



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **101**

(51) **МПК⁸ G01N 21/35,**
G01N 33/49

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**

К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 0700087

(22) 21.10.2005

(46) Бюл.49 (1), 2008

(71) Шукуров Т. (ТJ); Набиев М.Х. (ТJ);. Юсупова Ш.Ю. (ТJ).

(72) Шукуров Т. (ТJ); Набиев М.Х. (ТJ);. Юсупова Ш.Ю. (ТJ).

(73) Шукуров Т. (ТJ); Набиев М.Х. (ТJ);. Юсупова Ш.Ю. (ТJ).

(56) Heise H.M. and Krusse - Jarres, J.D. Multivariate determination of sae in whole blood by attenuated total reflection infrared spectroscopy. Anal. Chem. 1989, 61, p.2009-2015.

(54) **СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ САХАРНОГО ДИАБЕТА.**

(57) Изобретение относится к медицине, а именно к хирургической эндокринологии и может быть использовано для ранней диагностики степени выраженности различных форм синдрома диабетической стопы (СДС), а также контроля эффективности лечения сахарного диабета.

2

Целью изобретения является своевременная диагностика различных форм СДС путем анализа спектров плазмы крови больных сахарным диабетом на молекулярном уровне, на ранних стадиях заболевания и возможности коррекции клинических проявлений СДС, путем контроля курса лечения методом инфракрасной (ИК) спектроскопии, и разработка более доступного метода для стандартизации.

Для достижения поставленной цели, во время обследования пациентов с диагнозом сахарным диабетом производится забор крови, выделяется плазма и регистрируется ИК-спектры в диапазоне частот 400 - 1800 см⁻¹. Полученный ИК -спектр сопоставляется с эталонным спектром, в качестве которого используется спектры плазмы крови здоровых пациентов. В зависимости от изменения форм и интенсивности ИК полос поглощения «АМИД - 1», и «АМИД - 2», и появление дополнительной полосы при 1720 см⁻¹, определяют различные формы СДС при сахарном диабете.

Изобретение относится к медицине, а именно к хирургической эндокринологии и может быть использовано для ранней диагностики степени выраженности различных форм синдрома диабетической стопы (СДС), а также контроля эффективности лечения.

Имеется работа [1], в которой исследованы инфракрасные (ИК) спектры плазма крови и по увеличению интенсивности полосы поглощения глюкозы, с частотой максимумом ($V_{\text{Max}} = 1036 \text{ см}^{-1}$) определяют уровень сахара в крови, который может служить прототипом.

Сущность данной работы заключается в следующем:

С утра натощак у больных СД делается забор крови ($1,0 \div 2,0$ мл), из локтевой вены. Затем центрифугируют, для исследования ИК спектров используют верхний слой. Определенное количество плазмы заливают в специальной жидкостной кювете и устанавливают в приставку полного внутреннего отражения (ППВО), и записывают спектры ИК отражения. Запись ИК спектров осуществляется на стандартном Фурье - спектрофотометре. Таким же способом, выделяют плазму и записывают ИК спектры отражения здорового пациента (донора). Полученные ИК спектры сопоставляют между собой и по увеличению интенсивности полосы отражения глюкозы, с частотой максимумом ($V_{\text{Max}} = 1036 \text{ см}^{-1}$) больных, по сравнению с интенсивностью тех же полос донора, определяют уровень сахара в крови.

Недостатком прототипа являются:

в - первых, в составе крови очень большое содержание воды (до 80%) и гидроокисильные группы, которые по частоте отражения лежат в этой же области частот, которые могут вносить искажение в полосу глюкозы;

во вторых - полоса глюкозы (1036 см^{-1}) несет информацию только об уровне сахара в крови, но она не дает информацию относительно степени выраженности различных форм поздних диабетических осложнений, следовательно, она не может служить критерием для диагностики поздних диабетических осложнений, при СДС;

в - третьих, требуется дополнительное приспособление, ППВО.

Таким образом, имеющая работа [1] только констатируют наличие патологического процесса при СД, но не определяет различных форм степень поражения при СДС, тем более, не могут служить объективным критерием для диагностики и эффективности курса проводимой лечение.

Цель настоящего изобретения является ранняя диагностика различных форм и степени нарушений поздних диабетических осложнений, а именно СДС, повышение точности диагностики, объективной оценки эффективности курса проводимого лечения на молекулярном уровне.

Способ осуществляется следующим образом.

