



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **80105** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61B 10/00
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 14173**
(22) Дата подання заявки: **12.12.2012**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **13.05.2013**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **13.05.2013, Бюл.№ 9**

(72) Винахідник(и):
**Халангот Микола Дмитрович (UA),
Тронько Микола Дмитрович (UA),
Кравченко Віктор Іванович (UA),
Охріменко Надія Василівна (UA),
Пішель Ірина Миколаївна (UA),
Леонов Юрій Ігорович (UA)**
(73) Власник(и):
**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН
ІМ. В.П. КОМІСАРЕНКА НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114 (UA),
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ГЕРОНТОЛОГІЇ ІМЕНІ Д.Ф.
ЧЕБОТАРЬОВА НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
вул. Вишгородська, 67, м. Київ, 04114 (UA)**

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ АУТОІМУННОГО ТА НЕАУТОІМУННОГО ТИПІВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

(57) Реферат:

Спосіб диференційної діагностики аутоімуного та неаутоімуного типів цукрового діабету (ЦД) включає дослідження поліморфізму генних маркерів. При цьому визначають наявність мутації гена SLC30A8 транспортера Zn (ZnT8), а саме - мутації rs13266634, і при виявленні генотипу, що містить алель T, роблять висновок про наявність у пацієнта аутоімуного ЦД1 або LADA, а при відсутності - ЦД2.

UA 80105 U

Корисна модель належить до медицини, а саме, до ендокринології та молекулярної генетики, і може бути використана в клінічній ендокринології для уточнення діагнозу аутоімунного цукрового діабету (ЦД).

Класифікація ЦД за типом досі залишається важливою клінічною проблемою, оскільки її помилкове вирішення може призвести до затримки призначення життєво необхідного лікування. Помилки в діагностиці типу ЦД, яких припускаються лікарі первинної ланки допомоги у Великій Британії, досягають 15 % [Farmer A., Fox R. Diagnosis, classification and treatment of diabetes / Farmer A., Fox R. // BMJ.-2011. - Vol. 342. - P. 3319]. В Україні ця проблема є не менш актуальною. Частіше за все труднощі в класифікації за типом виникають у разі встановлення діагнозу ЦД у молодих дорослих, оскільки вважається, що типовий ЦД 1-го типу (ЦД1) аутоімунного ґенезу виникає у осіб до 30 чи до 35 років, а типовий ЦД 2-го типу (ЦД2) - після 40 років життя. Проте, у багатьох випадках класифікація ЦД за типом викликає труднощі і в інших вікових групах. Клінічний фенотип ЦД2 все частіше виявляють навіть у дітей. А лабораторні ознаки аутоімунного діабету з розвитком потреби у лікуванні інсуліном спостерігаються у значної кількості пацієнтів, що захворіли на ЦД у дуже зрілому віці (латентний аутоімунний діабет дорослих - LADA) [Landin-Olsson M. Latent autoimmune diabetes in adults / M. Landin-Olsson // Ann N Y Acad Sci. - 2002. - Vol. 958. - P. 112-116].

За виявленими патентними документами, в основному відомі способи прогнозування ризику розвитку аутоімунного ЦД1.

Так, для оцінки ризику виникнення ЦД1 запропонований "Процес прогнозування ризику виникнення цукрового діабету 1 типу у дітей, спадково обтяжених цією хворобою" [Пат. № 20132 U UA, МПК G01N 33/53, опубл. 15.01.2007], суть якого полягає в тому, що визначають титр діабетасоційованих аутоантитіл до декарбоксилази глютамінової кислоти (GADA), протеїну тирозинфосфатази-2 (IA-2A), інсуліну (IAA) і до цитоплазми острівцевих клітин (ICA), рівень тимуліну в сироватці крові та цитотоксичну активність природних кілерних клітин і при підвищенні рівня діабетасоційованих аутоантитіл не менше ніж 2 специфічностей, підвищенні цитотоксичної активності природних кілерних клітин та зниженні рівня тимуліну порівняно з дітьми контрольної групи, прогнозують ризик виникнення ЦД1. Цей спосіб використовують для передбачення та уточнення ЦД1, але він потребує дослідження одночасно трьох специфічних аутоантитіл, фактору тимусу та клітинного імунітету, що значно ускладнює його практичне застосування.

