



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **45768** (13) **U**
(51) МПК (2009)
G01N 33/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ У ДІТЕЙ З ІНСУЛІНОЗАЛЕЖНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

1

2

(21) u200905877

(22) 09.06.2009

(24) 25.11.2009

(46) 25.11.2009, Бюл.№ 22, 2009 р.

(72) ЛЕЖЕНКО ГЕННАДІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ПАШКОВА ОЛЕНА ЄГОРІВНА, КАМЕНЩИК АНДРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, РУДНЄВА ІННА ВОЛОДИМИРІВНА, ЧАКМАЗОВА ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА, (73) ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЛЕЖЕНКО ГЕННАДІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ПАШКОВА ОЛЕНА ЄГОРІВНА, КАМЕНЩИК АНДРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, РУДНЄВА ІННА

ВОЛОДИМИРІВНА, ЧАКМАЗОВА ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА

(57) Спосіб ранньої діагностики діабетичної нефропатії у дітей з інсулінозалежним цукровим діабетом шляхом визначення біохімічних маркерів діабетичної нефропатії у біологічних рідинах, який відрізняється тим, що визначають трансформуючий фактор росту бета-1 (ТФР-β1) у сироватці крові хворих і, якщо він складає 500 пг/мл та більше, то діагностують діабетичну нефропатію.

Корисна модель стосується медицини, а саме діабетології і педіатрії, і може бути використаною у діагностиці діабетичної нефропатії.

Діабетична нефропатія (ДН) - одне з найбільш частих, важких і прогностично несприятливих ускладнень цукрового діабету. Останніми роками діабетична нефропатія зайняла лідируючі позиції серед причин термінальної ниркової недостатності в індустріально розвинених країнах. Як правило, раннє виявлення та важкий перебіг діабетичної нефропатії спостерігається при цукровому діабеті 1-го типу, при якому клінічно виражене ураження нирок розвивається у 30-50% хворих. При цьому незадовільні результати лікування діабетичної нефропатії пов'язані, вперш за все, зі складністю патогенезу, тривалим безсимптомним перебігом та пізньою діагностикою даного ускладнення. Тому розробка методів ранньої діагностики діабетичних змін в нирках на ранніх стадіях дозволить значно поліпшити прогноз якості та тривалості життя хворих на інсулінозалежний цукровий діабет.

Найбільш близьким за технічною сутністю та результатами, що досягаються, є спосіб, запропонований Габбасовою М.В та Мамчик М.П «Спосіб діагностики діабетической нефропатии на доклинической стадии», МПК G01N33/493 (2006.01), номер публікації 2348038, заявка 2007124086/15, дата подання заявки 2007.06.26, видано 2009.02.27 (Державна освітня установа вищої професійної освіти "Воронезька державна медич-

на академія ім. Н.Н. Бурденко Федерального агентства з охорони здоров'я і соціального розвитку", Росія), який полягає в тому, що у дітей з інсулінозалежним цукровим діабетом за відсутності білка при загальноклінічному дослідженні сечі досліджують білкові фракції сечі, розділені за допомогою електрофорезу в градієнтному 8-25% поліакриламідному гелі з детергентом додецилсульфатом, і при визначенні на упротейнограмі єдиної фракції альбуміну молекулярною масою 67кда в кількості до 26міліграм/л, стан пацієнта інтерпретують як норму; при виявленні додатково до альбуміну протеїнів з молекулярною масою 58-156кда: трансферину, гаптоглобіну, IgG, постальбуміну і преальбуміну, діагностують клубочкову дисфункцію; при виявленні протеїнів з молекулярною масою від 10 до 58кда: рибонуклеази, мономерного гемоглобіну, ретинол-зв'язуючого білку, легких ланцюгів IgG, -мікроглобуліна, кислого глікопротеїду - діагностують канальцеву дисфункцію; за наявності білків з молекулярною масою від 10 до 156кда - діагностують поєднану поразку.

