



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/49 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2021116045, 03.06.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
03.06.2021

Дата регистрации:
21.04.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 03.06.2021

(45) Опубликовано: 21.04.2022 Бюл. № 12

Адрес для переписки:

634050, г. Томск, Московский тракт, 2, ФГБОУ
ВО "СГМУ", Отдел интеллектуальной
собственности и внедрения

(72) Автор(ы):

Саприна Татьяна Владимировна (RU),
Мусина Надежда Нурлановна (RU),
Прохоренко Татьяна Сергеевна (RU),
Зима Анастасия Павловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Сибирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: Мусина Н.Н. и др. Поиск
дополнительных маркеров нарушения
феррокинетики при сахарном диабете,
Проблемы эндокринологии. 2020. Т. 66. N 2.
С. 61-70. RU 2538722 C1, 10.01.2015. RU 2667471
C1, 19.09.2018. UA 80889 U, 10.06.2013. UZ 5450
C, 29.09.2017. Марусенко И.М. и др.
Особенности диагностики и течения
анемического синдрома у больных
ревматоидным (см. прод.)

(54) Способ дифференциальной диагностики анемического синдрома при сахарном диабете 1 и 2 типа

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к клинической лабораторной диагностике. Для дифференциальной диагностики анемического синдрома при сахарном диабете 1 и 2 типа проводят определение параметров метаболизма железа; в случаях снижения содержания железа в сыворотке менее 12,5 мкмоль/л в сочетании с концентрацией ферритина в крови ≥ 30 нг/мл у пациентов с сахарным диабетом для дифференциальной диагностики железodefицитной анемии (ЖДА) и анемии хронических заболеваний (АХЗ) дополнительно определяют: СОЭ, количество лейкоцитов, уровень микроальбуминурии (МАУ),

концентрацию рТФР, рассчитывают индекс рТФР/логФерритин; при повышении СОЭ $\geq 26,5$ мм/час, повышении количества лейкоцитов крови $\geq 7,5 \times 10^9$ /л и увеличении МАУ $\geq 29,5$ мг/л диагностируют АХЗ; при повышении концентрации рТФР $\geq 1,42$ нг/мл и индекса рТФР/логФерритин $\geq 1,48$ диагностируют ЖДА; при расхождении результатов дополнительных маркеров и получении данных в пользу как АХЗ, так и ЖДА диагностируют анемию сложного генеза (ЖДА+АХЗ). Способ позволяет эффективно и быстро провести дифференциальную диагностику вида анемического синдрома (ЖДА и АХЗ) у

пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, что 2 табл., 4 пр.
обеспечивает правильный выбор терапии. 3 ил.,

(56) (продолжение):

артритом. Научно-практическая ревматология. 2009; 47(6):26-31. Wright J.A. et al. Presence and Characterisation of Anaemia in Diabetic Foot Ulceration, Anemia. 2014; 2014: 104214.

R U 2 7 7 0 7 4 4 C 1

R U 2 7 7 0 7 4 4 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G01N 33/49 (2021.08)

(21)(22) Application: **2021116045, 03.06.2021**

(24) Effective date for property rights:
03.06.2021

Registration date:
21.04.2022

Priority:

(22) Date of filing: **03.06.2021**

(45) Date of publication: **21.04.2022** Bull. № 12

Mail address:

**634050, g. Tomsk, Moskoskij trakt,2, FGBOU VO
"SGMU", Otdel intellektualnoj sobstvennosti i
vnedreniya**

(72) Inventor(s):

**Musina Nadezhda Nurlanovna (RU),
Prokhorenko Tatiana Sergeevna (RU),
Zima Anastasiia Pavlovna (RU),
Zima Anastasiya Pavlovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia «Sibirskii gosudarstvennyi
meditsinskii universitet» Ministerstva
zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ANEMIA SYNDROME IN TYPE 1 AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to the field of medicine, namely to clinical laboratory diagnostics. For the differential diagnosis of anemic syndrome in type 1 and type 2 diabetes, the parameters of iron metabolism are determined; in cases of a decrease of iron content in serum to less than 12.5 mmol/l in combination with the concentration of ferritin in the blood of ≥ 30 ng/ml in patients with diabetes mellitus, for the differential diagnosis of iron deficiency anemia (IDA) and anemia of chronic diseases (ACD), the following are additionally determined: ESR, the number of leukocytes, the level of microalbuminuria (MAU), the concentration of rTGF, the rTGF/log Ferritin index is

calculated; with an increase in $ESR \geq 26.5$ mm/hour, an increase in the number of blood leukocytes $\geq 7.5 \times 10^9/l$ and an increase in $MAU \geq 29.5$ mg/l, ACD is diagnosed; with an increase in the concentration of $rTGF \geq 1.42$ ng/ml and the $rTGF/\log$ Ferritin index ≥ 1.48 , IDA is diagnosed; if the results of additional markers differ and data are obtained in favor of both ACD and IDA, anemia of complex genesis (IDA + ACD) is diagnosed.

EFFECT: method provides for effective and rapid differential diagnosis of the type of anemia syndrome (IDA and ACD) in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus, which ensures the correct choice of therapy.

1 cl, 3 dwg, 2 tbl, 4 ex

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической лабораторной диагностике, и может быть использовано для дифференциальной диагностики анемии хронических заболеваний (АХЗ) и железодефицитной анемии (ЖДА) у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа с целью выбора оптимальной тактики лечения анемии.

