



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **78296**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/48** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 11469**

(22) Дата подання заявки: **04.10.2012**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **11.03.2013**

(46) Публікація відомостей **11.03.2013, Бюл.№ 5**  
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Лоскутова Ірина Володимирівна (UA),  
Рудой Борис Сергійович (UA)**

(73) Власник(и):

**Лоскутова Ірина Володимирівна,  
кв. 50-річчя Оборони Луганська, 5, кв. 10, м.  
Луганськ, 91045 (UA),  
Рудой Борис Сергійович,  
кв. Шевченка, 1/2, кв. 48, м. Луганськ, 91033  
(UA)**

## (54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО ОСТЕОПОРОЗУ У ХВОРИХ ІЗ ПЕРЕЛОМАМИ ПРОКСИМАЛЬНОГО ВІДДІЛУ СТЕГНА З ОЖИРІННЯМ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування імобілізаційного остеопорозу у хворих із переломами проксимального відділу стегна з ожирінням шляхом проведення аналізу крові з подальшою інтерпретацією отриманих результатів. Додатково вивчають імунологічні показники у сироватці крові.

**UA 78296 U**



Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до способів діагностики та профілактики внутрішніх хвороб.

Актуальність корисної моделі пов'язана з процесом ремоделювання кісткової тканини в осіб з тривалою іммобілізацією з приводу переломів трубчатих кісток, що може викликати поступове зменшення мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ). На фоні зниженої рухомості розвивається остеопороз, причому причинами є зменшення остеобластів із зменшенням їх функціональної активності, порушення кровообігу у кістках та м'язах, а також гіперкальціємія. Кісткові трабекули, які зберігаються при остеопорозі, несуть підвищене функціональне навантаження, що змінює їх метаболізм (Корж Н.А. Факторы риска остеопороза // Международный медицинский журнал.-2007. -№ 2. -С. 70-74). Активація остеобластів відбувається як результат синтезу IL-1 $\beta$  та TNF $\alpha$  завдяки секреції активатора ліганду NF- $\kappa$ B клітинами Th1 типу. Гальмування остеокластогенезу та активність остеокластів відбувається за допомогою IL-4 та TL-10, які інгібують секрецію прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$  та TNF $\alpha$ ) макрофагами (Еликов А.В. Особенности метаболизма у больных с переломами костей голени и бедра в зависимости от срока иммобилизации // Клиническая лабораторная диагностика.-2012.- № 1 - С. 6-8).

Патолофізіологічні аспекти ожиріння (Ож) ініціюють і системні порушення. Доведено, що у хворих із ожирінням частіше реєструються переломи трубчатих кісток. З іншого боку у хворих із переломами трубчатих кісток відмічався неадекватний контроль толерантності до глюкози (Кочеткова Е.А., Соловьева А.С. Метаболический синдром и его влияние на костное ремоделирование // Клиническая медицина. -2006. -№ 3. -С. 44-48).

Існує спосіб прогнозування формування остеопенічного синдрому при тривалій іммобілізації з приводу переломів проксимального відділу стегна із визначенням МЩКТ за допомогою маркерів резорбції та формування кісток (Поворознюк В.В., Григор'єва Н.В. Менопауза та остеопороз. -К., 2002. -С. 278-290). Однак при даному способі відбувається діагностика вже сформованого остеопорозу, тобто спосіб недостатньо точний.

Для підвищення ефективності існуючого способу пропонується підраховувати дані лабораторних маркерів метаболізму кісткової тканини - концентрація основних макроелементів, активність кісткових ізоферментів лужної фосфатази (Трифонов Е.Б., Осипенко А.В. Биохимическая диагностика иммобилизационного остеопороза // Клиническая лабораторная диагностика. -2009. -№ 1. -С. 3-5). Однак даний метод не приймає до уваги саме стан імунної системи.

До недоліків прототипу належить те, що не враховується оцінка стану цитокінової продукції та фагоцитарної активності моноцитів (ФАМ) у хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні ожиріння.

