



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 53524

(13) A

(51) 7 G01N33/53

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ Виявлення підвиду цукрового діабету 1 типу зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів у дітей

1

2

(21) 2002075667

(22) 09 07 2002

(24) 15 01 2003

(46) 15 01 2003, Бюл. № 1, 2003 р.

(72) Малиновська Тетяна Миколаївна, Афанасьєва Валентина Васильовна, Грузов Михайло Андрійович, Большова-Зубковська Олена Васильовна, Зак Константин Петрович

(73) ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН ІМ. В. П. КОМІСАРЕНКА АКАДЕМІЇ МЕ-

ДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб виявлення підвиду цукрового діабету 1 типу зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів у дітей, що включає аналіз біологічної рідини, який відрізняється тим, що в периферичній крові виявляють великі грануловмісні лімфоцити і при зниженні їх абсолютної кількості більше як на 50% відносно норми діагностують даний підвид цукрового діабету 1 типу

Винахід відноситься до медицини, а саме до ендокринології та може бути застосований для виявлення підвиду цукрового діабету 1 типу (ЦД-1) зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів (ПК-клітин) у дітей.

Відомі способи виявлення порушень вуглеводного обміну шляхом біохімічного дослідження крові, сечі (Ефимов А.С., Скробонская Н.А. Клиническая диабетология — Киев — С. 143 - 151).

Однак за допомогою цих способів не можливо виявити підвид ЦД-1 зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів.

Також відомий і спосіб виявлення аутоімунної форми ЦД шляхом визначення аутоантитіл до специфічних бета-клітинних антигенів: декарбоксилази глютамінової кислоти (GADA), протеїну тирозин фосфатази -2 (IA-2A), інсуліну (IAA) та цитоплазми острівцевих клітин (ICA) (Lindberg B., Ivarsson S.-A., Landin-Olsson M. et al. Islet-autoantibodies in cord blood from children who developed Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus before 15 years of age // Diabetologia — 1999 — 42 — Р. 181 - 187).

Даний спосіб дозволяє виявити аутоімунну форму ЦД і не виявляє даного підвиду ЦД-1 зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів.

За прототип взятий спосіб діагностики ЦД - диференційної діагностики інсулінзалежного і інсуліннезалежного ЦД шляхом визначення в сечі одночасно цукру та органічних кислот і переводом їх в триметилсилільні похідні та газохроматографічним розділенням на капілярних колонках і по сумі

всіх сполучень, а також по % співвідношенню піро-виноградної, винної, лимонної кислот та глюкози установлюють тип ЦД (Пат. № 2104537, РФ, МПК6 G01N 33/53, 1998).

Цей спосіб дозволяє установити тип ЦД, однак не виявляє підвид ЦД-1 зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів, що не дає змоги призначити адекватне лікування.

В основу даного винаходу поставлена задача розробити такий спосіб виявлення підвиду цукрового діабету 1 типу зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів у дітей, в якому б шляхом виявлення вмісту великих грануловмісних лімфоцитів крові (ВГЛ) був виявлений підвид даного типу ЦД-1 та на основі цього призначена адекватна лікувальна терапія. Спосіб простий за виконанням та доступний для будь-якої клінічної лабораторії.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі виявлення підвиду цукрового діабету 1 типу зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів у дітей, який включає аналіз біологічної рідини, відповідно винаходу, в периферичній крові виявляють великі грануловмісні лімфоцити і при зниженні їх абсолютної кількості більше як на 50% відносно норми діагностують даний підвид цукрового діабету 1 типу.

До даного рішення автори прийшли вивчаючи наявність у хворих дітей ЦД-1 та їх батьків, хворих на цукровий діабет 1 типу абсолютної кількості ПК-клітин (CD56⁺-клітин) та ВГЛ в крові. Оскільки ВГЛ являються морфологічним гомологом ПК-клітин то і їх визначення в крові віддзеркалює стан системи

(13) A

(11) 53524

(19) UA

ПК-клітин у людини

При дослідженні було встановлено, що абсолютна кількість ПК-клітин (CD56⁺-клітин) та ВГЛ в крові, як дітей так і батьків з первинним ЦД-1 були нижчими на 50%, ніж у здорових. Це дозволяє стверджувати, що таке порушення системи ПК-клітин являється генетично обумовленим і спадкується дітьми. А оскільки для визначення ПК-клітин (CD56⁺-клітин) потрібна складна методика та обладнання і реактиви які дорого коштують, то автори пропонують визначати даний підвид ЦД-1 за допомогою визначення гомологів ПК-клітин - ВГЛ. На основі цього і розроблений спосіб виявлення даного підвиду ЦД-1.

