує на специфічність показника екскреції оксипроліну при НДСТ.

Відомо, що одними з головних компонентів сполучної тканини є хондроїтинсульфати (ХІС), які складають основу хрящової, кісткової тканини, рогівки та інших тканин, і відображають стан міжклітинного сполучнотканинного матриксу. При дослідженні і аналізі рівнів ХІС у сироватці крові були встановлені достовірні відмінності підвищення показників ХІС у дітей з різними формами виразності синдрому НДСТ у порівнянні з показниками дітей контрольної групи ( $N=12,36688$ ;  $p=0,0062$ ). Підвищення рівню ХІС у дітей з генералізованими формами НДСТ пояснюється насамперед частотою випадків артропатій ( $r_s=0,93$ ,  $p=0,0001$ ), більш виразних постуральних ( $r_s=0,80$ ,  $p=0,00031$ ) і остеопенічних порушень ( $r_s=0,86$ ,  $p=0,000011$ ) серед дітей цієї групи. Проте, щодо залучення вісцеральних органів у диспластичний процес, серед показників дітей з різними формами виразності синдрому НДСТ встановлена лише тенденція до збільшення рівня ХІС ( $p=0,05$ ). Таким чином, показник ХІС не може бути використаний, як уніфікований в оцінці прогресування порушення функціонального стану сполучної тканини.

Аналіз показників рівня сіромукоїдів-метаболітів СТ, які є показником інтенсивності розпаду глікопротеїнів, показав, що у дітей з наявністю синдрому НДСТ їх вміст у сироватці крові майже у два рази більше, ніж у дітей контрольної групи, що свідчить про підвищену інтенсивність розпаду сполучнотканинного матриксу ( $p < 0,001$ ). Встановлені статистично значущі відмінності між групою дітей з наявністю синдрому НДСТ і контрольною групою дітей ( $N=13,97974$ ;  $p=0,0029$ ) ( $p < 0,001$ ). Серед груп дітей з різними формами синдрому НДСТ має місце підвищення рівня вмісту мукопротеїнів у дітей з генералізованими формами НДСТ ( $p=0,04955$ ). При подальшому аналізі було встановлено, що рівень мукопротеїнів має пряму залежність від ступеня гіпермобільності суглобів ( $r_s=0,72$ ,  $p=0,00028$ ) і наявності (або в анамнезі) гриж різної локалізації ( $r_s=0,78$ ,  $p=0,00001$ ) та птозу вісцеральних органів ( $r_s=0,66$ ,  $p=0,000022$ ). Це пояснюється наявністю глікопротеїнів у структурі еластину, порушення структурно-функціонального стану якого відіграє значну роль у формуванні даних патологічних станів, але сіромукоїди не віддзеркалюють формування нових форм диспластикозалежних станів у цієї групи пацієнтів.

Будова матриксу сполучної тканини, еластичних волокон, які забезпечують адекватну функцію органів в умовах зросту, визначається суттєвою роллю протеогліканів сполучної тканини. Відомо, що з віком знижується кількість протеогліканів, тоді як кількість ГАГ, які є їх основною складовою, збільшується. Аналіз результатів дослідження показав, що у дітей з синдромом НДСТ даний процес має певні особливості, які полягають у зменшенні з віком протеогліканів на тлі одночасних якісних змін різних фракцій ГАГ: збільшується відносний вміст хондроїтин-6 і -4 сульфатів ( $\text{ГАГ}_I$  і  $\text{ГАГ}_{II}$ ) і достовірно знижується рівень кератансульфатів ( $\text{ГАГ}_{III}$ ), що в свою чергу призводить до переважання рівня протеогліканів над рівнем ГАГ навіть у 17-річному віці. А достовірне зниження  $\text{ГАГ}_{III}$  у дітей з НДСТ відображає клінічну прогресивність перебігу диспластичного синдрому. Встановлено, що саме зниження рівня  $\text{ГАГ}_{III}$  має достовірно значущі відмінності від ступеня виразності і залучення органів і систем у диспластичний процес. Окрім достовірної відмінності вмісту  $\text{ГАГ}_{III}$  серед груп дітей з наявністю синдрому НДСТ і умовно здорових ( $p < 0,001$ ) встановлені статистично значущі відмінності у дітей з генералізованою формою НДСТ у порівнянні з групами дітей, які мають менш виразний ступінь залучення органів і систем у диспластичний процес (KW;  $N=11,527087$ ,  $p < 0,0001$ ).

