

Винахід відноситься до медицини, а саме ендокринології і може використовуватись для визначення стадії розвитку діабетичних ангіопатій.

Доклінічна (I) (безсимптомна, метаболічна) стадія не має клінічної симптоматики, але при ній виявляються тимчасові зміни тону судин та інші зміни за даними функціональних проб. Функціональна (II) стадія має конкретну клінічну та інструментальну характеристику, порушення при цій стадії зворотні під впливом лікування, але діагностується вона не завжди вчасно через це може переходити в органічну (III) (незворотну), коли медикаментозне лікування не ефективне, чи мало ефективне. Це призводить до довготривалих трофічних виразок, ампутацій нижніх кінцівок, хронічної ниркової недостатності, інфарктів міокарду, інсультів, тощо, а в кінцевому результаті до зростання показника інвалідизації та смертності.

Відомий спосіб визначення стадії розвитку діабетичних ангіопатій, який заключається в клініко-інструментальному обстеженні хворих на цукровий діабет [Ефимов А.С. Диабетические ангиопатии. - М.: Медицина, 1989. - 288с.].

Відомий також і спосіб морфологічного дослідження біоптатів шкіри стегна з метою експрес-діагностики стадії діабетичної мікроангіопатії [Пат. №22395А, Україна, МПК G01N33/48, 1998].

Однак ці методи мають недоліки. Клініко-інструментальний метод застосовується при наявності клінічних проявів діабетичних ангіопатій, а морфологічні дослідження є інвазивними та травматичними для хворого.

За прототип авторами взятий спосіб визначення стадії діабетичних ангіопатій, який заключається у визначенні показників гемокоагуляції у пацієнтів. За цим способом у сироватці крові хворих на цукровий діабет з різними стадіями розвитку діабетичних ангіопатій виявляють підвищену ступінь агрегації тромбоцитів, що корелює з підвищеним рівнем фібриногену та розчинних комплексів фібрин-мономеру і зниженою фібринолітичною активністю плазми. Вихідні показники агрегатограми тромбоцитів та коагулограми залежать від тяжкості цукрового діабету, тобто від стадії розвитку діабетичних ангіопатій. Ступінь агрегації тромбоцитів у пацієнтів як з інсулінозалежною так і інсулінонезалежною формами діабету значно перевищує таку в контрольній групі осіб. Наростання проявів діабетичних ангіопатій супроводжується зростанням ступеню агрегації тромбоцитів, зростанням фібриногену та розчинних комплексів фібрин-мономеру і зменшенням фібринолітичної активності плазми [Титова С.И., Козлов Г.И., Мамедгасанов Р.М. Нарушение гемоциркуляции и микроциркуляции у больных сахарным диабетом // Пробл. Эндокринолог. - 1989. - №6. - С. 3-7].

Проте і даний спосіб є малоефективним, оскільки він не може виключити негативний вплив на гемокоагуляцію супутніх захворювань та атеросклерозу, який рано супроводжує цукровий діабет.

В основу винаходу поставлена задача розробити спосіб діагностики стадії розвитку діабетичних ангіопатій шляхом визначення в сироватці крові величини показників антитіл до фосфоліпідів (лізофосфатидилхоліну та фосфатидилсерину), який дозволить виявити функціональну (II) та органічну (III) стадії розвитку діабетичних ангіопатій не залежно від наявності супутніх захворювань та атеросклерозу, що підвищить ефективність способу та дасть можливість призначати вчасно адекватне лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, що включає дослідження крові, згідно з винаходом, у сироватці крові імуноферментним методом визначають величину показників антитіл до лізофосфатидилхоліну та фосфатидилсерину, і якщо величина показників антитіл до лізофосфатидилхоліну менше за  $1500 \text{опт.од.} \times 10^3$  та антитіл до фосфатидилсерину менше за  $950 \text{опт.од.} \times 10^3$  це свідчить про функціональну (II) стадію діабетичних ангіопатій, а величина показників антитіл до лізофосфатидилхоліну більше за  $1500 \text{опт.од.} \times 10^3$  та антитіл до фосфатидилсерину більше за  $950 \text{опт.од.} \times 10^3$  - про органічну (III) стадію діабетичних ангіопатій.