5 Анемия является распространенным и не всегда своевременно диагностируемым осложнением сахарного диабета 1 и 2 типа, которое оказывает влияние на развитие и прогрессирование хронической микроангиопатии, а также сердечно-сосудистой патологии. В качестве основного фактора развития анемического синдрома при сахарном диабете традиционного рассматривается диабетическая нефропатия, 10 выраженность которой нарастает по мере прогрессирования хронической болезни почек (ХБП) [1-6]. Механизм развития нефрогенной анемии считается хорошо изученным и обусловленным нарушением продукции эндогенного эритропоэтина (ЭПО). Ингибирующее влияние на синтез ЭПО при сахарном диабете оказывают хроническое воспаление с гиперпродукцией цитокинов и провоспалительной активацией 15 клеток клубочкового и канальцевого аппаратов почек, а также автономная нейропатия за счет нарушения механизма обратной связи между оксигенацией ткани почек и синтезом ЭПО [7]. Другим важным фактором развития анемии при сахарном диабете является нарушение синтеза регулятора обмена железа, гепсидина - аминокислотного пептида, продуцируемого гепатоцитами и в меньшей степени адипоцитами, макрофагами, 20 β -клетками поджелудочной железы и клетками почек. Ввиду сложного механизма регуляции, направленность изменения продукции гепсидина у пациентов с сахарным диабетом остается непредсказуемой и в целом не имеет прямой зависимости ни от длительности заболевания, ни от наличия и степени прогрессирования его осложнений.

В современной клинической практике дифференциальная диагностика различных 25 видов анемического синдрома является актуальным вопросом, поскольку подходы к лечению ЖДА и АХЗ принципиально различаются. На сегодняшний день в России не представлено клинических рекомендаций по диагностике и лечению нарушений обмена железа у пациентов с сахарным диабетом, не существует алгоритма дифференциальной диагностики анемического синдрома для данной когорты больных. При этом сложный 30 механизм взаимного влияния метаболических нарушений, хронического низкоинтенсивного воспаления, специфических осложнений сахарного диабета (диабетическая нефропатия) и феррокинетики значительно затрудняет диагностику анемии и оставляет нерешенным вопрос относительно эффективности использования общепопуляционных пороговых значений диагностических маркеров ЖДА и АХЗ в 35 данной когорте пациентов.

В клинической практике используются разработанные для общей популяции Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению железодефицитной анемии [8], Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению анемии хронических заболеваний [9], а также критерии Всемирной Организации 40 Здравоохранения (ВОЗ) [10-12]. Согласно данным документам, диагноз анемия устанавливается в случае снижения уровня гемоглобина ниже 130 г/л у мужчин и ниже 120 г/л у небеременных женщин. Критериями ЖДА являются микроцитоз и гипохромия эритроцитов, в биохимическом анализе крови - снижение концентрации сывороточного железа менее 12,5 мкмоль/л, повышение общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) более 69 мкмоль/л, снижение коэффициента насыщения 45 трансферрина железом (НТЖ) менее 17% и снижение концентрации сывороточного ферритина менее 30 нг/мл (или мкг/л). В последние годы отмечается возможность определения растворимых трансферриновых рецепторов (рТФР), концентрация которых

в условиях дефицита железа увеличивается более 2,9 мкг/мл [9]. В пользу АХЗ в дифференциальной диагностике анемического синдрома, согласно действующим рекомендациям, свидетельствуют нормальный или повышенный уровни сывороточного ферритина ≥ 30 нг/мл, НТЖ $\geq 17\%$, нормальная или сниженная ОЖСС ≤ 69 мкмоль/л, нормальный уровень рТФР [9].

Применение рТФР в клинической практике ограничивается отсутствием доступных коммерческих тест-систем и стандартизации в педиатрической практике.

Использование гепсидина в качестве диагностического маркера, с одной стороны, представляется весьма перспективным, с учетом его ведущей роли в патогенезе АХЗ, с другой стороны сомнительным, ввиду сложного механизма регуляции, особенно у лиц с патологией углеводного обмена.

Диагностическая ценность ферритина ограничена его ролью в острофазовом ответе. Известно, что сахарный диабет характеризуется провоспалительным иммунным статусом и сопровождается повышением уровня циркулирующих цитокинов: патогенез сахарного диабета 1 типа ассоциирован с органоспецифическим воспалением аутоиммунного характера, которое приводит к повреждению и гибели β -клеток поджелудочной железы [13-15], а наличие хронического субклинического воспаления при сахарном диабете 2 типа, как правило, рассматривается с точки зрения воспалительной активности, индуцируемой жировой тканью [16-19].

Коэффициент НТЖ, предлагаемый авторами действующих клинических рекомендаций для дифференциальной диагностики типа анемии, может быть снижен как при ЖДА, так и при АХЗ, в связи с чем не играет большой роли в дифференциальной диагностике [20-21].

Данные о морфологических характеристиках эритроцитов при АХЗ тоже достаточно неоднозначны. Согласно клиническим рекомендациям, АХЗ является микроцитарной и нормохромной, однако при длительном течении с более выраженным воспалительным компонентом в ее этиологии, становится более гипохромной [9]. В то же время ряд исследователей, данный тип анемии относят к нормоцитарным и нормохромным [20-23].

Особенно проблематичными в отношении диагностики являются случаи сочетания АХЗ и ЖДА, которые довольно часто встречаются у пациентов с сахарным диабетом, с учетом высокой распространенности в этой когорте больных ХБП, а также гипергликемии и хронического низкоинтенсивного воспаления. Следовательно, для пациентов с сахарным диабетом должны быть предложены дополнительные индикаторы состояния запасов железа и прогноза эффективности терапии анемического синдрома.