Таким чином, аналіз біохімічних маркерів колагеноутворення дозволяє з високим ступенем вірогідності стверджувати ( $P > 0,99$  %), що найбільшу специфічність в оцінці прогресування порушень процесів колагеноутворення і ступеня виразності синдрому НДСТ мають рівень екскреції оксипроліну і вміст  $\text{ГАГ}_{III}$  у сироватці крові.

Динамічне довготривале спостереження (протягом 5 років) за дітьми з різними формами виразності синдрому НДСТ з визначенням рівнів оксипроліну і ГАГ<sub>III</sub> під час загострення і відносної клінічної ремісії диспластикозалежної патології дозволило встановити пряму залежність змін біохімічних маркерів сполучної тканини від ступеня виразності та активності диспластичного процесу.

Для мінімізації інвазивних втручань рівень оксипроліну та ГАГ<sub>III</sub> визначали за показником екскреції у добовій сечі, враховуючи, що їх екскреція збільшується пропорційно зменшенню їх рівня у сироватці крові.

Достовірно встановлено, що у дітей з синдромом НДСТ під час загострення диспластикозалежної патології, не залежно від нозологічної форми, відмічаються суттєві зміни показників обміну колагену ( $p < 0,05$ ). Так, збільшення рівня оксипроліну відбувається за експонентою, а високий ступінь апроксимації показників не залежно від групи, вказує на високу інформативність показника екскреції оксипроліну при загостренні і/або розвитку диспластикозалежної патології та універсальності цих змін серед всієї групи дітей з синдромом НДСТ.

Встановлені відмінності екскреції ГАГ у дітей під час загострення або маніфестації диспластикозалежної патології стосуються не тільки їх рівня, а й фракційного складу. У дітей з синдромом НДСТ в  $(65,3 \pm 2,0)$  % випадків встановлено збільшення рівня дерматансульфатів у середньому до  $(12,2 \pm 0,5)$  ммоль/л за добу і в  $(72,2 \pm 2,3)$  % - збільшення рівня кератансульфатів до  $(12,6 \pm 1,4)$  ммоль/л за добу, що відповідає зменшенню ГАГ<sub>III</sub> у сироватці крові. Найбільш суттєві зміни показника екскреції кератансульфатів (ГАГ<sub>III</sub>) (в середньому у 3,5 разу) встановлені в групі дітей з маніфестацією клінічної симптоматики диспластикозалежної патології та у дітей з загостренням соматичної диспластикозалежної патології ( $(14,2 \pm 1,6)$  і  $(8,2 \pm 1,1)$  ммоль/л за добу відповідно ( $p < 0,05$ )).

Встановлена залежність рівня кератансульфатів від ступеня активності диспластичного процесу ( $r_s = 0,89$ ) дозволяє використовувати даний показник як оцінки ступеня виразності синдрому НДСТ і прогнозування ризику формування і/або загострення диспластикозалежної патології у дітей.

На підставі здобутих результатів із урахуванням інформаційної значущості показників оксипроліну (показник розпаду колагену) і ГАГ<sub>III</sub> (показник рівня синтезу колагену) на підставі регресійного аналізу розроблено уніфікований індекс стабільності колагену, який вказує на критичний рівень порушення колагеноутворення, при якому відбувається розвиток диспластикозалежної патології у дитини з синдромом НДСТ (табл.).

Таблиця

Результати регресійного аналізу прогнозування ризику розвитку диспластикозалежної патології за даними біохімічних маркерів (оксипролін і ГАГ<sub>III</sub>)

Складові регресії	Коефіцієнт	P
Інформативність ( $R^2$ ), значимість (p)	0,851	0,000001
Критерій Фішера (F)	21,200432	0,001
Інкремент індексу	0,7555345	0,000001
Оксипролін (мг/л доб)	-0,0044112	0,000001
ГАГ <sub>III</sub> (ум.од.)	0,025533	0,000057

Індекс стабільності колагену (ІСК) відображає відносну стабільність диспластичного процесу, тобто низький ризик розвитку диспластикозалежної патології з боку нових органів і систем на момент визначення біохімічних маркерів сполучної тканини (ІСК наближається до 1) або межу активності диспластичного процесу - високий ризик розвитку диспластикозалежної патології у дітей з синдромом НДСТ (ІСК наближається до 0) і виглядає:

$$ІСК = 0,755 - 0,0044 \times \text{оксипролін (мг/л доб)} + 0,025 \times \text{ГАГ}_{III} \text{ (ум.од.)}.$$

Інкремент індексу відображає співвідношення процесів розпаду та утворення колагену, при якому відбувається адекватне формування сполучної тканини. Коефіцієнти для біохімічних показників (оксипроліну та ГАГ<sub>III</sub>) визначені із урахуванням попередніх досліджень та є критичними рівнями відповідних показників щодо адекватного функціонального стану сполучної тканини.