С утра натощак также у больных СД делается забор крови $1,0 \div 2,0$ мл, из локтевой вены. Затем центрифугируют, для исследования используют верхний слой. Для регистрации ИК спектров достаточно $0,01$ мл плазма крови, который наносится на заданной поверхности оптический подложки из монокристалла KRS - 5, равномерно распределяют по всей поверхности и высушиваются в термостате, при температуре $40 \pm 1^\circ\text{C}$. После выпаривания воды на поверхности оптической подложки образуется тонкая пленка, затем записываются ИК спектры поглощения образовавшейся тонкой пленки в диапазоне частот $1800 - 400 \text{ см}^{-1}$. Время подготовки проб для регистрации спектра занимает около 20 мин, записи спектра около 10 мин. Регистрация ИК спектров проводится на стандартном двухлучевом спектрофотометре. Полное время для получения спектра и установления диагноза составляет около 40 мин.

Для диагностики различных форм поздних диабетических осложнений, при СДС, полученные спектры ИК полос поглощения плазмы крови больных, (фиг. 1, кривая 1-3), сопоставляют со спектром эталонного образца (фиг.1, кривая 4). В качестве эталонного образца используются плазмы крови здоровых пациентов (донор). Вышеописанным способом записывают спектры ИК полос поглощения эталонного образца. В зависимости от изменения форм, соотношения интенсивностей и положения V_{Max} ИК полос поглощения 1650 и 1540 см^{-1} , относительно тех же полос поглощения донора, определяются различные формы СДС.

Для решения поставленных задач было выбрано 32-больных СД в возрасте от 19 до 81 лет. Среди них 20-женщин (- 62,5 %), 12-мужчин (37,5 %). У 28(87,5%) больных отмечался СД 2 - типа, у 4(12,5%) СД 1 -типа. Уровень гипергликемии в среднем составил $13,1 \text{ ммоль/л}$. Длительность заболевания СД составляет от 1 до 25 лет. Впервые выявленный СД у 6(18,7%) чел. Больные с СДС составили 26(81,3%) чел. Муж- 11(42,3%), жен-15(57,7%). Среди них больные с ишемической формой СДС-6(23,1 %), нейропатической формой-8(30,7%) и смешанной формой-12(46,2%) больных, здоровые пациенты (доноры)-5 чел.

Все больные с СДС в комплексном лечении получали антибактериальную, общеукрепляющую, сахарокорректирующую, антикоагулянтную, антиагрегантную и методы гемоквантовой терапии.

Исследуя ИК спектры плазма крови больных с впервые выявленным СД и больных осложненных форм СДС, получавших профилактическое лечение, мы обнаружили специфические изменения в полосах поглощения «АМИД - 1» и «АМИД - 2».

Для изучения особенностей клинической картины и достижения поставленной цели, исследо-

ванные больные были разделены на 3 группы: 1) больные с СД - впервые выявленный, 2) больные с СДС - осложненных форм (диабетическая стопа 2 - 4 ст.), 3) здоровые люди (доноры). Сравниваемые группы были подобраны адекватно по количеству больных; возрастно-половому составу, по форме тяжести, длительности заболевания, клиническим проявлениям и лабораторным показателям при поступлении больных в стационар.

Пример 1. Больной Н. 72 лет. Жалобы на сильные боли, почернения в области пальцев левой стопы, наличие раны по латеральной поверхности стопы со зловонным запахом, гнойное отделяемое. Отеки, сухость во рту жажда, утомляемость, общая слабость.

Диагноз: Диабетическая стопа 3 ст слева, ишемическая форма. Сахарный диабет 2 тип, тяжелая форма в стадии декомпенсации. Диабетическая макромикрангиопатия.

Длительность СД 20 лет. Гликемия: 10.9-14.2 - 18.3 ммоль/л. Пульсация на артериях стопы и голени отсутствует. Болевая, тактильная, вибрационная чувствительность сохранена. УЗДГ - на артериях голени кровотоков не регистрируется.

Сделан натошак забор крови, выделена плазма и записаны ИК спектры плазмы крови, фиг. 1 (крив. 1). Наблюдаются изменения соотношений интенсивностей полос поглощения с V_{Max} 1650 и 1550 cm^{-1} , а также увеличена интенсивность полосы глюкозы (V_{Max} = 1035 cm^{-1}). В области частот 1720 cm^{-1} наблюдаются следы слабого пика, которая отсутствует в спектрах донора. Проведен полный курс лечения. Полное совпадение со спектром донора не наблюдается.

Пример 2 . Больная Г. 61 лет. Жалобы на боли и наличие раны в области 1-2 пальца правой стопы, сухость во рту, жажду, утомляемость, общая слабость.

Диагноз: Диабетическая стопа 2 ст. справа, смешанная форма. Сахарный диабет 2 тип, тяжелая форма в стадии декомпенсации. Диабетическая макромикрангиопатия, полинейропатия.

Длительность СД 16 лет. Гликемия: 11.2-14.2-18.0 ммоль/л. Пульсация на передней тибиальной артерии отсутствует, на задней тибиальной артерии ослаблена. Болевая, тактильная, вибрационная чувствительность снижена. УЗДГ на передней тибиальной артерии кровотоков не регистрируется.