Известен способ дифференциальной диагностики железодефицитной анемии и анемии хронических заболеваний [24], согласно данному способу, для дифференциальной диагностики железодефицитной анемии и анемии хронических заболеваний больному дважды определяется уровень сывороточного железа - до и через 3 часа после приема внутрь 20 мг железа с последующим вычислением его прироста относительно исходного уровня. При увеличении уровня сывороточного железа свыше 30% от исходного диагностируют железодефицитную анемию. При увеличении уровня сывороточного железа от 0 до 30% диагностируют анемию хронических заболеваний.

Недостатком способа является длительность выполнения исследования. Кроме того, представляется сомнительным достаточный прирост сывороточного железа в ответ на нагрузку железом в дозе, меньшей средней терапевтической в 5-10 раз (100-200 мг/сутки). Способ имеет ограниченное применение, нет данных относительно информативности применения способа в когорте больных сахарным диабетом.

Известен способ дифференциальной диагностики железодефицитной анемии и анемии хронических заболеваний [25], включающий исследование сыворотки крови с помощью иммуноферментного анализа, отличающийся тем, что определяют уровень гепсидина-25 и при увеличении его значения более 11,8 нг/мл диагностируют анемию хронических заболеваний, а при снижении его значения менее 4,33 нг/мл диагностируют железодефицитную анемию.

Недостатком способа является отсутствие в описании патента методологии определения отрезных значений гепсидина для ЖДА и АХЗ: приводятся полученные средние значения гепсидина у пациентов с ЖДА и АХЗ, не соответствующие заявленным дифференциально-диагностическим уровням, полученным в результате проведенного исследования. Ограничения способа информативность полученных отрезных точек в дифференциальной диагностике видов анемии не исследовалась в когорте пациентов, страдающих сахарным диабетом. Сложный механизм регуляции гепсидина и разнонаправленность нарушений его продукции при сахарном диабете требуют уточнения информативности исследования данного маркера в диагностике АХЗ и ЖДА. Еще одним недостатком способа является тот факт, что определение гепсидина-25 не выполняется в большинстве лабораторий в рамках рутинной клинической практики.

Известен также способ дифференциальной диагностики анемий [26], который осуществляют в виде двухэтапного алгоритма, на основе показателей общего анализа крови: первый скрининг - по уровню среднего содержания гемоглобина в эритроците (МСН) или цветного показателя, второй скрининг - по уровню ретикулоцитов. При выявлении уровня МСН или цветного показателя выше нормы диагностируют В12- или фолиеводефицитную анемию, при выявлении уровня МСН или цветного показателя ниже нормы - железодефицитную анемию, талассемию, железонасыщенные или железоперераспределительные анемии. При выявлении уровня ретикулоцитов выше нормы диагностируют кровопотерю, гемолиз, восстановление ранее поврежденного эритропоэза или метастазы опухоли в костный мозг, при выявлении уровня ретикулоцитов ниже нормы - В12- или фолиеводефицитную анемию или апластическую анемию.

Недостатком способа является отсутствие указания на алгоритм дифференциальной диагностики видов анемии в случае выявления нормальных значений МСН. Как уже отмечалось, АХЗ в ряде случаев может иметь нормохромный, нормоцитарный характер. Еще одним недостатком способа является отсутствие четких критериев диагностики ЖДА и АХЗ, способ фактически позволяет выявить только направление диагностического поиска при анемии. Информативность применения способа не оценивалась при сахарном диабете.

Известен способ дифференциальной диагностики анемии у детей [27] который заключается в том, что на гематологическом анализаторе определяют показатели гемограммы и индексы красной крови, такие как: гемоглобин (НВ) и гемоглобин ретикулоцитов (Ret-He), а в сыворотке крови определяют уровень растворимого рецептора трансферрина (рТФР), эритропоэтина сыворотки (ЭПО), сравнивают полученные показатели с референсными интервалами. При значениях: НВ<120 г/л, рТФР<25 нМЕ/мл, Ret-He>29 пг, ЭПО≤21 мМЕ/мл делают вывод об анемии на фоне воспаления (АВ). При значениях: НВ<120 г/л, рТФР>25 нМЕ/мл, Ret-He<29 пг, ЭПО>50 мМЕ/мл делают вывод о железодефицитной анемии (ЖДА), а при промежуточных значениях, попадающих в интервалы, характеризующие ЖДА или АВ, говорят о сочетанном варианте АВ+ЖДА.

Недостатком способа является ограниченность его применения только в

педиатрической практике. Еще одним недостатком способа является использование тест-систем, определяющих уровень рТФР в единицах измерения, отличных от единиц измерения, представленных в клинических рекомендациях [8, 9] и большинстве опубликованных в России работ. Определение эритропоэтина является достаточно

5 дорогостоящим и не используется широко в рутинной клинической практике.
Наиболее близким к заявляемому техническому решению по технической сущности и достигаемому техническому результату является способ диагностики нарушений обмена железа у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типов (железодефицитная анемия, анемия хронических заболеваний, дисметаболическая перегрузка железом). [28]. В

10 общей когорте пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа для диагностики анемии хронических заболеваний предложено определение маркеров: СОЭ - при диагностическом пороге 15,5 мм/ч и СРБ - при диагностическом пороге 5,2 нг/мл. Недостатком способа является высокая диагностическая значимость определения гепсидина для диагностики анемии хронических заболеваний, но только для лиц с

15 сахарным диабетом 2 типа: чувствительность 71%, специфичность 52% при диагностическом пороге 6545,5 пг/мл. Стоит отметить, что использование данного маркера в клинической практике ограничено отсутствием доступных коммерческих тест-систем, использованием различных тест-систем с различными единицами измерения маркера.

20 Технической задачей изобретения является разработка способа дифференциальной диагностики видов анемии (железодефицитная анемия и анемия хронических заболеваний) у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа.