Для дітей із синдромом НДСТ значення ІСК, при якому відбувається розвиток диспластикозалежної патології, дорівнює  $0,25 \pm 0,05$  [95 %], довірчий інтервал складає  $0,21 - 0,30$ . При сприятливому результаті середнє значення коефіцієнта дорівнює  $0,75 \pm 0,05$  [95 %],

довірчий інтервал складає 0,70-0,81. Рівень коефіцієнта детермінації моделі ( $R^2=0,851$ ) при рівні значимості ( $p<0,001$ ) вказує на те, що модель інформативна і статистично значима, а вірогідність помилки за критерієм Фішера менш ніж 5 %.

Ефективність способу пояснює наступний приклад.

5      Приклад 1. Дар'я С., 9 років. Дитина направлена у міський лікувально-діагностичний центр метаболічних захворювань кісткової тканини для обстеження з діагнозом: порушення постави, грудний кіфоз, дисгармонійний фізичний розвиток з прискоренням темпів зросту.

10      Дитина скаржиться на появу хрускотіння і дискомфорту в суглобах, які посилилися після прийому препаратів кальцію. При огляді за фенотипічними ознаками було встановлено наявність у дитини синдрому НДСТ.

При проведенні біохімічного дослідження дитини встановлено: оксипролін 115,8 мг/л за добу, ГАГ<sub>загальні</sub> 8,7 ум.од. Їх фракційний склад ГАГ<sub>I</sub>-4,4; ГАГ<sub>II</sub>-3,2; ГАГ<sub>III</sub>-1,1; ХІС-0,386 ум.од. Індекс стабільності колагену ІСК=0,273, що відповідає високому ризику розвитку диспластикозалежної патології.

15      Батьки дівчинки відмовилися (за соціально-економічним становищем) від превентивної профілактики розвитку диспластикозалежної патології. Протягом 3 місяців у дитини погіршилась гострота зору (від +1,5 до +2,5 на обох очах), посилювався біль у суглобах, з'явилися скарги на нудоту, відрижку, болі у епігастральній ділянці. При проведенні фіброгастроскопії діагностовано гастроезофагеальний рефлюкс. При оцінці біохімічних показників та визначення ІСК=0,178.

20      З урахуванням погіршення стану дитини та показника ІСК обґрунтовано і розроблено терапевтичну схему корекції препаратами, що спрямовані на стабілізацію колагену і корекцію синтезу та катаболізму глікозаміногліканів (протягом 1 місяця).

25      При проведенні повторного обстеження через 1 місяць після проведеної терапії стан дитини покращився: біль та дискомфорт у суглобах ліквідовано, скарг з боку травної системи не відмічалось, гострота зору залишилася на тому ж рівні (+2,5 на обох очах). ІСК=0,79, що дозволило закінчити терапевтичну корекцію порушень фібрилогенезу.

30      Використання розробленого способу діагностики прогресування порушення фібрилогенезу щодо ризику розвитку диспластикозалежної патології у дітей в практиці охорони здоров'я сприятиме індивідуалізації визначення об'єму і патогенетично обумовленої форми лікувально-профілактичних заходів, які позитивно впливають на процеси колагеноутворення шляхом призначення засобів стимулювання і покращення стабільності відповідних структур, що суттєво покращить якість життя дітей з синдромом НДСТ та мінімізує витрати пацієнтів на лабораторне обстеження.

## 35      ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб діагностики диспластикозалежної патології у дітей з синдромом недиференційованої дисплазії сполучної тканини, який включає визначення оксипроліну та глікозаміногліканів, який **відрізняється** тим, що для діагностики прогресування диспластикозалежної патології визначають рівень екскреції в добовій сечі оксипроліну та кератансульфатів (ГАГ<sub>III</sub>), одержані значення вводять у формулу:  $ІСК=0,755-0,0044 \times \text{оксипролін (мг/л доб)} + 0,025 \times \text{ГАГ}_{III} \text{ (ум. од.)}$ , де ІСК - індекс стабільності колагену, 0,755, 0,0044, 0,025 - встановлені в результаті регресійного аналізу коефіцієнти, і прогресування диспластикозалежної патології діагностують при значенні ІСК  $0,25 \pm 0,05$ .

45

---

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601