Для реалізації задачі корисної моделі пропонується досліджувати при аналізі крові параметри: загальний рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), показники ФАМ, концентрацію прозапальних (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) та протизапального (IL-4) цитокінів у сироватці крові. При концентрації ЦІК 3,2 г/л та більш, ФІ - 16 % і менше, ІП - 10 % і менше, індекс TNF $\alpha$ /IL-4-2 і більше, а також IL-1 $\beta$ /IL-4-3 і більше з вірогідністю 82,1 $\pm$ 1,5 % прогнозувати розвиток іммобілізаційного остеопорозу.

При розробці корисної моделі авторами була вивчена низка імунологічних та біохімічних показників - рівень клітинних (кількість Т-, В-клітин, Т-хелперів та Т-супресорів, показники ФАМ (ФІ, ФЧ, ІА та ІП) та гуморальних тестів (концентрацію циркулюючих імунних комплексів та їх молекулярний склад, вміст цитокінів у сироватці - TNF $\alpha$  IL-1 $\beta$ , 4, а також рівень макроелементів Са та F у сироватці крові. Ці дані порівнювались у двох групах хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож - перша з наявністю (31 осіб) та другої - відсутністю (56 осіб) іммобілізаційного остеопорозу в динаміці. Таким чином, вивчення лабораторних показників було проведено в другій групі обстежених, ще до клінічно розвинутого остеопорозу. При цьому встановлено, що існує вірогідна різниця між імунологічними показниками груп хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож, в яких потім розвинувся іммобілізаційний остеопороз (перша група) та не діагностовано остеопенічного синдрому (друга група). Дані імунологічного обстеження хворих, які були під наглядом, узагальнені в таблицях 1 (стосовно клітинних показників імунітету) і 2 (показників гуморальної ланки імунітету, концентрації цитокінів та рівня макроелементів у сироватці крові).

Таблиця 1

Показники клітинного імунітету у хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож в обстежених (M±m)

Імунологічні показники	Норма	Групи обстежених		Р
		Перша (n=31)	Друга (n=56)	
CD3 <sup>+</sup> , % Г/л	75,5±1,7 1,4±0,03	48,3±2,2*** 0,77±0,03***	56,1±1,6** 0,95±0,03**	=0,05 =0,05
CD4 <sup>+</sup> , % Г/л	45,3±1,3 0,85±0,02	30,2±1,6*** 1,4±0,03*	38,3±1,2* 0,65±0,02	<0,05 <0,01
CD8 <sup>+</sup> , % Г/л	22,1±0,7 0,42±0,01	22,2±0,9 0,35±0,03	21,8±0,8 0,37±0,03	>0,1 >0,1
CD4/CD8	2,05±0,06	1,36±0,02	1,76±0,03	>0,05
CD22 <sup>+</sup> % Г/л	17,8±0,8 33±0,01	21,6±1,8 0,34±0,04	20,3±1,5 0,34±0,05	>0,1 >0,1
ФАМ: Ф1	28,8±1,8	12,4±1,2***	19,2±1,5**	<0,05
ФЧ	4,1±0,3	1,1±0,12***	2,5±0,22**	<0,05
ІА	17,6±1,2	8,3±0,3***	12,2±0,25*	<0,05
ІП	26,3±1,3	8,5±0,25***	19,6±0,4**	<0,01

Примітка: в табл... 1 і 2, Р - показник вірогідної різниці між першою і другою групами.

- 3 таблиці 1 та 2 слідує, що між вказаними групами має місце вірогідна різниця за такими параметрами: кількісний рівень CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> лімфоцитів, коефіцієнт CD4/CD8, показники фагоцитарної активності моноцитів (ФАМ) - фагоцитарний індекс (ФІ), фагоцитарне число (ФЧ), індекс атракції (ІА) та індекс перетравлення (ІП), загальний рівень ЦІК, вмісту прозапальних (TNFα, IL-1β та протизапальних (IL-4) цитокінів, рівень макроелементів (Са та F) у крові.

