



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/50 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017118835, 30.05.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.05.2017

Дата регистрации:
23.07.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.05.2017

(45) Опубликовано: 23.07.2018 Бюл. № 21

Адрес для переписки:

672000, г. Чита, ул. Горького, 39а, Читинская
медицинская академия, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Намоконов Евгений Владимирович (RU),
Шемякина Надежда Анатольевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования Читинская государственная
медицинская академия Министерства
здравоохранения российской федерации (RU),
Негосударственное учреждение
здравоохранения "Дорожная клиническая
больница на станции Чита-2 Открытого
акционерного общества "Российские
железные дороги" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2507520 C1, 20.02.2014. RU
2461005 C1, 10.09.2012. LING XU et al.
Diabetic angiopathy and angiogenic defects.
Fibrogenesis Tissue Repair. 2012; 5: 13.
Published online 2012 Aug 1. PMCID:
PMC3465576. РЕЗНИКОВА Е. А.
Клиническое значение оценки роли
дисфункции эндотелия в патогенезе
диабетической ангиопатии. Диссер. к.м.н.
Волгоград, 2014.

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ МАКРОАНГИПАТИЙ НИЖНИХ
КОНЕЧНОСТЕЙ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к клинической биохимии и хирургии, и может быть использовано для прогнозирования развития макроангиопатий нижних конечностей у больных сахарным диабетом 2 типа. Сущность изобретения состоит в том, что в крови определяют содержание метилглиоксаля, свободного глутатиона у больных сахарным диабетом 2 типа, рассчитывают интегральные показатели метилглиоксаля (P₁) и свободного

глутатиона (P₂) по отношению их содержания у больного к среднему значению у здоровых лиц, вычисляют прогностический коэффициент (К) по отношению интегрального показателя метилглиоксаля (P₁) к показателю свободного глутатиона (P₂) и при значении К равном 2,8 и выше прогнозируют риск развития макроангиопатий нижних конечностей. Техническим результатом является повышение точности прогноза риска развития сосудистых

осложнений. 1 табл.

R U 2 6 6 2 1 0 2 C 1

R U 2 6 6 2 1 0 2 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G01N 33/50 (2006.01)

(21)(22) Application: **2017118835, 30.05.2017**

(24) Effective date for property rights:
30.05.2017

Registration date:
23.07.2018

Priority:

(22) Date of filing: **30.05.2017**

(45) Date of publication: **23.07.2018** Bull. № 21

Mail address:

**672000, g. Chita, ul. Gorkogo, 39a, Chitinskaya
meditsinskaya akademiya, patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Namokonov Evgenij Vladimirovich (RU),
Shemyakina Nadezhda Anatolevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya Chitinskaya gosudarstvennaya
meditsinskaya akademiya Ministerstva
zdravookhraneniya rossijskoj federatsii (RU),
Negosudarstvennoe uchrezhdenie
zdravookhraneniya "Dorozhnaya klinicheskaya
bolnitsa na stantsii Chita-2 Otkrytogo
aktsionernogo obshchestva "Rossijskie zheleznye
dorogi" (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING MACROANGIOPATHIES OF THE LOWER EXTREMITIES IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to clinical biochemistry and surgery, and can be used to predict macroangiopathies of the lower extremities in patients with type 2 diabetes. Summary of invention consists in determining the content of methylglyoxal, free glutathione in blood of patients with type 2 diabetes mellitus, integrated values of methylglyoxal (P₁) and free glutathione (P₂) are calculated in relation to their content in the patient to

the mean in healthy individuals, prognostic coefficient (K) is calculated according to the ratio of integrated value of methylglyoxal (P₁) to value of free glutathione (P₂) and if value K is equal to 2.8 and higher, then risk of macroangiopathies of the lower extremities is predicted.

EFFECT: higher accuracy of prediction of risk of vascular complications.

1 cl, 1 tbl

Изобретение относится к области медицины, а именно к клинической биохимии и хирургии, и может быть использовано для прогнозирования развития макроангиопатий нижних конечностей у больных сахарным диабетом 2 типа.

Сахарный диабет (СД) 2-го типа - хроническое, прогрессирующее заболевание, течение которого сопровождается развитием макроангиопатий нижних конечностей у 30% больных [1, 3], с последующим образованием трофических язв на голени и стопе, что в половине случаев приводит к ампутации одной или обеих конечностей [8].

Известен способ прогнозирования риска развития диабетической ангиопатии нижних конечностей у больных сахарным диабетом 2 типа, при котором осуществляют выделение ДНК из периферической венозной крови, проводят анализ полиморфизма -308G/A гена фактора некроза опухоли α , и при выявлении аллеля -308A TNF α прогнозируют повышенный риск развития ангиопатии нижних конечностей у больных сахарным диабетом 2-го типа [6].

