

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НОЦІОНАЛЬНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ**

**Факультет медико-фармацевтичних технологій
Кафедра клінічної лабораторної діагностики**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему:

**«КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ЦУКРОВОГО
ДІАБЕТУ: БІОМАРКЕРИ ГЛІКЕМІЧНОГО КОНТРОЛЮ ТА
ІМУНОПАТОЛОГІЇ ЗАХВОРЮВАННЯ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти групи
ЛДм21(1,5д) 03 спеціальності 224 Технології ме-
дичної діагностики та лікування освітньої про-
грами Лабораторна діагностика

Іванна ШТАЙФ

Керівник: кандидат фармацевтичних наук, стар-
ший науковий співробітник, доцент ЗВО кафе-
дри мікробіології, вірусології та імунології

Олена КОШОВА

Рецензент: кандидат біологічних наук, доцент,
доцент ЗВО кафедри нормальної та патологічної
фізіології

Валентина ЧІКІТКІНА

Харків-2024

АНОТАЦІЯ

Іванна ШТАЙФ. Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунopatології захворювання – Рукопис.

Кваліфікаційна робота: 59 с., 9 рис., 8 таблиць, 145 посилань на літературу.

Об'єкт дослідження – біомаркери порушень обміну глюкози та імунної системи при ЦД, методи визначення глікозильованого гемоглобіну.

Предмет дослідження – порушення обміну глюкози та імунної системи при цукровому діабеті.

Проведено аналіз літератури щодо біомаркерів контролю глікемічного профілю та імунopatологічних змін за цукрового діабету. Надано порівняльний аналіз сучасних лабораторних експрес-методів зі стандартним методом вискоєфективної рідинної хроматографії визначення вмісту HbA1c.

Ключові слова: цукровий діабет, глікемія, глікозильований гемоглобін, імунна система, цитокіни, інтерлейкіни, методи лабораторної діагностики.

ABSTRACT

Ivanna SHTAIF. Clinical-laboratory diagnosis of diabetes mellitus: biomarkers of glycemic control and immunopathology of the disease – Manuscript.

Qualification work: 59 p., 9 fig., 8 tables, 145 literature sources.

The object of the research is biomarkers of glucose metabolism disorders and the immune system in DM, methods for determining glycated hemoglobin.

The subject of the research is disturbances in glucose metabolism and the immune system in DM.

A literature analysis has been conducted on the biomarkers for monitoring glycemic profile control and immunopathological changes in diabetes mellitus. A comparative analysis has been provided between modern laboratory rapid methods and the standard method of high-performance liquid chromatography for determining the content of HbA1c.

Keywords: diabetes mellitus, glycemia, glycated hemoglobin, immune system, cytokines, interleukins, laboratory diagnostic methods.

ЗМІСТ

ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ, КЛАСИФІКАЦІЯ, ЕТІОЛОГІЯ, ПАТОГЕНЕЗ, КРІТЕРІЇ ДІАГНОСТИКИ ТА МОНІТОРИНГУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	10
1.1 Класифікація, етіологія і патогенез цукрового діабету.	10
1.1.1 Класифікація та етіологія цукрового діабету	10
1.1.2 Патогенез цукрового діабету I типу.	12
1.1.3 Патогенез цукрового діабету 2 типу.....	15
1.2 Сучасні клініко-діагностичні аспекти цукрового діабету.....	18
1.3 Особливості імунного статусу хворих на ЦД.....	23
1.3.1 Імунний статус хворих на ЦД 1 типу	23
1.3.2 Особливості дисфункції імунної системи за ЦД 2 типу.....	25
РОЗДІЛ 2. БІОМАРКЕРИ ГЛІКЕМІЧНОГО КОНТРОЛЮ ТА ІМУНОПАТОЛОГІЇ ЗАХВОРЮВАННЯ.	29
2.1 Глікозильований гемоглобін – маркер діагностики та моніторингу цукрового діабету.	29
2.2. Стандартизація лабораторних методів визначення глікозильованого гемоглобіну.....	35
2.3 Зв'язок між середнім рівнем глюкози в крові та HbA1c.....	37
РОЗДІЛ 3. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ГЛІКОЗИЛЬОВАНОГО ГЕМОГЛОБІНУ	41
3.1 Лабораторні методи визначення глікозильованого гемоглобіну	41
3.2 Експрес-тести для вимірювання HbA1c.....	43