До даного рішення автори прийшли, вивчаючи результати клініко-інструментального дослідження хворих на цукровий діабет з різними стадіями розвитку ангіопатій: доклінічної (I) (початкової), функціональної (II) та органічної (III) і паралельного визначення величини показників антитіл до фосфоліпідів (антитіл до лізофосфатидилхоліну та фосфатидилсерину) у сироватці крові цих же пацієнтів. Виявлено, що хворі на цукровий діабет не залежно від типу захворювання мали значне підвищення величини показників антитіл до лізофосфатидилхоліну та фосфатидилсерину в сироватці крові. Поряд з тим, у більшості хворих з функціональною (II) стадією діабетичних ангіопатій величина показників антитіл до лізофосфатидилхоліну є меншою за  $1500 \text{опт.од.} \times 10^3$  та антитіл до фосфатидилсерину меншою за  $950 \text{опт.од.} \times 10^3$ . У переважної більшості хворих на цукровий діабет з органічною (III) стадією діабетичних ангіопатій величина показників антитіл до лізофосфатидилхоліну є вищою за  $1500 \text{опт.од.} \times 10^3$  та антитіл до фосфатидилсерину є вищою за  $950 \text{опт.од.} \times 10^3$ .

Величина показників антитіл до фосфоліпідів у сироватці крові хворих на цукровий діабет типу 1 та типу 2 майже не відрізнялася, хоча групи обстежених хворих були неоднорідні. А саме: серед хворих на цукровий діабет типу 2 не було жодного пацієнта без наявності клінічно та інструментально підтверджених ангіопатій (незалежно від тривалості діабету). А серед пацієнтів з цукровим діабетом типу 1 були такі, у яких клініко-інструментальні прояви діабетичної ангіопатії були відсутні, але мала місце аутоагресія, через те, що у цих осіб цукровий діабет тільки-но виник і ще не викликав розвитку подальших ускладнень.

Враховуючи вище приведені аргументи відносно хворих з цукровим діабетом типу 1 та типу 2 ми не можемо чітко за допомогою нашого методу диференціювати доклінічну (I) стадію розвитку діабетичних ангіопатій, а тільки функціональну (II) та органічну (III).

Спосіб здійснюється наступним чином.

У хворого з діагнозом цукровий діабет після всебічного клініко-лабораторного та інструментального дослідження проводять забір крові з кубітальної вени. У сироватці крові визначають величину показників антитіл до лізофосфатидилхоліну та фосфатидилсерину за допомогою методу імуноферментного аналізу [Loizon S., Ma Crea J.D., Rudge A.C. et. Al. Measurement of anti-cardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunorbent assay (ELISA): standartization quantitation of resylts // Clin. Exp. Immunol. - 1985. - Vol. 62. - P. 738-745]. У способі використовують препарати високоочищених фосфоліпідів: лізофосфатидилхоліну та фосфатидилсерину ("Sigma"). Для проведення імуноферментного аналізу (ІФА) використовують козячі антитіла до імуноглобулінів (IgG) людини, мічені лероксидазою хрому ("Sigma"), ембріональну сироватку (Завод медпрепаратів, Україна), о-фенілендіамін ("Sigma"), перекис водню ("Реахім") та полістирольні

мікропланшети виробництва ГОС НП Медполімер (Москва).

В результаті дослідження виявлено, що у хворих на цукровий діабет обох типів має місце підвищення величини показників антитіл до лізофосфатидилхоліну та фосфатидилсерину, причому у хворих з органічною (III) стадією розвитку діабетичних ангіопатій ці показники значно вищі, ніж у хворих з функціональною (II) стадією цих ускладнень.