Спільною суттєвою ознакою прототипу і корисної моделі, що заявляється, є така: проводиться визначення біохімічних маркерів діабетичної нефропатії у біологічних рідинах.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що виявляє не стільки ранні первинні зміни у судинах нирок, скільки вторинні зміни у сечі, що є

(19) **UA** (11) **45768** (13) **U**

вже наслідком відповідних мікросудинних порушень. До того ж, у хворих на цукровий діабет, у зв'язку з відомими порушеннями імунітету, може також зустрічатися супутня патологія сечовивідної системи, наприклад латентна інфекція, що може суттєво впливати на зазначені у прототипі показники, особливо на каналцеву дисфункцію. До того ж зазначений спосіб потребує досить коштовних реактивів й обладнання.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу діагностики діабетичної нефропатії у дітей з інсулінозалежним цукровим діабетом шляхом проведення визначення у сироватці крові хворих дітей рівнів трансформуючого фактору росту (ТФР- β 1), що забезпечить підвищення достовірності діагностики означеного патологічного стану та, відповідно, якість надання лікувально-профілактичних заходів дітям з цукровим діабетом.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який полягає у визначенні біохімічних маркерів діабетичної нефропатії у біологічних рідинах, новим є те, що визначають трансформуючий фактор росту бета-1 (ТФР- β 1) у сироватці крові хворих, і якщо він складає 500 пг/мл та більше, то діагностують діабетичну нефропатію.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому.

В останні роки встановлено, що у виникненні діабетичної нефропатії важливу роль грають фактори росту, гіперпродукція яких приводить до порушення рівноваги між синтезом та розпадом компонентів базальної мембрани в бік посилення синтезу та диспропорції компонентів базальних мембран та їх структурній організації. Стимулює підвищений синтез та накопичення в нирках цих факторів гіперглікемія, яка ініціює різні механізми, в тому числі активацію рецепторів до глікозильованих білків. Трансформуючий фактор росту бета-1 (ТФР- β 1) - найбільш вивчений поліфункціональний ростовий фактор, який відноситься до переважно протизапальних цитокінів. Мішенями ТФР- β 1 є різні клітини, оскільки експресія його високоафінного рецептору широко розповсюджена. При дії ТФР- β 1 на імунну систему переважають ефекти, що пригнічують гемопоез, синтез запальних цитокінів, відповідь лімфоцитів на ІЛ-2, -4 та -7, формування цитотоксичних НК- та Т-клітин. В той же час він посилює синтез білків міжклітинного матриксу, сприяє загоєнню ран, оказує анаболічну дію, стимулює ангиогенез. Надлишкова активність ТФР- β 1 може приводити до гіперпроліферативних процесів, таких, як гломерулонефрит, склерозування шкіри, цироз печінки, прогресуючий пухлинний ріст, тощо. У хворих на цукровий діабет підвищення ТФР- β 1 відбувається в мезенгіальних та ендотеліальних клітинах клубочків нирок. ТФР- β 1 грає ключову роль в розвитку та прогресуванні діабетичної нефропатії. В експерименті було показано, що пригнічення синтезу ТФР- β 1 приводить до попередження фіброзних змін в нирках, а застосування в лікуванні цукрового діабету поряд з належним глікемічним контролем препаратів, які

нейтралізують дію ТФР- β 1 (наприклад, специфічних антитіл або специфічного уповільнювача даного цитокіну) попереджує або уповільнює темпи розвитку діабетичної нефропатії. Проте більшість цих досліджень було проведено у дорослих пацієнтів та стосувалося екскреції ТФР- β 1 з сечею. У той же час, нефропатія при цукровому діабеті є проявом системної мікроангіопатії, а, отже, виявлення ТФР- β 1 у сироватці крові хворих, саме як системного маркера мікросудинних ускладнень, може бути використаним, в тому числі, й при ранній діагностиці діабетичної нефропатії у дітей. Вибір зазначеного маркера ранньої діагностики діабетичної нефропатії у дітей обумовлений тим, що він сприяє ремоделюванню ниркових судин та ранній дезорганізації базальної мембрани клубочків, гіпертрофічним процесам у судинах, що відбуваються на ранніх стадіях захворювання. Ці процеси відбуваються у всіх судинах на рівні мікроциркуляції, тому визначення ТФР- β 1 саме у крові хворих віддзеркалює певний системний характер зазначених ранніх змін та може бути використаним у діагностиці діабетичної нефропатії у дітей. Визначення ТФР- β 1 є досить простим та специфічним методом.

Спосіб здійснюють таким чином.

Хворій дитині натщесерце у сироватці крові проводять визначення ТФР- β 1. При наявності змін, а саме при підвищеному рівні ТФР- β 1 (що перевищує 500 пг/мл) у сироватці крові хворих дітей діагностують діабетичну нефропатію та можливий несприятливий перебіг захворювання.