РОЗДІЛ 4. ПОРІВНЯННЯ РІВНЕЙ НВА1С, ВИЗНАЧЕНИХ МЕТОДОМ РОС І HPLC.....	50
ВИСНОВКИ	60
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	61

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

АКТГ	– адренкортикотропний гормон гіпофізу
ГР	– гормон росту
ЦД	– цукровий діабет
ІХС	– ішемічна хвороба серця
ПТТГ	– пероральний тест на толерантність до глюкози
HbA1c	– глікозильований гемоглобін
A1C	– глікозильований гемоглобін
Мікро-РНК	– малі некодуючі РНК
HPLC	– high performance liquid chromatography
ВЕРХ	– метод вискоєфективної рідинної хроматографії
РОС-тести	– point-of-care, експрес-тести
ПЗ	– підшлункова залоза
ІР	– інсулінорезистентність
MODY	– Maturity-onset diabetes of the young
ЛПДНЩ	– ліпопротеїди дуже низької щільності
ПГ	– глюкоза плазми
ПТТГ	– пероральний тест на толерантність до глюкози(
ГПН	– рівень глюкози в плазмі натще
Th1	– Т-хелпери 1 типу
Th2	– Т-хелпери 2 типу
ІАА	– автоантитіла до інсуліну
ІА-2А	– автоантитіла тирозинфосфатаза-подібного білка
ІСА	– автоантитіла до цитоплазматичних антигенів острівцевих клі- тин
HLA	– гени головного комплексу гістосумісності
ІЛ	– інтерлейкіни

TNF- α – фактор некрозу пухлини альфа

IFN- γ – інтерферон гамма

CD4+ – Т-клітини хелпери

NGSP – Національна програма стандартизації глікогемоглобіну
США

RAGE – рецептори кінцевих продуктів прогресуючого глікування

FN3K – фруктозамін-3-кіназа

ADA – Американська діабетична асоціація

ВСТУП

Актуальність теми. Проблема ранньої діагностики та ефективного лікування цукрового діабету, його ускладнень є найбільш актуальною в сучасній ендокринології. Це пояснюється широким поширенням захворювання, постійним зростанням кількості хворих. Цукровий діабет знаходиться на третьому місці після серцево-судинних та онкологічних захворювань серед причин смерті та важких інвалідизуючих ускладнень, таких, як ниркова недостатність, сліпота, інфаркт міокарда, інсульт, гангрена нижніх кінцівок.

Наразі в області лабораторної діагностики хронічних захворювань, зокрема цукрового діабету та серцево-судинних захворювань, ведуться інтенсивні дослідження з метою розробки нових біомаркерів, які б допомагали поліпшити діагностику, прогнозування хвороби та моніторингу ефективності лікування. Найбільш актуальні напрямки досліджень включають такі біомаркери: глікозильований гемоглобін (HbA1c – є одним з ключових біомаркерів у діагностиці та моніторингу цукрового діабету); біомаркери запалення та стресу (запалення є ключовим фактором у розвитку серцево-судинних захворювань); біомаркери окисного стресу (окисний стрес відіграє роль у патогенезі серцево-судинних захворювань, можуть допомогти прогнозуванню ризиків та вибору оптимальних терапевтичних стратегій). біомаркери атеросклерозу (С-реактивний білок, фібріноген, ліпопротеїни та інші, для виявлення атеросклеротичних процесів та визначення ризиків серцево-судинних захворювань); біомаркери ендотеліальної дисфункції (зміни в ендотеліальній функції можуть бути раннім показником розвитку серцево-судинних захворювань).