К недостаткам данного изобретения можно отнести то, что он недостаточно точен, так как TNF α - многофункциональный цитокин, обеспечивающий широкий спектр биологических процессов при различных патологических состояниях. Полиморфизм 308G/A гена фактора некроза опухоли α и выявление аллеля -308A TNF α может встречаться при других патологических процессах организма, таких как гипертоническая болезнь и синдром раздраженного кишечника [2, 5].

Прототипом для данного изобретения служит способ оценки течения раневого процесса при синдроме диабетической стопы [7], в основе которого лежит определение в сыворотке крови больных липопротеинов низкой плотности, малонового диальдегида, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Рассчитывают их интегральные показатели как отношение содержания указанных продуктов свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантных ферментов у больных к среднему значению их содержания у здоровых лиц. Вычисляют прогностический коэффициент путем отношения произведений интегральных показателей липопротеинов и малонового диальдегида к показателям глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы и при значении прогностического коэффициента равном или выше 3,0 прогнозируют неблагоприятное течение раневого процесса.

Предложенный способ длителен по времени проведения, трудоемкий, так как для его применения необходимо специальное оборудование и большое количество реактивов. Кроме того, эти лабораторные показатели могут быть результатом окислительных процессов при других патологических состояниях организма, что может отразиться на суточной динамике коэффициента соответственно суточным и циркадным ритмам, вводя в заблуждение врача.

К недостаткам способа можно отнести то, что в данном способе рассматриваются лишь активаторы и ингибиторы свободнорадикального процесса, развивающиеся при многочисленных патофизиологических реакциях, т.е. прогнозирование в вышеуказанном индексе проводится в рамках одной системы, что снижает достоверность прогноза.

Для повышения точности прогнозирования развития макроангиопатий нижних конечностей у больных с сахарным диабетом 2 типа в крови определяют содержание низкомолекулярного α -кетоальдегида метилглиоксаля и свободного глутатиона.

Рассчитывают их относительные величины по отношению к средним значениям у

здоровых лиц и вычисляют прогностический коэффициент (K) по формуле $K = \frac{P_1}{P_2}$,

где P_1 - соотношение относительного содержания метилглиоксаля у больных и здоровых

После чего производят расчет прогностического коэффициента (K) путем отношения показателей относительного содержания метилглиоксаля (P₁) к относительному

содержанию свободного глутатиона (P₂), по формуле: $K = \frac{P_1}{P_2}$, и при значении

коэффициента меньше 2,8 прогнозируют благоприятное течение заболевания, а при значении коэффициента равном и выше 2,8 прогнозируют развитие макроангиопатий нижних конечностей.

Выбор критериев для прогнозирования основан на том, что на фоне сахарного диабета гликирование белков усиливается, что связано с повышением уровня глюкозы и производных сахаридов как в плазме крови, так и в поврежденных сосудах. Это приводит к образованию конечных продуктов гликирования (КПК), которые являются основными триггерами в патогенезе сосудистых осложнений [1]. Реактивные соединения дикарбонила, такие как глиоксаль (Go), метилглиоксаль (MGo) и 3-DG, служат предшественниками основных остатков КПК в зонах развития сосудистых осложнений сахарного диабета. Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что интенсивность гликирования под действием метилглиоксаля нарастает при сахарном диабете. По-видимому, это обусловлено синтезом метилглиоксаля из триозофосфата, который накапливается в стенках сосудов вследствие гипергликемии. Активация полиольного пути метаболизма глюкозы приводит не только к генерации соединений дикарбонила, но и к снижению активности восстановленного глутатиона - основного антиоксиданта клетки. Свободный глутатион, способен деактивировать метилглиоксаль путем превращения его в лактат, данный процесс еще раз подтверждает общность оксидативного и карбонильного стрессов.

Способ прогнозирования развития макроангиопатий нижних конечностей у больных сахарным диабетом иллюстрируется следующими примерами.

1. Пример 1. Больной П., 59 лет, госпитализирован с диагнозом: Сахарный диабет 2 типа. Уровень гликированного гемоглобина HbA_{1c} ≤ 8%. Глюкоза крови натощак - 12 ммоль/л. При поступлении в стационар пациенту произведено исследование показателя кетоальдегида - метилглиоксаля (MGo) - 72,5 нг/мл, и свободного глутатиона - GSHfree

$$- 443 \text{ мкг/мл. } P_1 = \frac{MGo_i}{MGo_n} \frac{72}{36} = 2,0 \quad P_2 = \frac{GSHfree_i}{GSHfree_n} = \frac{443}{752} = 0,58$$

$$K = \frac{P_1}{P_2} \quad K = \frac{2,0}{0,58} = 3,44$$

У пациента K выше 2,8. Прогнозируют неблагоприятное течение заболевания с высоким риском развития макроангиопатий нижних конечностей.