За найближчий аналог авторами взятий "Спосіб прогнозування виникнення цукрового діабету 1 типу" [Пат. № 68601 U UA, МПК A61B 10/00, опубл. 16.08.2004], який полягає у виявленні генетичних маркерів - досліджують поліморфізм генного маркера D6S2414 із хромосомною локалізацією 6p21.31, розташованого поблизу генів HLA II класу та за наявності алельних варіантів 8/12, 9/12, 10/11, 11/11, 12/13 встановлюють ризик розвитку ЦД1.

Проте, цей спосіб хоч і дає змогу виявляти ризик виникнення ЦД1 типу у загальній популяції, але не дозволяє диференціювати аутоімунний та неаутоімунний тип ЦД, що обмежує його використання.

В основу даної корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб диференційної діагностики аутоімунного та неаутоімунного типів ЦД за рахунок визначення наявності мутації rs13266634 гена SLC30A8 транспортера Zn 8 типу (ZnT8). Це дозволить диференціювати типи ЦД, а саме - ЦД1 або його підтип LADA та ЦД2 і завдяки цьому вибрати патогенетично зумовлений метод лікування. Спосіб доступний для використання.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі, який включає дослідження поліморфізму генних маркерів, згідно з даною корисною моделлю, визначають наявність мутації гена SLC30A8 транспортера ZnT8, а саме - мутації rs13266634 і при виявленні генотипу, що містить алель Т, роблять висновок про наявність у пацієнта аутоімунного ЦД1 або LADA, а при відсутності - ЦД2.

До цього рішення автори прийшли, досліджуючи популяції обстежуваних пацієнтів при використанні національного реєстру хворих на ЦД. Виявлено, що у складних випадках, до яких слід віднести: виникнення симптомів та ознак ЦД у пацієнтів середньої вікової групи; відсутність адекватного контролю глікемії за умов перорального лікування ЦД, що був діагностований у пацієнтів старшого віку, або тривале лікування низькими дозами інсуліну дітей та підлітків з ЦД - необхідне уточнення типу ЦД.

Оскільки, відомий зв'язок між наявністю аутоантитіл до ZnT8 та мутацією rs13266634 його гена SLC30A8 при ЦД1 [Kawasaki E, Uga M, Nakamura K, Kuriya G, et al. Association between anti-ZnT8 autoantibody specificities and SLC30A8 Arg325Trp variant in Japanese patients with type 1 diabetes // Diabetologia. - 2008. - Vol. 51, № 12. - P. 2299-2302], автори дослідили генетичний поліморфізм цього гена при сумнівному діагнозі типу ЦД і виявили, що генотип, який містить

алель T, відповідальний за розвиток аутоімунного ЦД1 або LADA, а при відсутності цієї алелі - ЦД2.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Пацієнту з діагнозом ЦД неуточненого типу проводять дослідження венозної крові з виділенням ДНК за допомогою набору "ДНК-сорб-В" (фірми АмпліСенс, Росія) із застосуванням методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням праймеру SLC30A8rs266634 F: 5-GGA CAG AAA GAG TTC CCA TAG CG-3; SLC30A8rs266634 R: 5-ATA GCA GCA TGT TTG AAG GTG GC-3, температура відпалу праймерів 60 °C, 35 циклів, та наступною обробкою продуктів ампліфікації специфічною ендонуклеазою PvuII і виявляють наявність чи відсутність мутації rs13266634 гена SLC30A8 ZnT8. При виявленні генотипу TT або CT роблять висновок про наявність у пацієнта аутоімунного ЦД1 або LADA. Якщо у пацієнта виявляють генотип CC, що не включає алель T, то роблять висновок, що ЦД не аутоімунного генезу.

Таким чином, спосіб дозволяє уточнити диференційний діагноз ЦД.