Поставленная задача решена следующим образом:

Было обследовано 135 пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типов (возраст 18-70

25 лет, длительность заболевания 1-30 лет). Из всех включенных в исследование пациентов с диабетом 51 человек (37,8%) страдали сахарным диабетом 1 типа, 84 человека (62,2%) - сахарным диабетом 2 типа.

С целью установления новых дифференциально-диагностических маркеров анемического синдрома, в указанных группах наряду с традиционными параметрами

30 метаболизма железа (гемоглобин, количество эритроцитов, гематокрит, железо сыворотки, ферритин и трансферрин сыворотки, коэффициент насыщения трансферрина железом), исследовались уровни рТФР и гепсидина, производился расчет индекса рТФР/ logФерритин. Проводилась оценка содержания маркеров воспаления: количества лейкоцитов, СОЭ, высокочувствительного СРБ и ФНО- α . Исследовались основные

35 параметры компенсации сахарного диабета гликированный гемоглобин, уровень микроальбуминурии (МАУ), рассчитывалась СКФ по формуле СКД-ЕРІ (по уровню креатинина крови).

Исследование креатинина и биохимических показателей обмена железа концентрации сывороточного железа (мкмоль/л), ферритина (нг/мл), трансферрина (мг/дл) -

40 проводилось с использованием анализатора ARCHITECT i2000SR («Abbott», США). Концентрации рТФР (пг/мл) и гепсидина (пг/мл) определялись методом иммуноферментного анализа (ИФА) («Cloud Clone», США). Оценка содержания маркеров воспаления осуществлялась следующими методами: СОЭ (мм/час) - гематологическим анализатором XN1000 («Sysmex», Япония), СРБ (нг/мл) и ФНО- α

45 (пг/мл) - методом ИФА («Вектор Бест», Россия). Исследование гликированного гемоглобина (HbA1c) (%), проводилось с использованием анализатора D10 («BIO-RAD», США). Определение МАУ (мг/л) - с использованием анализатора Architect c4000 («Abbott», США).

Диагноз анемии и ее вид (железодефицитная/анемия хронических заболеваний) устанавливались на основании «классических» диагностических критериев - уровень гемоглобина, содержание железа сыворотки, уровень ферритина крови. После установления вида анемии пациенты были стратифицированы на группы: 1) пациенты с АХЗ 2) пациенты с ЖДА 3) пациенты с латентным дефицитом железа (ЛДЖ) 4) пациенты без нарушения феррокинетики.

В результате сравнительного анализа установлено, что пациенты с сахарным диабетом и АХЗ имеют наибольшую СОЭ в сравнении как с пациентами с ЖДА ($p < 0,0001$) и латентным дефицитом железа ($p < 0,0001$), так и с лицами без анемии ($p < 0,0001$). При этом значимых различий в СОЭ между другими группами выявлено не было. Количество лейкоцитов у пациентов с сахарным диабетом и АХЗ было значимо выше, чем у лиц без анемического синдрома ($p = 0,002$), но сопоставимо с таковым у пациентов с ЖДА ($p = 0,123$) и латентным дефицитом железа ($p = 0,070$). Содержание ферритина у пациентов с сахарным диабетом и ЖДА было ожидаемо ниже, чем у пациентов с АХЗ ($p < 0,0001$), пациентов с латентным дефицитом железа ($p < 0,0001$) и лиц без анемии ($p < 0,0001$). Между остальными группами значимых различий в содержании ферритина не выявлено (таблица 1).

В когорте больных сахарным диабетом ($n = 135$) был также проведен сравнительный анализ между параметрами метаболического контроля в зависимости от наличия и вида нарушения феррокинетики. Установлено, что пациенты с сахарным диабетом и АХЗ имеют значимо более высокую МАУ и более низкую СКФ как в сравнении с лицами без анемии ($p = 0,008$ и $p = 0,004$ соответственно), так и в сравнении с пациентами с латентным дефицитом железа ($p = 0,002$ и $p = 0,006$ соответственно) и пациентами с ЖДА ($p = 0,011$ и $p = 0,013$ соответственно) (таблица 2).

В выборке пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа ROC-анализ показал высокую информативность таких параметров, как СОЭ - чувствительность 92%, специфичность 85% при диагностическом пороге 26,5 мм/час (площадь под кривой 0,943; $p < 0,0001$), количество лейкоцитов - чувствительность 69%, специфичность 64% при диагностическом пороге $7,50 \times 10^9$ /л (площадь под кривой 0,727; $p = 0,007$), а также уровень МАУ - чувствительность 71%, специфичность 72% при диагностическом пороге 29,5 мг/л (площадь под кривой 0,744; $p = 0,003$) (фигура 1).

Был также проведен ROC-анализ с целью уточнения информативности таких параметров обмена железа, как рТФР и индекс рТФР/logФерритин в диагностике ЖДА. Установлено, что оба параметра обладают достаточной чувствительностью и специфичностью, но при диагностическом пороге, отличном от такового для общей популяции. Чувствительность рТФР составила 71%, специфичность - 71% при диагностическом пороге 1419,55 пг/мл (1,42 нг/мл в сравнении с 2,9 нг/мл для общей популяции) (площадь под кривой 0,765; $p = 0,024$). Чувствительность индекса рТФР/logФерритин составила 100%, специфичность - 97% при диагностическом пороге 1,48 (в сравнении с 2,0 для общей популяции) (площадь под кривой 0,983; $p = 0,024$) (фигура 2).

Таким образом, предложен двухэтапный способ дифференциальной диагностики анемического синдрома при сахарном диабете 1 и 2 типа.