Мета дослідження – провести аналіз літератури щодо біомаркерів контролю глікемічного профілю та імунopatологічних змін за ЦД, проаналізувати клініко-лабораторні методи визначення вмісту HbA1c і порівняти експрес-методи зі стандартним методом високоефективної рідинної хроматографії.

Завдання дослідження. Згідно з метою були поставлені такі завдання:

- ✓ Провести аналіз літератури щодо загальної характеристики цукрового діабету, критеріїв його діагностики та моніторингу.
- ✓ Дослідити патогенетичну роль ЦД у розвитку порушень імунної системи та визначити особливості імунного статусу хворих на ЦД;
- ✓ Визначити роль глікозильованого гемоглобіну, як біомаркера порушень вуглеводного обміну, у діагностиці та моніторингу цукрового діабету;
- ✓ Проаналізувати сучасні клініко-лабораторні методи визначення вмісту HbA1c та порівняти експрес-методи зі стандартним методом високоефективної рідинної хроматографії (HPLC).

Об'єкт дослідження – біомаркери порушень обміну глюкози та імунної системи при ЦД, методи визначення глікозильованого гемоглобіну.

Предмет дослідження – порушення обміну глюкози та імунної системи при ЦД.

Методи дослідження: бібліосемантичний аналіз, загально клінічні, біохімічні, імуноферментні та статистичні.

Наукова новина отриманих результатів (теоретичне значення роботи) полягає в теоретичному обґрунтуванні доцільності використання сучасних лабораторних біомаркерів стану імунної системи та глікемічного профілю хворих на ЦД, порівнянні сучасних лабораторних експрес-методів зі стандартним методом високоефективної рідинної хроматографії визначення вмісту HbA1c.

Практичне значення отриманих результатів полягає в практичному використанні результатів дослідження у навчальному процесі кафедр мікробіології, вірусології та імунології та лабораторної діагностики та у науковому процесі ННІПФ НФаУ.

Апробація результатів дослідження і публікації. Результати кваліфікаційної роботи представлено у Додадку А:

Штайф І.М., Кошова О.Ю. Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю захворювання / Сучасні питання

фізичної терапії та ерготерапії. Лабораторна медицина: проблеми та перспективи : матеріали науково-практичної конференції молодих вчених, здобувачів освіти та лікарів-інтернів / Харк. нац. мед. ун-т ; [редкол.: В. В. М'ясоєдов, І. А. Чухно, С. І. Латогуз, О. І. Залюбовська, М. М. Мішина]. – Харків : ХНМУ, 2023. – С 124-126.

Кваліфікаційна робота виконана на 59 сторінках машинописного тексту, написана за традиційною схемою і складається із вступу, огляду літератури, власних досліджень в які входять: актуальність проблеми якості діагностики глікемічного профілю хворих на цукровий діабет, матеріали і методи дослідження, результати дослідження та висновки. Список використаних джерел 145 з них вітчизняних 7 та іноземних 138.

РОЗДІЛ 1. ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ, КЛАСИФІКАЦІЯ, ЕТІОЛОГІЯ, ПАТОГЕНЕЗ, КРІТЕРІЇ ДІАГНОСТИКИ ТА МОНІТОРИНГУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Класифікація, етіологія і патогенез цукрового діабету.

1.1.1 Класифікація та етіологія цукрового діабету

Цукровий діабет – це група метаболічних захворювань, що характеризуються гіперглікемією, яка є результатом дефектів секреції інсуліну, його дії (інсулінорезистентності) або обох цих факторів.