Таблиця 2

Показники ЦІК, цитокінів та макроелементів у сироватці крові в обстежених хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож (M±m)

Імунологічні показники	Норма	Групи обстежених		Р
		Перша (n=31)	Друга (n=56)	
ЦІК заг., г/л	1,88±0,09	4,28±0,15***	3,12±0,15**	<0,05
великомолекулярні, % г/л	47,2±1,9 0,89±0,05	22,6±0,15** 0,97±0,06	29,3±1,8** 0,91±0,06	>0,05 >0,01
середньомолекулярні, % г/л	31,3±1,2 0,59±0,04	43,6±2,9** 1,87±0,08***	41,9±2,5** 1,31±0,08***	>0,05 <0,05
дрібномолекулярні, % г/л	21,5±0,9 0,4±0,03	33,8±2,5*** 1,44±0,09***	28,8±1,0** 0,9±0,03***	>0,05 <0,05
IL-1β, пг/мл	18,2±0,6	72,3±1,2**	33,0±0,4	<0,05
TNFα, пг/мл	15,6±0,35	28,6±1,3**	21,2±1,2*	<0,01
IL-4, пг/мл	14,25±0,5	21,36±0,09	20,28±0,2	>0,05
TNFα/IL-4	1,28±0,12	2,45±0,9*	1,43±0,2*	<0,05
IL-1β/IL-4	1,09±0,3	3,38±0,7*	1,63±0,7	<0,05
Са, ммоль/л	2,3±0,2	2,12±0,15	2,16±0,18	>0,01
F, ммоль/л	1,1±0,4	1,04±0,01	1,3±0,2	>0,05

- 10 Для виявлення найбільш суттєвих показників, які відрізняються у цих двох групах обстежених хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож, було застосовано математичний аналіз з застосуванням сучасних комп'ютерних технологій. Кожен обстежений хворий обох груп був математично описаний 29 ознаками, які переважно характеризують імунний статус пацієнта. При цьому, якщо у хворого мала місце та чи інша з вказаних ознак,

вона була визначена як 1, якщо ознака була відсутня - 0. Отже, в результаті обрахування чисельних даних будували дві бінарні таблиці для класів ознак A1 та A2, після чого починали оцінювати значущість різниць. З початку виділяли ті ознаки, різниця між якими є статистично значуща. З цією метою було використано точний метод Фішера, оскільки критерій Фішера може

- 5 бути пристосований для даних, які представлені двома градаціями (1 або 0, тобто "так" чи "ні").  
При використанні точного методу Фішера нами за допомогою комп'ютера була збудована таблиця для кожної з вивчених ознак:

Класи	Ознака (+)	Ознака (-)
A1	a	B
A2	c	D

- 10 В цієї таблиці: a - кількість значень з класу A1, в яких ознака спостерігалась з класу A1, в яких ознак спостерігалась, b - кількість значень з класу A1, в яких ознака була відсутня. Для класу A2 c - кількість значень з позитивною ознакою, d - з негативною, тобто з її відсутністю. В подальшому підраховували імовірність прийняття невірної гіпотези для кожної з ознак. Розрахунок проводили за таблицями факторіалів; для оцінки наскільки різниться розподіл
- 15 ознак, здійснювали міру інформативності Кульбака за формулою:

$$P(x_i / A1)$$

$$J(x_i) = 10 \times \lg x_{0,5} [P(x_i / A1) - P(x_i / A2)]$$

$$P(x_i / A2)$$

- Отримані нами дані при підрахуванні результатів лабораторного обстеження хворих обох
- 20 груп узагальнені в таблиці 3 як фактори ризику виникнення іммобілізаційного остеопорозу у хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож. При цьому із 20 вивчених показників значущими в плані прогнозування розвитку запальних ускладнень виявились лише 13, які і представлені в таблиці. З них найбільш висока міра Кульбака була у трьох показниках: загальному рівні ЦІК 3,0 г/л та більш, значення ФІ 16 % і менше, ІП -10 % і менше, індекс
- 25  $TNF\alpha/IL-4 > 2$ ,  $IL-1\beta/IL-4 > 3$ , які мали міру Кульбака відповідно 0,7236, 0,6829, 0,6225, 0,7228 та 0,7115. Оці лабораторні показники і виділені як найбільш значущі при прогнозуванні розвитку іммобілізаційного остеопорозу у хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож.