С помощью традиционных маркеров (содержание гемоглобина, количество эритроцитов, уровень гематокрита) и их пороговых значений, принятых для общей популяции, устанавливается диагноз анемии. В случаях снижения содержания железа в сыворотке менее 12,5 мкмоль/л в сочетании с концентрацией ферритина ≥ 30 нг/мл у пациентов с сахарным диабетом для дифференциальной диагностики ЖДА и АХЗ

требуется использование дополнительных маркеров. Для этого определяют: СОЭ, количество лейкоцитов, уровень МАУ, концентрацию рТФР, рассчитывают индекс рТФР/logФерритин. В пользу АХЗ у пациентов с сахарным диабетом будут свидетельствовать повышение СОЭ $\geq 26,5$ мм/час, повышение количества лейкоцитов крови $\geq 7,5 \times 10^9$ /л, увеличение МАУ $\geq 29,5$ мг/л. В пользу ЖДА при сахарном диабете будут свидетельствовать повышение концентрации рТФР $> 1,42$ нг/мл и/или индекса рТФР/logФерритин $\geq 1,48$. В случае расхождения результатов дополнительных маркеров и получения данных в пользу как АХЗ, так и ЖДА, целесообразно диагностировать анемию сложного генеза (ЖДА+АХЗ). При этом диагностически значимым является каждый из пяти предложенных дополнительных маркеров. Изобретение позволяет эффективно и быстро провести дифференциальную диагностику вида анемического синдрома (ЖДА или АХЗ) у пациентов с сахарным диабетом, что принципиально важно с позиции выбора терапии (фигура 3).

Клинический пример 1. Пациент Г., 54 лет, находился на лечении в эндокринологической клинике с диагнозом сахарный диабет 1 типа. При обследовании выявлены следующие показатели: уровень гемоглобина 129 г/л, количество эритроцитов (RBC) - $4,75 \times 10^{12}$ /л, гематокрит - 39,7%; железо сыворотки крови 9,0 мкмоль/л, ферритин 274,7 нг/мл. С учетом снижения железа сыворотки ниже 12,5 мкмоль/л (характерно для ЖДА) и уровня ферритина более 30 нг/мл (характерно для АХЗ), требуется использования дополнительных диагностических параметров для уточнения вида анемии (ЖДА или АХЗ). При исследовании предлагаемых дополнительных дифференциально-диагностических маркеров установлено повышение МАУ - 57 мг/л ($\geq 29,5$ мг/л), количества лейкоцитов крови - $12,5 \times 10^9$ /л ($\geq 7,5 \times 10^9$ /л), СОЭ - 53 мм/час ($\geq 26,5$ мм/час); рТФР - 1,40 нг/мл ($< 1,42$ нг/мл) и индекс рТФР/logФерритин 0,57 ($< 1,48$). С учетом полученных результатов, была диагностирована анемия хронических заболеваний.

Клинический пример 2. Пациентка Г., 67 лет, находилась на лечении в эндокринологической клинике с диагнозом сахарный диабет 2 типа. При обследовании выявлены следующие показатели: уровень гемоглобина 117 г/л, количество эритроцитов (RBC) - $3,88 \times 10^{12}$ /л, гематокрит - 35,1%; железо сыворотки крови 10,0 мкмоль/л, ферритин 39,9 нг/мл. С учетом снижения железа сыворотки ниже 12,5 мкмоль/л (характерно для ЖДА) и уровня ферритина более 30 нг/мл (характерно для АХЗ), требуется использования дополнительных диагностических параметров для уточнения вида анемии (ЖДА или АХЗ). При исследовании предлагаемых дополнительных дифференциально-диагностических маркеров: МАУ - 80 мг/л ($\geq 29,5$ мг/л), количество лейкоцитов крови - $7,51 \times 10^9$ /л ($\geq 7,5 \times 10^9$ /л), СОЭ - 38 мм/час ($\geq 26,5$ мм/час); рТФР - 1,30 нг/мл ($< 1,42$ нг/мл) и индекс рТФР/logФерритин - 0,81 ($< 1,48$). С учетом полученных результатов, была диагностирована анемия хронических заболеваний.

Клинический пример 3. Пациентка С., 55 лет, находилась на лечении в эндокринологической клинике с диагнозом сахарный диабет 2 типа. При обследовании выявлены следующие показатели: уровень гемоглобина 117 г/л, количество эритроцитов (RBC) - $3,45 \times 10^{12}$ /л, гематокрит - 30,4%; железо сыворотки крови 5,0 мкмоль/л, ферритин 39,9 нг/мл. С учетом снижения железа сыворотки ниже 12,5 мкмоль/л (характерно для ЖДА) и уровня ферритина более 30 нг/мл (характерно для АХЗ), требуется использования дополнительных диагностических параметров для уточнения вида анемии (ЖДА или АХЗ). При исследовании предлагаемых дополнительных

дифференциально-диагностических маркеров: МАУ - 14 мг/л (<29,5 мг/л), количество лейкоцитов крови - $5,18 \times 10^9$ /л (< $7,5 \times 10^9$ /л), СОЭ - 6 мм/час (<26,5 мм/час); рТФР - 2,12 нг/мл ($\geq 1,42$ нг/мл) и индекс рТФР/logФерритин - 1,32. С учетом полученных результатов, была диагностирована железодефицитная анемия.