Приклад 1.

Хвора П-ва, 1932р.н. поступила 25.06.2002 року на стаціонарне лікування у відділення клінічної фармакології Інституту ендокринології та обміну речовин зі скаргами на сухість в роті, спрагу, поліурію, свербіння шкіри та піхви, болі в ногах, особливо при ході та вночі. Підвищення цукру в крові вперше виявлено в червні 2002 року. В сім'ї у матері цукровий діабет та зоб. На момент госпіталізації нічого не приймала.

Проведене повне клінічне та лабораторне дослідження:

Загальний стан задовільний. Ноги - пастозність, пульсація на а.а. dorsalis pedis et tibialis post. - послаблена, вібраційна чутливість: ліва нога - 6, права - 6, тактильна чутливість послаблена на обох ногах по типу шкарпеток, температурна послаблена.

Біохімічне дослідження крові від 26.06.2002 року: холестерин - 8,7ммоль/л,  $\beta$ -ліпопротеїди - 6,05г/л, креатинін - 0,058ммоль/л, калій - 5,0ммоль/л, натрій - 138ммоль/л.

Глікемія натще серце від 26.06.2002: 11,7ммоль/л.

Глікемічний профіль від 28.06.2002р.: 6,1-14,0-8,0-6,2-8,0ммоль/л.

Глюкозурія за добу від 28.06.2002 - 12,8г/л, кетонурия - відсутня, протеїнурия - відсутня, питома вага - 1017.

Додатково проведено визначення у сироватці крові цієї пацієнтки величини показників антитіл до лізофосфатидилхоліну, який становив - 1005од.опт.  $\times 10^3$ , та антитіл до фосфатидилсерину, який становив - 724од.опт.  $\times 10^3$ . Наявність функціональної (II) стадії розвитку діабетичних ангіопатій у цієї хворої підтверджено клініко-інструментальними дослідженнями. Таким чином, рівень антитіл до лізофосфатидилхоліну - 1005од.опт.  $\times 10^3$  та фосфатидилсерину - 724од.опт.  $\times 10^3$ , який має місце у сироватці крові цієї пацієнтки, є характерним для функціональної (II) стадії діабетичних ангіопатій.

Реовазографія судин нижніх кінцівок: макроангіопатія судин II ступеню (функціональні зміни) по спастичному типу, з невеликим зниженням кровонаповнення.

Капіляроскопія нігтьового ложа I пальця ноги: форма капілярів - спазмовані, звивисті, порушення проникливості помірне, стадія мікроангіопатії I-II (функціональна) спастична форма з ознаками агрегації еритроцитів.

Консультація окуліста: початкова катаракта, ангіосклероз сітківки обох очей.

На підставі клінічних, лабораторних, інструментальних методів досліджень і консультації вузьких спеціалістів виставлено заключний клінічний діагноз:

Цукровий діабет 2 тип, середня форма тяжкості, стан декомпенсації, лабільний перебіг. Діабетична ангіопатія нижніх кінцівок, функціональна (II) стадія. Діабетична периферична полінейропатія. Початкова катаракта, ангіосклероз сітківки обох очей.

Хворій було проведено відповідне лікування. Після чого стан хворої поліпшився: практично зникла спрага, поліурія, зменшилась гіперглікемія та болі в ногах.

Приклад 2.

Хвора Ю-на., 1955р.н. поступила 09.06.2002 на стаціонарне лікування у відділення клінічної фармакології інституту ендокринології та обміну речовин зі скаргами на відчуття сухості в роті, спрагу, поліурію, наявність трофічних виразок на п'яткових ділянках обох ступнів, підвищення артеріального тиску, погіршення зору.

Хворіє на цукровий діабет 15 років. Перші три роки отримувала таблетовані цукрознижуючі засоби, без достатнього ефекту, надалі - інсулін. На момент госпіталізації інсулінотерапія: Актралід НМ вранці - 10од., перед обідом - 12од., перед вечерею - 8од. Актралід НМ та 12од. Монотард НМ.