- Виходячи з вищевикладеного, технічно спосіб здійснюється таким чином: у хворого із
- 30 переломом проксимального відділу стегна на фоні Ож беруть кров з вени, з якої виділяють сироватку для вивчення концентрації ЦІК, показників ФАМ, а також сироваткові цитокіни для дослідження.

Таблиця 3

Фактори ризику іммобілізаційного остеопорозу  
у хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож

№№ класу ознак	Фактори ризику ускладнень		Міра Кульбака
A 1	CD3+<50	%	0,6843
A 2	CD4+<32		0,6457
A 3	CD4/CD8<1,35		0,6236
A 4	ФІ<12		0,6829
A 5	ФЧ<2		0,6123
A 6	ІА<8		0,5892
A 7	ІП<10		0,6225
A 8	ЦІК>4,0	г/л	0,7056
A 9	Середньомолекулярні ІК>1,5	г/л	0,7123
A 10	Дрібномолекулярні ІК>1,0	г/л	0,6818
A 11	$TNF\alpha/IL-4 > 2$		0,7228
A 12	$IL-1\beta/IL-4 > 3,0$		0,7115
A 13	СМ>2,8	г/л	0,7236

Концентрацію ЦІК та показники ФАМ вивчають за допомогою загальноприйнятих методів (ЦІК - Фролов В.М., Рычнев В.Е. Исследование циркулирующих иммунных комплексов их диагностическое и прогностическое значение // Лаборат. дело.-1986. -№ 3. -С. 159-161; для ФАМ - Фролов В.М. Определение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у больных / В.М. Фролов, Н.А. Пересадин, Л.А. Гаврилова // Лаборат. дело. -1989. -№ 6. -С. 116-118). Вивчення цитокінів у слині проводять за допомогою імуноферментного аналізу з використанням реагенти виробництва "ProCon" ("Протеиновый контур"; СПб).

Для підтвердження заявленого способу прогнозування розвитку іммобілізаційного остеопорозу хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож обстежено паралельно за допомогою існуючого та заявленого способу 67 хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож, з яких у 31 потім розвинувся іммобілізаційний остеопороз, а у 36 вони були відсутні. Отримані дані в залежності від результатів прогнозування - позитивних або негативних згруповані у таблиці 4.

Таблица 4

Інформативність існуючого способу-прототипу  
та заявленого способу прогнозування розвитку іммобілізаційного остеопорозу у хворих із  
переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож ( $M \pm m$ )

Обстежені групи хворих	Збіг прогнозу		Відсутність збігу прогнозу	
	Існуючий спосіб	Заявлений спосіб	Існуючий спосіб	Заявлений спосіб
З наявністю рецидиву (n=31)	19 61,3±1,5	27 87,1±1,8	12 38,7±2,1	4 12,9±1,2
З відсутністю рецидиву (n=36)	16 44,4±2,2	28 77,8±2,0	20 55,6±2,3	8 22,2±1,1
Усі обстежені (n=67)	35 52,2±2,0	55 82,1±1,8	32 47,8±1,2	12 17,9±0,8
P	<0,01		<0,01	

З таблиці видно, що використання існуючого способу-прототипу в групі хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож, в яких розвинувся іммобілізаційний остеопороз обумовлює збіг прогнозу в 61,3±1,5 %, тоді як в 38,7±2,1 %, згідно з прогнозом, не було (помилково негативні результати прогнозу). Використання заявленого способу в 87,1±1,8 % випадків, відсутність збігу (помилково негативні результати) в 12,9±1,2 % випадків.