5 Клинический пример 4. Пациентка Ч., 18 лет, находилась на лечении в эндокринологической клинике с диагнозом сахарный диабет 1 типа. При обследовании выявлены следующие показатели: уровень гемоглобина 117 г/л, количество эритроцитов (RBC) - $4,1 \times 10^{12}$ /л, гематокрит - 34,4%; железо сыворотки крови 12,0 мкмоль/л, ферритин 10 38,9 нг/мл. С учетом снижения железа сыворотки ниже 12,5 мкмоль/л (характерно для ЖДА) и уровня ферритина более 30 нг/мл (характерно для АХЗ), требуется использования дополнительных диагностических параметров для уточнения вида анемии (ЖДА или АХЗ). При исследовании предлагаемых дополнительных дифференциально-диагностических маркеров: МАУ - 42 мг/л ($\geq 29,5$ мг/л), количество 15 лейкоцитов крови - $10,37 \times 10^9$ /л ($\geq 7,5 \times 10^9$ /л), СОЭ - 18 мм/час (<26,5 мм/час); рТФР - 1,48 нг/мл ($\geq 1,42$ нг/мл) и индекс рТФР/logФерритин - 0,93 (<1,48). Таким образом результаты исследования двух из предложенных пяти дополнительных диагностических маркеров (МАУ, количество лейкоцитов) свидетельствуют в пользу наличия у пациентки АХЗ, а один (содержание рТФР) - в пользу ЖДА. С учетом расхождения результатов 20 дополнительных параметров, была диагностирована анемия сложного генеза (ЖДА+АХЗ).

Техническим результатом является новый способ дифференциальной диагностики анемии у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, основанный на исследовании дополнительных параметров: СОЭ, количества лейкоцитов, МАУ, содержания рТФР 25 и индекса рТФР/logФерритина.

Пациентам с сахарным диабетом определяют: СОЭ, количество лейкоцитов, уровень МАУ, концентрацию рТФР, рассчитывают индекс рТФР/logФерритин. В пользу АХЗ у пациентов с сахарным диабетом будут свидетельствовать повышение СОЭ $\geq 26,5$ мм/ 30 час, повышение количества лейкоцитов крови $\geq 7,5 \times 10^9$ /л, увеличение МАУ $\geq 29,5$ мг/л. В пользу ЖДА при сахарном диабете будут свидетельствовать повышение концентрации рТФР $> 1,42$ нг/мл и/или индекса рТФР/logФерритин $\geq 1,48$. В случае расхождения результатов дополнительных маркеров и получения данных в пользу как АХЗ, так и ЖДА, целесообразно диагностировать анемию сложного генеза (ЖДА+АХЗ).

Изобретение позволяет эффективно и быстро провести дифференциальную 35 диагностику вида анемического синдрома (железодефицитная анемия или анемия хронических заболеваний) у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, что принципиально важно с позиции выбора терапии - препараты железа или эритропоэтина.

Источники:

1. Куфелкина, Т.Ю. Анемия у больных сахарным диабетом 1 типа / Т.Ю. Куфелкина, 40 Ф.В. Валеева // Сахарный диабет. - 2010. - N 4. - С.49-53.

2. Куфелкина, Т.Ю. Состояние парциальных функций почек у больных сахарным диабетом I-го типа с различными видами анемии / Т.Ю. Куфелкина, Ф.В. Валеева // Сибирский медицинский журнал. - 2011. - Т. 26, N 4-2. - С. 61-65.

3. Хантакова, Е.А. Анемический синдром у больных сахарным диабетом 1 типа при 45 диабетической нефропатии / Е.А. Хантакова // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). - 2013. - Т. 119, N4. - С. 51-54.

4. Распространенность анемии у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа с поражением почек / С.А. Мартынов, М.В. Шестакова, Е.М. Шилов [и др.] // Сахарный диабет. -

2017. - Т. 20, N5. - С. 318-328.

5. Оценка распространенности анемии у больных с сахарным диабетом / А.Д. Семакова, Я.И. Брыкова, М.Н. Силина, А.П. Волынкина // Центральный научный вестник. - 2019. - Т. 7, N72. - С. 7-8.

6. The epidemiology of hemoglobin levels in patients with type 2 diabetes / M.C. Thomas, C. Tsalamandris, R.J. MacIsaac, G. Jerums // *Am. J. Kidney Dis.* 2006. Vol. 48, N 4. P. 537-545.

7. Erythropoietin response to hypoxia in patients with diabetic autonomic neuropathy and non-diabetic chronic renal failure / D.R. Bosman, C.A. Osborne, J.T. Marsden [et al.] // *Diabet. Med.* 2002. Vol. 19, N 1. P. 65-69.

8. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению железодефицитной анемии / А.Г. Румянцев, А.А. Масчан, В.М. Чернов, И.С. Тарасова; Национальное общество детских гематологов, онкологов. - Москва, 2015. - 44 с.

9. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению анемии хронических болезней / В.Г. Демихов, Е.Ф. Морщакова, М.А. Лунякова, Н.В. Инякова; Национальное общество детских гематологов, онкологов России. - Москва, 2014. - 9 с.

10. Assessing the Iron Status of populations: including literature reviews: report of a Joint World Health Organization / World Health Organiz. - 2-e ed. - Geneva, 2007. - URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/75368> (дата обращения: 19.04.2021).

11. Алиментарная анемия: доклад научной группы ВОЗ / под ред. Е.А. Тихомирова; пер. с англ. Е.В. Капытина. Москва: Медицина, 1970. - 43 с.

12. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity / World Health Organization. - Geneva, 2011. - URL: <https://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin/en/> (дата обращения: 15.04.2021).

13. Rabinovitch, A. Roles of cytokines in the pathogenesis and therapy of type 1 diabetes / A. Rabinovitch, W.L. Suarez-Pinzon // *Cell Biochem. Biophys.* - 2007. - Vol. 48, N 2-3. - P. 159-163.

