



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **88369** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61B 10/00
G01N 33/53 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 12516	(72) Винахідник(и): Ковальова Валентина Іванівна (UA), Будрейко Олена Анатоліївна (UA), Чумак Світлана Олександрівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 25.10.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.03.2014	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ", пр. 50-річчя ВЛКСМ, 52-а, м. Харків, 61153 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.03.2014, Бюл.№ 5	

(54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ ОСІБ ЩОДО ЗНИЖЕНОЇ ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ ОРГАНІЗМУ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ І ТИПУ

(57) Реферат:

Спосіб виявлення осіб щодо зниженої імунологічної реактивності організму дітей, хворих на цукровий діабет І типу шляхом проведення цитогенетичного дослідження. Визначають в культурах лімфоцитів периферичної крові хворих частоту асоціацій акроцентричних хромосом і при середній кількості асоціацій на клітину, менше за норму, виділяють осіб зі зниженою імунореактивністю.

U
UA 88369

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до ендокринології, і може бути використана для виявлення осіб зі зниженою імунологічною реактивністю організму дітей, хворих на цукровий діабет I типу.

Згідно з визначенням експертів ВООЗ цукровий діабет (ЦД) є проблемою усіх вікових груп і усіх країн, які реєструються у світі. 3 % приросту цього захворювання належать дітям. У людини, яка народилася з генетичною схильністю до цукрового діабету, при зустрічі з провокуючими факторами зовнішнього середовища виникають імунологічні порушення в β -клітинах - інсулін, який проявляється появою аутореактивних Т-клітин та аутоантитіл, з поступовим руйнуванням β -клітин, зниженням інсулінової секреції та розвитком діабету, коли вже гине 90 % клітин.

Відомий спосіб прогнозування ризику виникнення цукрового діабету I типу у дітей, спадково обтяжених цією хворобою, що включає визначення імунологічних показників крові пацієнта. (Аналог: Пат. 20132, UA, МПК G01N 33/53. Процес прогнозування ризику виникнення цукрового діабету I типу, спадково обтяжених цією хворобою [текст] / Г.А. Замотаєва, Т.Ф. Захарченко, В.В. Попова; патентовласник Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМІ України. № 200607462; заяв. 04.07.06; опубл. 15.01.07, Бюл. № 1). Однак, тому що досліджується декілька показників і титр діабетасоційованих аутоантитіл, рівень тимуліну, цитотоксична активність природних кілерних клітин цей спосіб і займає багато часу і є мало ефективним.

Відомий спосіб прогнозування розвитку цукрового діабету через зміни в імунній системі організму шляхом виділення ДНК із лімфоцитів периферичної венозної крові методом реакції синтезу ДНК. (Аналог: Пат. 2285921, RU, МПК G01N 33/48, C12Q 1/68. Спосіб прогнозування розвитку сахарного діабета 1 типу в популяціях народів Башкортостана [текст] / Д.Ш. Авзалетдинова, Т.В. Моругова, О.Е. Мустафина; патентообладатель ГОУ ВПО "Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ". - № 2005103200/15; заяв. 08.02.05; опубл. 20.10.06). Цей метод належить до класу молекулярних методів дослідження, потребує складного устаткування і дорогих матеріалів.

Найбільш близьким до корисної моделі є спосіб виявлення осіб із зниженою імунологічною реактивністю як фактора формування захворюваності цукровим діабетом шляхом визначення імуногенетичного маркера схильності антигенного складу крові хворих. (Аналог: Роль генетических факторов в формировании разного уровня заболеваемости сахарным диабетом 1-го типа в Европе и Российской Федерации [Текст] / Т.П. Кураева [и др.] // Проблемы эндокринологии. - 2011. - № 1. - С. 19-24). Недоліком цього способу є той факт, що співвідношення гаплотипів в різних популяціях, в різних часових і вікових інтервалах може відрізнятися в значному ступені.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалення аналога, тобто створення такого способу прогнозування імунологічної реактивності організму дітей, хворих на цукровий діабет, при якому шляхом проведення генетичного дослідження можна було б виявити осіб із зниженою імунною реактивністю з високим рівнем ефективності в різних популяціях та вікових категоріях. Серед генетичних факторів особливу увагу привертає дослідження хромосомного апарата у хворих на цукровий діабет I типу. Це питання вивчається для визначення імунореактивності організму людини, діагностики імунodefіцитних станів, для оцінки Т-клітинного імунітету, а також оцінки проліферативної можливості лімфоцитів, оскільки в клітинах, які активно діляться, асоціацій немає або вони представлені двома акроцентричними хромосомами.

Поставлена задача вирішується тим, що проводять цитогенетичний аналіз частоти асоціацій акроцентричних хромосом, в культурах лімфоцитів периферичної крові у хворих, і при середній кількості асоціацій на клітину, менше за норму, виділяють осіб зі зниженою імунореактивністю.