Проведено забор крови и записаны ИК спектры. Кроме характерного увеличения интенсивности полосы глюкозы 1035 cm^{-1} , наблюдается существенное изменение форм и интенсивности полос «АМИДНЫХ» - групп, по сравнению с теми же полосами донора. Вместо дублетной полосы наблюдается полоса с V_{Max} при 1510 cm^{-1} , фиг. 2 (крив.1). Полученные ИК спектры и их сопоставление показывают, что они по сравнению со спектром донора и ишемической формы существенно отличаются.

Проведен полный курс лечения. Полоса 1510 cm^{-1} разделяется на дублет «АМИД - 1» и «АМИД - 2», характерный ИК спектрам плазмы донора, фиг. 2 (крив.2 и 3), однако по соотношению интенсивностей полос они отличаются от тех же полос донора. Полное совпадение ИК полос поглощения «АМИД»-ных групп с теми же полосами донора не наблюдаются, хотя уровень сахара в крови снизилась до нормы, и по интенсивности пик глюкозы 1035 cm^{-1} совпадает с пиком донора, фиг. 2 (крив. 3).

Пример 3. Больная Т, 46 лет. Жалобы на наличие раны в пяточной области и правой стопы, отеки, сухость кожи, гиперкератозы.

Диагноз: Диабетическая стопа 2 степени справа, нейропатическая форма. Сахарный диабет 2-типа, тяжелая форма в стадии декомпенсации. Диабетическая полинейропатия.

Длительность СД 10 лет. Гликемия: 7.9-10.4—13.9 -17.1 ммоль/л. Пульсация на артериях нижних конечностей сохранено. Болевые, тактильные и вибрационная чувствительность снижена. УЗДГ - неизмененный кровоток.

Был произведен натошак забор крови и сняты ИК спектры плазмы фиг. 1 (крив.3). Наблюдается существенное изменение форм и интенсивности полос поглощения, лежащие в области частот 1800 - 400 cm^{-1} от полос донора. Полоса поглощения с V_{Max} 1650 и 1540 cm^{-1} сильно изменена по сравнению с теми же полосами донора, а также увеличена интенсивность полосы глюкозы 1035 cm^{-1} .

Поведен полный курс лечения, ИК полосы поглощения по форме приближаются к полосам донора, уровень сахара в крови нормализуется, однако различия в соотношении интенсивностей полос 1650 и 1540 cm^{-1} сохраняются.

Пример 4. Больная - А. 39 лет. Жалобы на жажду, сухость во рту, учащенное мочеиспускание, прибавку веса, утомляемость.

Диагноз: Впервые выявленный сахарный диабет 2-тип, легкая форма в стадии компенсации. Сахар крови 7,8 ммоль/л.

Были записаны ИК спектры плазма крови. Интенсивность полосы глюкозы 1035 cm^{-1} увеличена, по сравнению с полосой донора. Наблюдается также изменение форм и интенсивности ИК полос поглощения с V_{Max} 1650 и 1540 cm^{-1} . Проведен полный курс лечения, достигнута стабилизация нормогликемии. Интенсивность полосы 1035 cm^{-1} возвращается в норму, т. е. по интенсивности совпадает с полосой донора. Однако, наблюдаемые изменения ИК полос поглощения «АМИДНЫХ» - групп с V_{Max} 1650 и 1540 cm^{-1} , полностью не возвращаются в норму, т. е. по форме и соотношения интенсивности полос не совпадают с теми же полосами донора. Сравнительный анализ данных полос могут служить объективным критерием для оценки эффективности курса проводимого лечения, которые являются еще одним преимуществом предложенного способа.

Таким образом, полученные результаты из анализа спектров ИК полос поглощения плазма крови больных СД и их сопоставления, показывают о существенном отличии форм и интенсивности ИК полос поглощения «АМИД -1» и «АМИД - 2», от тех же полос поглощения донора. Полученные результаты могут служить диагностическим критерием при определении различных форм СДС и

определяют критерию «новизны», которое до настоящего времени не использовалось в практической медицине.

Заявляемый способ диагностики различных форм СДС по сравнению с известными способами является более простым, быстрым, высокоинформативным и дешевым, не требующего химреактивов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ диагностики сахарного диабета, включающий запись спектров плазмы крови больных сахарным диабетом, **отличающийся тем, что** записывают спектры ИК полос поглощения при поздних осложнениях сахарного диабета, сопо-

ставляют со спектрами плазмы крови донора и в зависимости от изменения форм, положения частоты максимума и соотношения интенсивности характеристических полос поглощения ставят диагноз.

Компьютерный набор: Назарова Дж.

Заказ

Тираж

Подписное

Национальный патентно-информационный центр РТ
734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а.