14. Compartmentalization of TNF receptor 1 signaling: internalized TNF receptosomes as death signaling vesicles / W. Schneider-Brachert, V. Tchikov, J. Neumeyer [et al.] // *Immunity.* - 2004. - Vol. 21, N 3. - P. 415-428.

15. Macrophages and dendritic cells infiltrating islets with or without beta cells produce tumour necrosis factor-alpha in patients with recent-onset type 1 diabetes / S. Uno, A. Hnagawa, K. Okita [et al.] // *Diabetologia.* - 2007. - Vol. 50, N 3. - P. 596-601.

16. Клинические и метаболические факторы, ассоциированные с хроническим воспалением низкой интенсивности, у больных сахарным диабетом 2 типа / В.В. Климонтов, Н.В. Тянь, О.Н. Фазуллина [и др.] // *Сахарный диабет.* - 2016. - Т. 19, N 4. - URL: <https://doi.org/10.14341/DM7928> (дата обращения: 15.04.2021).

17. Analysis of Inflammatory Mediators in Prediabetes and Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Patients / Z. Wang, X-H. Shen, W-M. Feng [et al.] // *J. Diabetes Res.* - 2016. - Vol. 2016, N4. - P. 1-10.

18. Yamamoto, Y. RAGE-Mediated Inflammation, Type 2 Diabetes, and Diabetic Vascular Complication / Y. Yamamoto, H. Yamamoto // *Front. Endocrinol (Lausanne).* - 2013. - Vol. 4, N4. - P. 1-10.

19. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes / N. Esser, 5. Legrand-Poels, J. Piette [et al.] // *Diabetes Res. Clin. Pract.* - 2014. - Vol. 105, N 2. - P. 141-150.

20. Анемия хронических заболеваний: особенности патогенеза и возможности терапевтической коррекции (обзор литературы и результаты собственных исследований)

/ В.Т. Сахин, Е.Р. Маджанова, Е.В. Крюков [и др.] // Онкогематология. - 2018. - Т. 13, N 1. - URL: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2018-13-1-45-53> (дата обращения: 15.04.2021).

21. Iron deficient erythropoiesis might play key role in development of anemia in cancer patients / S. Park, C. Jung, K. Kim [et al.] // Oncotarget. - 2015. - Vol. 6, N 40. - URL: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5658> (дата обращения: 15.04.2021).

22. Панахова, Д.З. Анемия хронических заболеваний / Д.З. Панахова // Вестник гематологии. - 2017.- Т. 3, N 1. - С. 33-39.

23. Кулеш, П.А. Анемия хронических заболеваний / П.А. Кулеш, А.А. Багаева // Евразийское научное объединение. - 2019. - N 11-3. - С. 183-187.

24. Патент RU2316007 «Способ дифференциальной диагностики железодефицитной анемии и анемии хронических заболеваний», Гребенщикова Л.Г., МПК G01N 33/90 БИМП №3, публ. 27.01.2008.

25. Патент RU2566282 «Способ дифференциальной диагностики железодефицитной анемии и анемии хронических заболеваний», Клочкова-Абельянц С.А., МПК G01N 33/50 (2006.01), публ. 20.10.2015, Бюл. №29.

26. Патент RU2667471 «Способ дифференциальной диагностики анемий», Шавкута Г.В., МПК G01N 33/90 (2018.05), публ. 19.09.2018, Бюл. №26.

27. Патент RU2538722 «Способ дифференциальной диагностики анемии у детей», Гордеева О.Б., МПК G01N 33/68 (2006.01), публ. 10.01.2015, Бюл. №1.

28. Мусина Н.Н. и др. Поиск дополнительных маркеров нарушения феррокинетики при сахарном диабете, Проблемы эндокринологии. 2020. Т. 66. N 2. С. 61-70.

Таблица 1. Концентрация гепсидина, маркеров воспаления и отдельных параметров обмена железа в крови в зависимости от наличия и вида анемии у пациентов с сахарным диабетом.

Таблица 2. Параметры метаболического контроля в зависимости от наличия и вида дисрегуляции феррокинетики у пациентов с сахарным диабетом.

Фигура 1. Кривая ROC-анализа информативности определения СОЭ, количества лейкоцитов и МАУ сыворотки в диагностике АХЗ при сахарном диабете.

Фигура 2. Кривая ROC-анализа информативности определения рТФР и индекса рТФР/logФерритин в диагностике ЖДА при сахарном диабете.

Фигура 3. Модифицированный алгоритм дифференциальной диагностики ЖДА и АХЗ у пациентов с сахарным диабетом.

Таблица 1

Показатель	АХЗ (n = 14)	ЖДА (n = 15)	Латентный дефицит железа (n = 38)	Нет анемии (n = 64)
ФНО-α, пг/мл	13,99 [9,78-16,57]	13,07 [10,90-15,28]	13,07 [7,69-24,02]	11,40 [7,49-17,26]
СРБ, нг/мл	1,92 [1,22-3,02]	4,64 [3,40-12,06]	8,65 [3,59-16,46]*	4,00 [2,00-10,20]
СОЭ, мм/час	40,00 [34,00-56,50]	18,00 [7,00-26,00]*	15,50 [8,25-26,00]*	10,50 [5,00-20,00]*
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л	8,96 [6,58-10,76]	7,58 [5,18-8,58]	7,27 [6,22-8,38]	6,74 [5,45-7,78]*
Ферритин, нг/мл	81,42 [41,93-251,38]	11,75 [6,39-15,39]*	103,20 [23,04-193,00]#	88,22 [39,25-149,70]#
Трансферрин, мг/дл	266,00 [233,00-322,00]	328,50 [313,50-347,00]	306,50 [262,50-337,25]	269,00 [247,75-294,00]*
НТЖ, %	18,44 [17,17-22,47]	16,98 [16,00-20,14]	20,04 [18,13-23,78]	21,79 [18,84-25,02]
Гепсидин, пг/мл	10050,00 [8082,00-10980,00]	12368,50 [5196,25-12889,75]	9278,00 [3199,79-13548,00]	5498,00 [3154,50-9285,50]*
рТФР, пг/мл	1460,03 [1303,20-1663,90]	1489,40 [1314,90-1757,00]	1297,40 [1134,50-1524,30]	1210,10 [1140,30-1402,10]*#