Спосіб виконують таким чином. У хворої на цукровий діабет дитини проводять забір крові із ліктьової вени у кількості 1 мл і здійснюють обробку одержаних культур лімфоцитів периферичної крові мутагеном-провокатором (мітаміцином C) *in vitro* для встановлення рівня хромосомних аберацій. Препарати хромосом забарвлюють загальноприйнятим GTG-методом з використанням барвника Гімза. Від кожного пацієнта аналізують 50-100 метафаз. Асоціації акроцентричних хромосом (AAX) оцінюють за допомогою загальновідомих критеріїв, розроблених K.D. Zang і E. Bask, які засновані на специфічності розташування асоціюючих акроцентричних хромосом в метафазі: короткі плечі - AX орієнтовані один до одного і відстань між ними без урахування супутників (сателітів) не перевищує розмір довгого плеча хромосоми із групи; при паралельній або дуговій орієнтації осей хромосом центроміри асоціюючих хромосом лежать на одній центромірній лінії (лінія, яка проходить через центроміру, перпендикулярно осі хромосом).

Частота асоціацій акроцентричних хромосом у популяції лімфоцитів крові нижче норми (35 ± 2 %), вказує на зниження імунореактивності організму хворих, і такі особи повинні бути виділені у спеціальні групи для проведення з ними профілактичних заходів.

Приклад 1.

5 Хвора Карина А., 15 років (історія хвороби № 1126), надійшла до ендокринологічного відділення клініки зі скаргами на біль у животі, швидке стомлювання. Із анамнезу життя дівчина народилася від першої вагітності перших фізіологічних пологів. Маса тіла при народженні - 3500,0, довжина тіла 52 см. До року психомоторний розвиток дівчини відповідав віковим нормам.

10 Із анамнезу хвороби: з 7 років хворіє цукровим діабетом I типу. Операцій, травм не було.

Об'єктивно: на момент обстеження дівчинки загальний стан здоров'я задовільний. Дівчинка нормальної ваги, правильної статури. Шкіра, слизові оболонки чисті, звичайного кольору. В легенях везикулярне дихання, тони серця ритмічні, достатньої звучності. Живіт м'який безболісний. Печінка, селезінка не збільшені. Сечовиділення нормальне.

15 За даними лабораторних досліджень: клінічний аналіз крові без особливостей. Аналіз сечі: ацетон відсутній, глюкозурия 3 %, мікроальбумін сечі - 26,6 мг/л. Біохімічний аналіз крові: глікемія при надходженні 6-7-11-15-15-19 ммоль/л, білірубін 11,9 ммоль/л, холестерин 5,5 ммоль/л, ліпопротеїди - 8,6 г/л, ТТГ - 1,50 мМЕ/л, T_4 - 6,78 мкг/дкл, естрадіол - 0,19 нмоль/л.

20 При проведенні цитогенетичного аналізу було встановлено каріотип 46,XX, який відповідає нормальному жіночому, підвищений рівень хромосомної аберації 3 % (1 поодинокий фрагмент, 1 розрив по центромірі, 1 передчасне розходження хроматид, 3 поліплоїдні клітини). Частота KP_{0+2} (клас лімфоцитів з двома асоційованими акроцентричними хромосомами) - 12,5 %, що вказує на знижену імунореактивність хворої.

25 Клінічний діагноз: цукровий діабет I типу. Діабетична енцефалопатія, затримка статевого дозрівання.

Приклад 2.

Хворий Максим М., 9 років (історія хвороби 1117) надійшов до клініки зі скаргами на біль у серці, головний біль, нудоту, біль у животі, втомлюваність, роздратованість, біль у суглобах.

30 Із анамнезу життя: хлопчик від першої фізіологічної вагітності, перших фізіологічних пологів. Маса тіла при народженні 3150,0, довжина тіла 51 см. До року психомоторний розвиток хлопчика відповідав віковим нормам.

Із анамнезу хвороби: хворіє 2,5 роки, ГРЗ, вітряна віспа. Операція - водянка яєчка в 5 років.

35 Об'єктивно: на момент обстеження хлопчика загальний стан здоров'я задовільний. Шкіра, слизові оболонки чисті, звичайного кольору. В легенях везикулярне дихання, тони серця ритмічні, достатньої звучності. Живіт м'який, при пальпації безболісний. Печінка, селезінка не збільшені. За даними лабораторних досліджень: клінічний аналіз крові без особливостей. Глікогемоглобін - HbA_1 - 9,51 %, ліпопротеїди - 6,5 г/моль, глікемія 7-11-15-15-19 ммоль/л холестерин - 5,2 ммоль/л, білірубін - 12,6 ммоль/л. С-пептид - 0,034 нг/л. При проведенні цитогенетичного аналізу було встановлено каріотип 46,XY, який відповідав нормальному чоловічому, та підвищений рівень хромосомних аберацій - 5 % (передчасне розходження - 4, поліплоїдна клітина - 1). Частота KP_{0+2} - 11,8 %.

40 Клінічний діагноз: цукровий діабет I типу, знижена імунореактивність, що дає змогу віднести хворого до групи ризику.

45 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб виявлення осіб щодо зниженої імунологічної реактивності організму дітей, хворих на цукровий діабет I типу, що включає проведення цитогенетичного дослідження, який **відрізняється** тим, що визначають в культурах лімфоцитів периферичної крові хворих частоту асоціацій акроцентричних хромосом і при середній кількості асоціацій на клітину, менше за норму, виділяють осіб зі зниженою імунореактивністю.

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