Проведено клінічне та лабораторне обстеження:

Загальний стан середньої тяжкості. Пастозність обличчя. Ноги - набряків немає, пульсація на а.а. dorsalis pedis et tibialis post. - послаблена, вібраційна чутливість: ліва нога - 4, права - 4, тактильна чутливість послаблена на обох ногах по типу шкарпеток, температурна послаблена. На обох п'яточних ділянках стоп - виразкові дефекти розміром до 4-5 см в діаметрі.

Біохімічне дослідження крові від 11.06.2002 року: холестерин - 4,1ммоль/л,  $\beta$ -ліпопротеїди - 4,07г/л, креатинін - 0,108ммоль/л, калій - 5,0ммоль/л, натрій - 140ммоль/л.

Глікемія натще серце від 10.06. 2002: 4,9ммоль/л.

Глікемічний профіль від 16.06.2002р.: 18,8-3,4-14,0-30,4-16,5ммоль/л.

Глікозильований гемоглобін - 5,86%.

Глюкозурія за добу від 10.06.2002 - 6,4г/л, кетонурия - відсутня, протеїнурия - 1,21/л, питома вага - 1010.

Додатково проведено визначення у сироватці крові цієї пацієнтки величини показників антитіл до лізофосфатидилхоліну, який становив - 2100од.опт.  $\times 10^3$ , та антитіл до фосфатидилсерину, який становив - 1299од.опт.  $\times 10^3$ . Наявність органічної (III) стадії розвитку діабетичних ангіопатій у цієї хворої підтверджено клініко-інструментальними та лабораторними дослідженнями. Таким чином, рівень антитіл до лізофосфатидилхоліну - 2100од.опт.  $\times 10^3$  та фосфатидилсерину - 1299од.опт.  $\times 10^3$ , який має місце у сироватці крові цієї пацієнтки, є характерним для органічної (III) стадії діабетичних ангіопатій.

Реовазографія судин нижніх кінцівок: макроангіопатія судин II-III ступеню по спастичному типу, з невеликим зниженням кровонаповнення. Сповільнення венозного відтоку.

Капіляроскопія нігтьового ложа I пальця ноги: форма капілярів - спазмовані, звивисті, порушення проникливості виражене, стадія мікроангіопатії II-III.

Консультація окуліста: діабетична ретинопатія, неосудинна форма.

На підставі клінічних, лабораторних, інструментальних методів досліджень і консультації вузьких спеціалістів виставлено заключний клінічний діагноз:

Цукровий діабет 1 тип, тяжка форма, стан декомпенсації, лабільний перебіг. Діабетична ангіопатія нижніх кінцівок, органічна (III) стадія. Трофічні нейро-ішемічні виразки обох ступнів (п'яткові ділянки) Діабетична нефропатія IVст. (по Могенсену). Хронічна ниркова недостатність, інтермітуюча стадія. Діабетична ретинопатія, неосудинна форма. Діабетична периферична полінейропатія. Синдром Самоджи. Ожиріння IIст. Симптоматична артеріальна гіпертензія IIст. IIIст. ураження внутрішніх органів.

Призначено відповідне лікування. Стан хворої після лікування поліпшився: стабілізувався вуглеводний обмін та значно зменшились розміри трофічних виразок до 2-3см в діаметрі.

Таким чином, даний спосіб дозволяє діагностувати стадію розвитку ангіопатій (функціональну чи органічну) за допомогою визначення величини показників антитіл до лізофосфатидилхоліну та фосфатидилсерину в сироватці крові хворих на цукровий діабет.

Указаний спосіб діагностики стадії розвитку ангіопатії проведено ще у 25 пацієнтів з цукровим діабетом типу 1 та у 75 хворих на цукровий діабет типу 2 з наявністю різних стадій розвитку діабетичних ангіопатій, підтвердив його високу ефективність.