З метою полегшення вибору оптимальної тактики лікування відповідно до конкретного патологічного стану, наслідком якого може бути порушення вуглеводного обміну, та/або прийняття рішення щодо необхідності інсулінотерапії вже в дебюті захворювання у 2019 році група експертів ВООЗ запропонувала нову систему класифікації ЦД [1, 2]:

ЦД 1 типу. Руйнування β -клітин (в основному імуніопосередковане) та абсолютний дефіцит інсуліну; початок у дитинстві та в ранньому дорослому віці;

ЦД 2 типу – найбільш поширений тип, різні ступені дисфункції β -клітин та ІР; зазвичай асоціюється з надмірною вагою та ожирінням;

Гібридні форми. Імуніопосередкований ЦД у дорослих, що повільно розвивається. Подібний до ЦД 1 типу у дорослих, що повільно розвивається, але частіше має ознаки метаболічного синдрому, один вид аутоантитіл до GAD (глутаматдекарбоксилази) і зберігає довше функціональну активність β -клітин. Колишня назва LADA;

ЦД 2 типу зі схильністю до кетозу. Супроводжується розвитком кетозу та дефіцитом інсуліну, але характеризується більш пізньою потребою терапії інсуліном; часті епізоди кетозу, не імуніопосередкований.

Інші специфічні типи. Моногенний ЦД (моногенні дефекти функції β -клітин та/або дефекти дії інсуліну) викликаний певними мутаціями гена, має кілька клінічних проявів, що потребують різного лікування; зустрічається у дитячому та

молодому віці. Має ознаки тяжкої ІР без ожиріння; ЦД маніфестує, коли β -клітини більше не можуть компенсувати ІР (β -клітинна дисфункція);

ЦД, що розвивається у результаті захворювань та травм екзокринної частини підшлункової залози;

ЦД, асоційований з низкою ендокринопатій;

ЦД, індукований лікарськими засобами або хімічними речовинами;

ЦД, що розвивається у результаті вірусних та бактеріальних інфекцій;

Незвичайні специфічні форми імуноопосередкованого ЦД, що пов'язані з рідкісними імунними захворюваннями;

Інші генетичні синдроми, іноді пов'язані з ЦД. Багато генетичних порушень збільшують ризик розвитку ЦД;

Некласифікований ЦД. Ця категорія повинна використовуватися тимчасово, коли немає чіткої діагностичної категорії, у дебюті захворювання;

Гестаційний ЦД. ЦД 1 типу або ЦД 2 типу, виявлений під час вагітності, гіперглікемія нижче діагностичного порога ЦД.

На відміну від попередніх, ця класифікація охоплює практично всі патологічні стани, що можуть призвести до порушення метаболізму глюкози. Проте, ЦД 1 типу і 2 типу залишаються найпоширенішими типами ЦД.

Етіологія. Цукровий діабет займає третє місце (після атеросклерозу і раку) серед хвороб, що є найбільш частою причиною інвалідизації і смертності хворих. Діабет є причиною росту смертності, оскільки викликає формування ускладнень, що викликають передчасну смерть. Смертність серед населення з цукровим діабетом вище, ніж серед населення без діабету [17].

Ішемічна хвороба серця спостерігається в 10-20% дорослих діабетиків, гіпертонія – у 60% діабетиків, у них у 3-4 рази частіше зустрічається інсульт. Цукровий діабет – найбільш часта причина сліпоти в дорослих. Діабетична нефропатія – найбільш часта причина ниркової недостатності (близько 34% усіх випадків). Діабетична полінейропатія є причиною 50% нетравматичних ампутацій нижніх кінцівок. Істотно збільшується захворюваність серцево-судинною патологією серед хворих на ЦД [3, 4].

За даними Global Burden of Disease, 2017 [5], захворюваність інсультом в Україні складає 144 хворих на 100 тис. населення у порівнянні з Польщею (104 хворих на 100 тис. населення), ішемічною хворобою серця – 274 хворих на 100 тис. населення в Україні порівняно з Польщею – 194 хворих на 100 тис. населення [5].