В процессе лечения на 5 сутки появилось чувство онемения по медиальной поверхности левой голени в нижней трети, гиперемия кожных покровов. В последующем через 2 суток в этой области образовалась трофическая язва размером 1,2×2,0 см, покрытая фибрином.

Заключительный диагноз: Основной: Сахарный диабет 2 тип. Достигнутый уровень HbA_{1c} ≤ 7%. Макроангиопатия нижних конечностей. Осложнения: Трофическая язва левой голени, 1ст по Wagner.

Пример 2. Больная Н, 58 лет, госпитализирована с диагнозом: Сахарный диабет 2 типа. Целевой уровень гликированного гемоглобина HbA_{1c} ≤ 7%. При поступлении в клинику пациентке произведено исследование исследуемых показателей в сыворотке

крови: глюкоза крови - 9.4 ммоль/л, метилглиоксаль (MGo) - 68 нг/мл. Свободный глутатион - GSHfree=543 мкг/мл.

$$P_1 = \frac{MGo_i}{MGo_n} = \frac{68}{36} = 2.16 \quad P_2 = \frac{GSHfree_i}{GSHfree_n} = \frac{543}{752} = 0.72$$

$$K = \frac{P_1}{P_2} \quad K = \frac{2.16}{0.72} = 3.0$$

Так как $K=3.0 (>2.8)$, прогнозирована высокая вероятность развития сосудистых осложнений нижних конечностей. С целью коррекции выявленных нарушений назначено внутривенное введение дезагрегантов. Несмотря на проводимое лечение, на девятые сутки появилось чувство онемения в пальцах обеих стоп, на тыле правой стопы появилась трофическая язва 0.5×1.2 см.

Заключительный диагноз. Сахарный диабет 2 тип. Достигнутый уровень HbA1c $\leq 7\%$. Осложнение: Синдром диабетической стопы. Трофическая язва правой стопы, 1ст по Wagner. Выписана на амбулаторное лечение. Подключены препараты с антиоксидантной активностью, гипербарическая оксигенация, местное лечение язвы антисептиками. На 24 сутки язва зажила вторичным натяжением. В эти сроки: глюкоза крови - 11.2 ммоль/л, метилглиоксаль (MGo) - 40 нг/мл, свободный глутатион - GSHfree=687 мкг/мл.

$$P_1 = \frac{MGo_i}{MGo_n} = \frac{40}{36} = 1.11 \quad P_2 = \frac{GSHfree_i}{GSHfree_n} = \frac{687}{752} = 0.91$$

$$K = \frac{P_1}{P_2} \quad K = \frac{1.11}{0.91} = 2.02$$

Пример 3. Больной К., 52 лет, госпитализирован с диагнозом: Сахарный диабет 2 типа. При поступлении пациенту произведено исследование показателя глюкозы крови, уровней метилглиоксаля и свободного глутатиона в сыворотке крови. Глюкоза крови - 6.9 ммоль/л, глиоксаль (MGo) - 39 нг/мл, свободный глутатион - GSHfree=669 мкг/мл.

$$P_1 = \frac{MGo_i}{MGo_n} = \frac{39}{36} = 1.08 \quad P_2 = \frac{GSHfree_i}{GSHfree_n} = \frac{669}{752} = 0.88$$

$$K = \frac{P_1}{P_2} \quad K = \frac{1.08}{0.88} = 1.22$$

В процессе лечения и последующего наблюдения никаких воспалительных и ишемических расстройств со стороны нижних конечностей выявлено не было. Следовательно, исследование показателей метилглиоксаля и свободного глутатиона в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа позволяет прогнозировать возможность развития сосудистых осложнений нижних конечностей на стадии доклинических проявлений и вносить необходимую коррекцию в план лечения.

Предложенный способ прогнозирования развития макроангиопатий нижних конечностей апробирован у 30 пациентов с сахарным диабетом 2 типа

Прогнозирование макроангиопатии нижних конечностей

Группы	К-во б-ных (n)	К	Прогноз	Осложнение (боль, онемение, трофическая язва) (абс/%)
I	21	2,81±0,10	Неблагоприятный	19/90
II	9	2,51±0,28	Благоприятный	1/11,1

Таким образом, чувствительность предлагаемого способа прогнозирования составляет - $19/21 \times 100 = 90,5\%$, точность - $8 + 19/30 \times 100 = 89,0\%$, специфичность - $8/9 \times 100 = 88,9$.