В групі хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож з відсутністю іммобілізаційного остеопорозу використання існуючого способу обумовлює збіг прогнозу в 44,4±2,2 % випадків, тоді як заявлений спосіб - 77,8±2,0 % ( $P < 0,01$ ). Відсутність збігу прогнозу, тобто помилково позитивні результати відмічено у 55,6±2,3 % хворих при застосуванні існуючого способу-прототипу і тільки у 22,2±1,1 % при використанні заявленого способу.

Сумарно серед усіх обстежених збіг прогнозу при використанні існуючого способу склав 52,2±3,0 %, заявленого - 82,1±1,8 % ( $P < 0,01$ ). Відсутність збігу прогнозу, тобто помилково позитивні результати відмічено у 47,8±1,2 % хворих при застосуванні існуючого способу-прототипу і тільки у 17,9±0,8 % при використанні заявленого способу, тобто в 2,67 рази рідше.

Отже, проведені порівняльні обстеження свідчать, що заявлений спосіб має переваги у порівнянні зі способом прототипом, які полягають в більшій інформативності заявленого способу, яка досягає до 82,1±1,8 %.

Використання заявленого способу буде сприяти сучасному призначенню профілактичного лікування хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож, таким чином, зменшенню кількості іммобілізаційного остеопорозу.

Наводимо конкретний приклад використання заявленого методу.

Хворий С., 42 роки, приватний підприємець.

Діагноз: Проксимальний перелом стегна. Ожиріння III ступеня.

Для прогнозування можливості розвитку іммобілізаційного остеопорозу призначено додаткове обстеження хворого. Отримані результати: концентрація ЦІК у сироватці крові 3,8 г/л, ФІ-15 %, ФЧ-3, ІА-10 %, ІП-11 %, рівень цитокінів у сироватці крові:  $\text{TNF}\alpha$ -48,4 пг/мл,  $\text{IL-1}\beta$ -68,4 пг/мл;  $\text{IL-4}$ -20,4 пг/мл ( $\text{TNF}\alpha/\text{IL-4}$ -2,37;  $\text{IL-1}\beta/\text{IL-4}$ -3,35). Отже, виходячи з даних лабораторного обстеження, прогнозовано розвиток іммобілізаційного остеопорозу у хворого. Дійсно, через три місяці після обстеження в нього за даними вимірювання МЩКТ діагностовано регіональний остеопороз, що потребувало проведення спеціального лікування.

- Таким чином, наведені дані свідчать про ефективність заявленого способу оцінки ефективності лікування іммобілізаційного остеопорозу у хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож за допомогою проведення імунологічного дослідження маркерів кісткової резорбції та кісткоутворення поряд з визначенням макроелементів. Проведення вказаних аналізів можливо в умовах клініко-діагностичних лабораторій, тому може пропонуватися для клінічної практики травматологічних та ортопедичних відділень і поліклінік.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб прогнозування іммобілізаційного остеопорозу у хворих із переломами проксимального відділу стегна з ожирінням шляхом проведення аналізу крові з подальшою інтерпретацією отриманих результатів, який **відрізняється** тим, що додатково вивчають імунологічні показники у сироватці крові.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вивчають концентрацію у сироватці крові циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та показників фагоцитарної активності моноцитів (ФАМ), а також цитокіни у сироватці крові і при рівні ЦІК 3,0 г/л та більш, ФІ ФАМ - 16 % і менше, ІП ФАМ - 10 % та менше, значеннях індексу  $TNF\alpha/IL-4-2,0$  і більш, індексу  $IL-1\beta/IL-4-3$  і вище з вірогідністю  $82,1\pm 1,5$  % прогнозують розвиток іммобілізаційного остеопорозу у хворих із переломами проксимального відділу стегна на фоні Ож.

---

Комп'ютерна верстка Л.Литвиненко

---

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

---

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