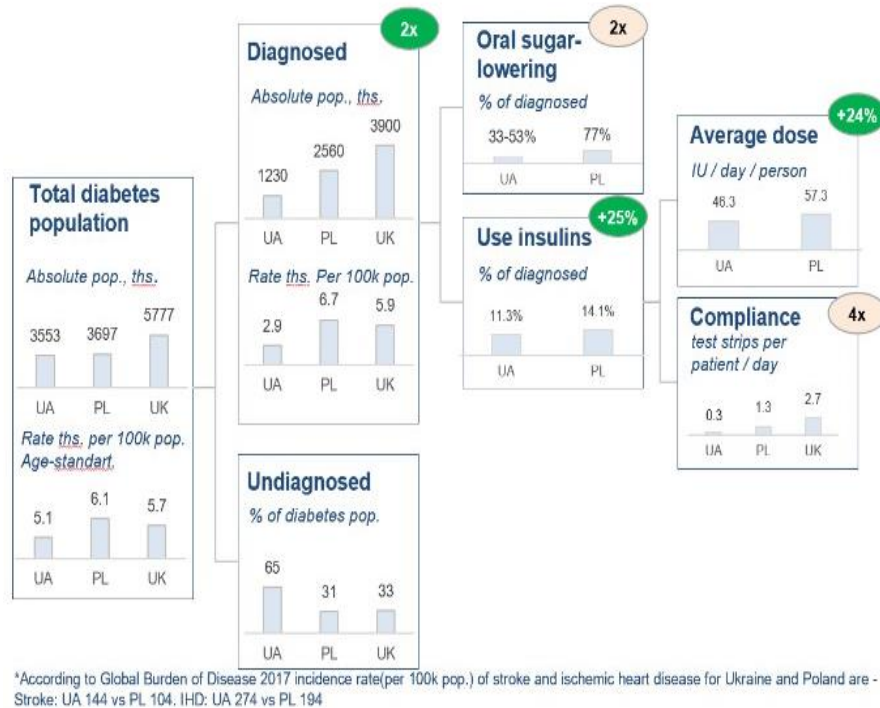


Рис.1.1. Загальна кількість пацієнтів з діабетом в Україні, співвідношення кількості діагностованих та недіагностованих випадків ЦД, відповідно до [5].

1.1.2 Патогенез цукрового діабету I типу.

Цукровий діабет I типу є результатом деструкції бета-клітин підшлункової залози, що з часом призводить до розвитку абсолютної інсулінової недостатності [6, 7]. Основні патогенетичні ланки цукрового діабету типу I представлені на схемі 1.

Інсулін є головним гормоном, який забезпечує анаболічні процеси в організмі, його дефіцит призводить не лише до порушення утилізації глюкози інсулінзалежними тканинами, але й до зниження ліпогенезу, посилення

ліполізу, зменшення синтезу білка та посилення протеолізу, зменшення надходження амінокислот та електролітів, зокрема іонів калію, у клітини.



Схема 1.1. Патологічні зміни за цукрового діабету I типу [7].

Це призводить до енергетичного дефіциту, внаслідок чого підвищується секреція гормонів з антагоністичною дією щодо дії інсуліну: глюкагону, глюкокортикостероїдів, адренокортикотропного гормону гіпофіза (АКТГ), гормону росту (ГР) та інших. В свою чергу, це призводить до посилення процесу глюконеогенезу та зростання рівня глікемії. Водночас гіперглікемія виступає як пошкоджуючий фактор насамперед на судинному рівні з розвитком специфічних хронічних ускладнень у вигляді мікро- чи макроангіопатій [8]

Розвиток цукрового діабету типу 1 пов'язують з наявністю певних генетичних антигенів (HLA-B8; B16; B15; B35; DR3; DR4; DR3/DR4; DQA-Arg52+/DQB-Asp57- та інші) у системі гістосумісності. Насьогодні, гени системи HLA, розташовані на 6-й хромосомі, розглядають як генетичні чинники, що визначають чутливість підшлункової залози до вірусних антигенів, можливу схильність до автоімунного руйнування інсулярного апарату або

впливають на протівірусний імунітет. Успадкування ЦД типу 1 також залежить від генів, які контролюють синтез інсуліну (11-та хромосома), а також генів, пов'язаних з імуноглобулінами та групами крові [9].