Приклад:

Хвора Н., 1990 р.н. Знаходилась на стаціонарному лікуванні в ендокринологічному відділенні з 18.06.07 по 02.07.07. № історії хвороби 4767.

Діагноз: Цукровий діабет, тип 1, тяжка форма, глікемічний контроль з високим ризиком для життя. Діабетична проліферативна ретинопатія. Діабетична нефропатія 2 ст. Діабетична полінейропатія, сенсорно-моторна форма.

Страждає на цукровий діабет протягом 15 років. Отримує інсулін "Актрапід", "Протафан". Скарг не пред'являє.

Об'єктивні дані

Вага 64 кг

Зріст 160 см. ІМТ 25,0

Шкіра: сухість шкіри. На стегнах-рожеві стрії. Підшкірна клітковина розвинута нормально. Дихання везикулярне, хрипів немає. Діяльність серця ритмічна, систолічний шум на верхівці серця. ЧСС 80 хв. Живіт м'який, безболісний. Гепатоспленомегалія відсутня.

Статевий розвиток відповідає віку.

Дані лабораторного обстеження:

Загальний аналіз крові 19.06.07: Ер 4,5; Нв 152 г/л, Л 8,0; Е 2%, П 1%, С 74%, М 1%, Л 22%, К.П. 1,0, РОЕ 5 мм/г.

Загальний аналіз сечі 19.06.07: у.в. 1021, цукор +, білок негат., ЛЦ 0-1, епітелій незнач., рН кисл.

Аналіз сечі за Нечіпоренком 19.06.07: п.в. 1019, білок негат., Ер негат., Лц 500. Біохімічний аналіз крові: серомук. 0,130, білок 77 г/л, креатинін 95 мкм/л, білірубін 8,9 мкм/л, тимол. 0,69 мкм/л, АСТ

0,1мкм/л, АЛТ 0,1мкм/л, Na 145,2ммоль/л, К 4,7 ммоль/л. Біохімічний аналіз крові відповідає нормі.

Проба Реберга: Хв. діурез 0,35, креатинін сечі 12 500, креатинін крові 95, КФ 47,14, КР 99,2. Показники проби Реберга відповідають нормі.

Глікемічний профіль 25.06.07: 11:00-13,5ммоль/л; 12.30-10,4ммоль/л; 16:00-8,0ммоль/л; 18:00-5,3ммоль/л; 21:00-5,3ммоль/л ; 24:00-5,3ммоль/л; 6:00-5,1 ммоль/л (норма: 4,4-5,5 ммоль/л).

ЕКГ 25.06.07: вольтаж достатній, синусова аритмія.

Мікроальбумінурія 68мг/л (норма: до 30мг/л)

Нв А1С: 7,4%. (норма: 4,8%-5,9%)

Трансформуючий фактор росту 550пг/мл (норма: до 500пг/мл)

Доплерографія судин нирок : аорта 11мм (норма: 10,01±0,39мм), максимальна швидкість кровотоку 60см/сек., (норма: 81,06±3,08см/сек.), мінімальна швидкість 21 см/сек., (норма: 26,08±1,9 см/сек.), градієнт швидкості 1,45, (норма: 2,89±0,12), RI 0,99 (норма:0,67±0,01), PI 2,74 (норма: 1,03±0,02).

ма: 1,03±0,02). Прояви сольового діатезу обох нирок.

Інсулінотерапія: Актрапід 32 Од, Протафан 30 Од.

Медикаментозна терапія: Еспа-ліпон 600,0 в/в, мілдронат 4,0 в/м, актовегін 2,0 в/в, енап 5мг, магнітотерапія на підшлункову залозу, лікувальна фізкультура.

Таким чином, у хворої мало місце підвищення показників мікроальбумінурії та гліколізованого гемоглобіну, при доплерографії ниркових судин спостерігалось збільшення мінімальної та максимальної швидкості кровотоку, градієнту швидкості, індексу резистентності, зменшення пульсового індексу. Спостерігалось збільшення вмісту трансформуючого фактору росту у сироватці крові, та помірні зміни на ЕКГ, що свідчило також про формування кардіопатії, як прояву системної ангіопатії.

Отже, отримані дані щодо вмісту трансформуючого фактору росту (ТФР-β1) дозволили підтвердити наявність діабетичної нефропатії та системної мікроангіопатії.