Спосіб, що заявляється, ілюструється прикладами.

Приклад 1. В.З., чоловік 37 років, звернувся до лікаря з приводу симптомів гіпоглікемії, що виникали протягом останніх днів після незначної фізичної активності. Діагноз ЦД1 встановлено за 4 місяці до даного звернення. Лікується інсуліном (30 од./добу). На час обстеження: глюкоза натще 12 ммоль/л (цільовий рівень до 7 ммоль/л), кетонурія відсутня. Індекс маси тіла (ІМТ) 27,7 кг/м² (норма 18,5-25,0 кг/м²), антитіла до GADA-0,77 од/мл (норма <1). Додатково хворому призначено обстеження за розробленим способом. Генотипування за rs13266634 SLC30A8 показало, що у хворого генотип CC, тому, враховуючи це і деякі інші клінічні та лабораторні дані (надлишкова вага, відсутність кетонурії та нормальний рівень GADA), вирішено відмінити інсулін і призначити метформін. Після лікування симптоми гіпоглікемії зникли, спостереження протягом 3 років підтверджує відсутність потреби у лікуванні інсуліном. Уточнений діагноз: ЦД2.

Приклад 2. Г.Б., жінка у віці 71-го року, обстежена з приводу незадовільного контролю глікемії. Лікується комбінацією препаратів протягом шести місяців (попередньо метформін замінювали гліклазидом та додавали піоглітазон), лікування розпочате від моменту встановлення діагнозу ЦД. Сумлінно дотримується рекомендованого дієтичного режиму. На час обстеження: глюкоза натще 10,44 ммоль/л, ІМТ 35 кг/м², HbA1c 8,37 % (цільовий рівень до 7 %), GADA 15,75 од./мл. Виникли сумніви у коректності встановлення типу ЦД. Генотипування за rs13266634 SLC30A8 показало, що у хворої генотип СТ. Враховуючи ці генетичні, клінічні та імунологічні дані (неефективність перорального лікування, наявність підвищеного рівня GADA), вирішено відмінити пероральне лікування та призначити інсулін. Уточнений діагноз: ЦД1, варіант LADA. Подальше спостереження підтвердило ефективність призначеного лікування.

Приклад 3. А.М., чоловік 40 років, обстежений з приводу незадовільного контролю глікемії на тлі лікування інсуліном ЦД1 та пов'язаних з цим сумнівів у коректності встановлення типу ЦД. Лікується інсуліном протягом 5 років (50 од./добу), лікування розпочате від моменту встановлення діагнозу ЦД. На час обстеження: глюкоза натще 16,94 ммоль/л, ІМТ 24,9 кг/м², HbA1c 9,24 %, GADA 58,18 од./мл. Генотипування за rs13266634 SLC30A8 показало, що у хворого генотип TT. Такий генотип пов'язаний з ризиком мати аутоімунний ЦД (ЦД1 чи LADA). Враховуючи ці генетичні та інші лабораторні дані, вирішено перейти на режим інтенсивної інсулінотерапії з самоконтролем глікемії. Уточнений діагноз: ЦД1.

Всього за розробленим способом було обстежено 113 осіб - 72 хворих на ЦД1, що захворіли у віці до 30 років, 8 осіб, що захворіли на ЦД після 40 років, але позитивні за наявністю GADA та постійно лікуються інсуліном, та 33 хворих на ЦД2, що захворіли у віці після 40 років.

Таким чином, спосіб диференційної діагностики аутоімунного та неаутоімунного типів ЦД є ефективним і рекомендується для використання в клінічній практиці.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб диференційної діагностики аутоімунного та неаутоімунного типів цукрового діабету (ЦД), що включає дослідження поліморфізму генних маркерів, який **відрізняється** тим, що визначають наявність мутації гена SLC30A8 транспортера Zn (ZnT8), а саме - мутації rs13266634, і при виявленні генотипу, що містить алель T, роблять висновок про наявність у пацієнта аутоімунного ЦД1 або LADA, а при відсутності - ЦД2.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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