Спосіб здійснюється наступним чином

У дітей, хворих на ЦД-1 беруть кров натще із вени, в кількості 5мл та визначають кількість лейкоцитів та лейкоцитарну формулу (на 200 клітин в мазках, пофарбованих за Май-Грюнвальд-Романовским на фосфатному буфері, рН 6,85), з окремим диференціюванням ВГЛ, які є морфологічним гомологом ПК-клітин. Абсолютна кількість ВГЛ в периферичній крові здорової дорослої людини в середньому дорівнює $0,25 \pm 0,04 \cdot 10^9/\text{л}$. У практично здорових дітей та підлітків - $0,20 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$.

Якщо у дитини хворої на цукровий діабет 1 типу та у одного з батьків також хворого на цукровий діабет 1 типу відмічається стабільно виражене зниження вмісту ВГЛ в периферичній крові в порівнянні з нормою, то такого хворого слід віднести до підвиду ЦД-1 зі спадковим зниженням ПК-клітин. Такий дитині крім інсулінотерапії призначають коригуючу терапію.

Приклад № 1

Хворий К, хлопчик 13 років. Захворів на ЦД-1 у березні 1997 р. Початок захворювання типовий. В сім'ї хворіє на ЦД-1 батько. При огляді встановлено, шкіра рожевого кольору, нормальної вологості, без трофічних змін, погане береться у попереку складку на передпліччі. Частота серцебиття 88 уд/хв, артеріальний тиск 110/70 мм рт.ст. Внутрішні органи без суттєвих змін, супутньої патології не виявлено. Дані лабораторних досліджень КПС

- форма капілярів вкорочена, значне порушення проникливості, мікроангіопатія I-II ступеню. РВГ - без суттєвих змін. Дані глікемії натще $9,7 \text{ ммоль/л}$, на протязі доби до $13,6 - 15,8 \text{ ммоль/л}$. Рівень глюкозуриї - $36,2 \text{ г/л}$, ацетон не визначається. Рівень глікозильованого гемоглобіну - $9,8\%$. Рівень С-пептиду - $0,23 \text{ нг/л}$. Призначено інсулін фірми "Lilly" (R і H) у дозі $0,34 \text{ ОД/кг/доб}$.

Проведено визначення ВГЛ за способом, що пропонують автори. Вміст ВГЛ в периферичній крові - $0,04 \times 10^9/\text{л}$, що більше ніж на 50% нижче за норму.

Заключний діагноз. Цукровий діабет 1 типу зі спадковим зниженням природних клітин-кілерів, стадія субкомпенсації. Мікроангіопатія I-II ступеня.

Призначено лікування згідно діагнозу.

Приклад № 2

Хворий Е, дівчинка 10 років. Захворіла на ЦД-1 у липні 1996 р. Початок захворювання типовий. В сім'ї хворих на ЦД-1 не має. При огляді встановлено, шкіра рожевого кольору, нормальної вологості, без трофічних змін, добре береться у попереку складку на передпліччі. Частота серцебиття 80 уд/хв, артеріальний тиск 100/50 мм рт.ст. Внутрішні органи без суттєвих змін, супутньої патології не виявлено. Дані лабораторних досліджень КПС - форма капілярів не змінена, помірне порушення проникливості, мікроангіопатія I ступеню. РВГ - без суттєвих змін. Дані глікемії натще $7,7 \text{ ммоль/л}$, на протязі доби до $9,2 - 10,8 \text{ ммоль/л}$. Рівень глюкозуриї - $16,2 \text{ г/л}$, ацетон не визначається. Рівень глікозильованого гемоглобіну - $7,1\%$. Рівень С-пептиду - $0,51 \text{ нг/л}$. Призначено інсулін фірми "Lilly" (R і H) у дозі $0,10 \text{ ОД/кг/доб}$.

Проведено визначення ВГЛ за способом, що пропонують автори. Вміст ВГЛ в периферичній крові - $0,16 \times 10^9/\text{л}$, що близько норми.

Заключний діагноз. Цукровий діабет 1 типу, стадія субкомпенсації. Мікроангіопатія I ступеня.

Таким чином, спосіб, що пропонують автори простий у виконанні і загальнодоступним, виявлення даної форми дозволяє підібрати коригуючу терапію.