Литература

1. Антонова К.В. Антиоксидантные эффекты Пробукола в комплексной терапии сахарного диабета 2-го типа / К.В. Антонова, Л.В. Недосугова, М.И. Балаболкин и др. // Проблемы эндокринологии.- 2008. - Т. 54, №4. - С. 7-10.

2. Иванова Е.Л. Полиморфизм генов цитокинов IL-1Ra, IL-1b, IL-4, TNF α и изменения микробного спектра кишечника у больных синдромом раздраженного кишечника Е.Л. Иванова, А.С. Сарсенбаева, Д.С. Сташкевич, Н.З. Жамалдинова // <http://dkmsc.ru/genetika/item/42-polimorfizm-genov-tcitokinov-il-1ra-il-1b-il-4-tnfa-i-izmeneniia-mikrobnogo-spektra-kishechnika-u-bol-ny-kh-sindromom-razdrazhennogo-kishechnika>.

3. Дутов А.А., Никитин Д.А., Шемякина Н.А. Простой ВЭЖХ метод анализа глиоксаля и метилглиоксаля в плазме // EuropeanJournalofAnalyticalandAppliedChemistry №1, 2017 С. 14-20.

4. Дутов А.А., Шемякина Н.А., Простой ВЭЖХ-анализ глутатиона в эритроцитах» - / Н.А. Шемякина, А.А. Дутов // Вопросы медицинской и фармацевтической химии №6. 2015 г. - С. 12-15.

5. Патент RU 2580310 G01N 33/48. Способ прогнозирования гипертонической болезни у индивидуумов, имеющих наследственную отягощенность. / Чурносов Михаил Иванович, Кривошей Ирина Васильевна, Алферов Петр Константинович, Полоников Алексей Валерьевич; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Белгородский государственный национальный исследовательский университет" (НИУ "БелГУ") - №2014151179/15, заявл. 17.12.2014, опубликовано 10.04.2016 Бюл. №10.

6. Патент RU 2507520 C1. Способ прогнозирования риска развития диабетической ангиопатии нижних конечностей у больных сахарным диабетом 2 типа / Чурносов Михаил Иванович, Белоусова Оксана Николаевна, Сиротина Светлана Сергеевна, Чурносова Юлия Юрьевна; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Белгородский государственный национальный исследовательский университет" - №: 2012155169/15, заявлено 18.12.2012, опубликовано 20.02.2014. Бюл. №5.

7. Патент RU 256601, МПК G01N 33/49. Способ оценки течения раневого процесса при синдроме диабетической стопы / Е.В. Намоконов, А.М. Мироманов, С.Т. Кохан; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Минздрава России - №2010150054/15, заявл. 06.12.2010 г. Опубликовано 20.07.2012.

8. Пашина С.Н. Клинические и гемолимфатические нарушения при гнойно-деструктивных процессах у больных с синдромом диабетической стопы / С.Н. Пашина

// Автореф. ... канд. мед. наук. - Новосибирск. - 2007. - 20 с.

9. Патент РФ 2423694, МПК G01N 33/48. Способ прогнозирования развития воспалительного процесса. / Мироманов А.М., Намоконов Е.А., Мироманова Н.А., Кохан С.Т., Давыдов С.О.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Минздрава России - №2009107401/15, заявл. 02.03.2009. Опубликовано 10.07.2011 г.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования макроангиопатий нижних конечностей у больных сахарным диабетом 2 типа, включающий определение продуктов перекисного окисления липидов крови, отличающийся тем, что в крови больных определяют уровень метилглиоксаля и свободного глутатиона, рассчитывают относительные показатели содержания метилглиоксаля (P1) и свободного глутатиона (P2) в крови больных по отношению к их среднему содержанию в крови здоровых лиц по формуле:

$$P_1 = \frac{MGoi}{MGon} \text{ и}$$

$$P_2 = \frac{GSHfreei}{GSHfreen},$$

где

MGoi - содержание метилглиоксаля (нг/мл) в крови больных сахарным диабетом 2 типа;

MGon – содержание метилглиоксаля (нг/мл) в крови здоровых лиц;

GSHfreei - содержание свободного глутатиона (мкг/мл) в крови больных сахарным диабетом 2 типа;

GSHfreen - содержание свободного глутатиона (мкг/мл) в крови здоровых лиц, вычисляют прогностический коэффициент по формуле:

$$K = \frac{P_1}{P_2},$$

и при значении коэффициента равном или более 2,8 прогнозируют развитие макроангиопатий.