рТФР/logФерритин-индекс	0,81 [0,67-0,93]	2,20 [1,89-2,32]	0,94 [0,78-1,05]	0,60 [0,53-0,87]**
МСV, фл	80,04 [77,18-82,37]	77,62 [73,27-81,43]	88,31 [83,68-92,73]	91,15 [87,64-94,98]* #

Примечание - * - достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями в группе 1 (АХЗ) (p < 0,013); # - достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями в группе 2 (ЖДА); ** - достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями в группе 3 (ЛДЖ).

Таблица 2

Показатель	АХЗ (n = 14)	ЖДА (n = 15)	Латентный дефицит железа (n = 38)	Нет анемии (n = 64)
ИМТ, кг/м кв.	26,90 [24,15-36,02]	30,00 [25,10-35,30]	28,69 [23,13-35,74]	30,30 [25,63-35,95]
НbA1c, %	10,30 [8,00-11,00]	8,99 [8,22-11,55]	8,85 [7,55-10,65]	9,05 [7,95-10,30]
СКФ, мл/мин	61,50 [29,00-89,10]	91,00 [57,00-102,00]*	81,00 [65,75-96,00]*	88,00 [71,00-103,00]*
МАУ, мг/л	68,50 [14,58-500,00]	18,50 [9,88-31,25]*	12,00 [8,40-22,20]*	16,00 [7,75-32,00]*
АСТ, ЕД/л	20,00 [11,75-27,50]	20,50 [12,78-39,00]	19,40 [15,75-28,00]	20,00 [16,00-26,50]
АЛТ, ЕД/л	13,00 [9,75-25,50]	18,00 [13,00-26,50]	16,00 [12,75-25,00]	19,50 [14,00-26,25]

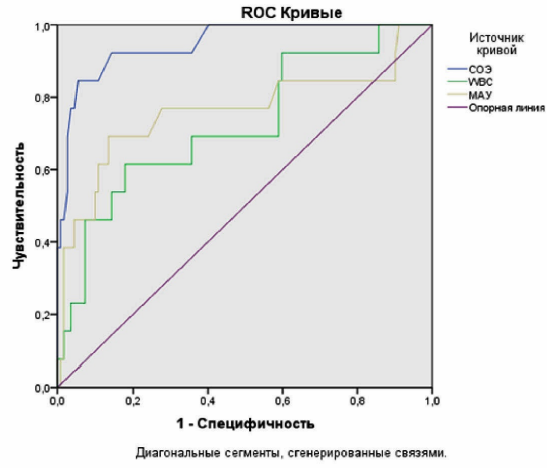
Примечание - * - достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями в группе 1 (АХЗ) (p < 0,013); # - достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями в группе 2 (ЖДА); ** - достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями в группе 3 (ЛДЖ).

(57) Формула изобретения

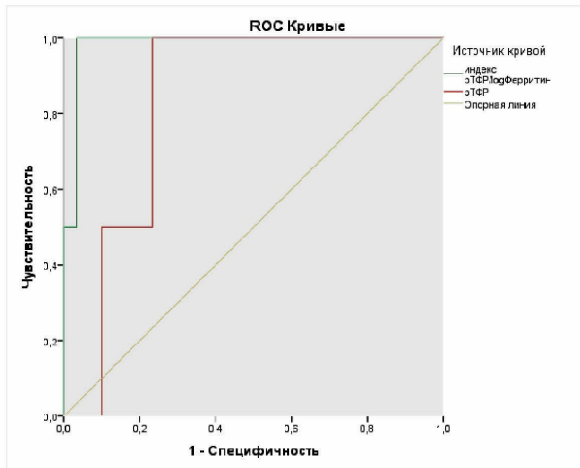
Способ дифференциальной диагностики анемического синдрома при сахарном диабете 1 и 2 типа, включающий определение параметров метаболизма железа, отличающийся тем, что в случаях снижения содержания железа в сыворотке менее 12,5 мкмоль/л в сочетании с концентрацией ферритина в крови ≥ 30 нг/мл у пациентов с сахарным диабетом для дифференциальной диагностики железодефицитной анемии (ЖДА) и анемии хронических заболеваний (АХЗ) дополнительно определяют: СОЭ, количество лейкоцитов, уровень микроальбуминурии (МАУ), концентрацию рТФР, рассчитывают индекс рТФР/logФерритин, при этом при повышении СОЭ $\geq 26,5$ мм/час, повышении количества лейкоцитов крови $\geq 7,5 \times 10^9$ /л и увеличении МАУ $\geq 29,5$ мг/л диагностируют АХЗ; при повышении концентрации рТФР $\geq 1,42$ нг/мл и индекса рТФР/logФерритин $\geq 1,48$ диагностируют ЖДА; а при расхождении результатов дополнительных маркеров и получении данных в пользу как АХЗ, так и ЖДА диагностируют анемию сложного генеза (ЖДА+АХЗ).

1

Фигура 1



Фигура 2



2

Фигура 3