В патогенезі ЦД 1 типу приймають участь різні чинники зовнішнього середовища. Найвивченими з них є токсичні речовини, β -тропні віруси (кору, епідемічного паротиту, краснухи, гепатиту, цитомегаловірусу, Коксакі В4 тощо) і цитотоксичні речовини. Припускають, що ці фактори можуть запускати автоімунний процес у схильних до цього людей. Віруси, або токсичні речовини є тими факторами ризику, що впливають на генетично детерміновані антигени системи HLA і викликають автоімуну деструкцію бета-клітин ostriviv Langethans [10]. Незалежно від початкових механізмів деструкції β -клітин (вірусіндукований, автоімунний чи повільно прогресуючий) з роком відбувається зменшення їхньої кількості майже до повного зникнення з розвитком абсолютної інсулінової недостатності.

Патогенез цукрового діабету 1 типу можна розділити на 6 стадій, що повільно переходять одна в іншу [9]:

1. Генетична схильність (наявність певних гаплотипів HLA-системи, а також генів, що кодувають синтез інсуліну).

2. Активація автоімунних процесів різними чинниками (вірусами, цитотоксичними хімічними речовинами тощо), що спричинює руйнування β -клітин підшлункової залози.

3. Стадія активного автоімунного процесу, у якому беруть участь імунокомпетентні клітини – макрофаги, лімфоцити. Цитокіни, які виробляються цими клітинами, можуть безпосередньо пошкоджувати β -клітини або активувати клітинні реакції проти них, внаслідок чого утворюються автоантитіла до антигенів β -клітин ПЗ або їх компонентів та інсуліну, в подальшому це призводить до розвитку автоімунного запалення.

4. Прогресуюче зниження 1-ї фази секреції інсуліну, стимульованої внутрішньовенним введенням глюкози. При цьому рівень глікемії залишається нормальним.

5. Клінічна маніфестація ЦД. Загибель β -клітин ще неповна (на рівні 80-90%), визначається залишкова секреція інсуліну. Проте, після лікування інсуліном у деяких хворих можлива тимчасова ремісія захворювання – так званий «медовий місяць».

6. Повна деструкція β -клітин, відсутність секреції інсуліну з типовою клінічною симптоматикою ЦД, необхідність лікування інсуліном.

Отже, цукровий діабет 1 типу є багатофакторним полігенним захворюванням, характеризується автоімунним руйнуванням інсулінподукуючих β -клітин ПЗ, що призводить до розвитку абсолютного дефіциту інсуліну, порушення вуглеводного та інших видів обміну речовин та розвитку специфічних хронічних ускладнень у вигляді мікро- або макроангіопатій [11].

1.1.3 Патогенез цукрового діабету 2 типу

Цукровий діабет типу 2 – порушення вуглеводного обміну, спричинене відносною інсуліновою недостатністю внаслідок інсулінорезистентності (ІР) та/або переважним порушенням секреції інсуліну з ІР або без неї [12].

Захворюваність і поширеність ЦД 2 змінюються залежно від географічного регіону: понад 80% пацієнтів проживають у країнах з низьким і середнім рівнем доходу, що створює додаткові проблеми щодо ефективності лікування. Ризик смертності від усіх причин у пацієнтів з ЦД 2 типу на 15% вище ніж у осіб без цукрового діабету із серцево-судинними захворюваннями (ССЗ), які є найбільшою причиною захворюваності та смертності, пов'язаної з ЦД 2 типу [13].

Інсулінорезистентність – це сукупність патологічних явищ, за умови яких порушуються біологічні ефекти інсуліну. В основі захворювання лежить генетична схильність, яка реалізується під впливом зовнішніх патогенетичних факторів (ожиріння, вік, гіподинамія та інше) [6]. Доказом генетичної обумовленості цукрового діабету 2 типу є висока частота захворювання в найближчих родичів хворих (до 40%). На користь спадкоємної природи хвороби

говорить висока поширеність захворювання в деяких етнічних групах населення, наприклад серед індіанців Піма (Аризона, США) вона перевищує 50% [6].

При цукровому діабеті 2 типу спостерігаються два типи генетичних дефектів. Дефекти першого типу викликають ІР та/або ожиріння. Дефекти другого типу служать причиною зниженої секреторної активності В-кліток, або їхньої нечутливості до гіперглікемії [12].

Незважаючи на спадковий характер ЦД 2 типу, конкретні генетичні маркери, що пов'язані з ним, остаточно не ідентифіковані. Генетичні дослідження близнюків та родин, де є хворі на ЦД, свідчать про полігенне успадкування захворювання. Проте, в окремих популяціях спостерігається й автосомно-домінантний тип успадкування [12, 14].

Патогенез цукрового діабету 2 типу включає два ведучих фактори: резистентність до інсуліну і дефект секреції інсуліну, що присутні в кожного хворого, але в різних співвідношеннях. Ці фактори включають щонайменше два види генетичних дефектів, які можуть викликати інсулінорезистентність або спричинити ожиріння, що призводить до ІР.

Дефекти першого типу викликають ІР або ожиріння, яке призводить до розвитку ІР. Дефекти другого типу є причиною зниженої секреторної активності бета-клітин або їх нечутливості до гіперглікемії. На сьогодні невідомо, який із дефектів первинний.

У відповідь на нечутливість тканин до інсуліну в крові хворих часто присутня гіперінсулінемія. Підвищення концентрація інсуліну внаслідок ІР розглядають як компенсаторну. Ці процеси мають полігенну природу. Проте, існують моногенні форми ЦД, зокрема, юнацький ЦД, який успадковується автосомно-домінантно – різновиди діабету дорослого типу в молодих – MODY (Maturity-onset diabetes of the young), які характеризуються помірною дисфункцією бета-клітин, початком у молодому віці (до 25 років), відсутністю ожиріння, кетонемії та ІР. На частку MODY припадає до 20% випадків ЦД 2-го типу (залежно від країни).

Важливим аспектом патофізіології цукрового діабету 2 типу є прогресуюче зниження постпрандіальної інсулінової відповіді, особливо в ранній фазі. У хворих на ЦД 2 типу реєструють дефектний профіль секреції інсуліну, при якому базальна секреція інсуліну не змінена, але секреція інсуліну у відповідь на прийом їжі (постпрандіальна секреція інсуліну) згладжена і відстрочена [17]. Відсутність зниження прандіальних піків глюкози в плазмі до фізіологічного рівня протягом постпрандіального періоду, призводить до виникнення постійної гіперглікемії. Бета-клітини нездатні відповідати на зміни концентрації глюкози в плазмі крові і, як наслідок, нездатні компенсувати інсулінорезистентність підвищенням секреції інсуліну.

Гіперінсулінемія зменшує кількість рецепторів на клітинах-мішенях і сприяє ожирінню. У результаті зниження чутливості бета-клітин на підвищення рівня глюкози виникає відносний дефіцит інсуліну, що виражається в порушенні толерантності до вуглеводів. Інсулінорезистентність спричинює зниження утилізації глюкози в тканинах і посилює глікогеноліз та глюконеогенез у печінці, внаслідок чого підвищується продукція глюкози і збільшується гіперглікемія – розвиваються симптоми явного діабету [12]:.

Отже, у розвитку та прогресуванні гіперглікемії можна виділити три основні механізми [12]:

- зниження секреції інсуліну внаслідок функціональної недостатності інсулярного апарату;
- резистентність тканин до інсуліну і недостатня утилізація глюкози;
- компенсаторне підвищення продукції глюкози печінкою.

Як й ЦД 1 типу, ЦД 2 типу є енергодефіцитним станом, оскільки обмін основних джерел енергії – вуглеводів та жирів – порушений через абсолютну або відносну інсулінову недостатність. За умов ІР та відносного дефіциту інсуліну порушується транспорт глюкози в клітини м'язової та жирової тканин, внутрішньоклітинний метаболізм глюкози, зменшується її утилізація, знижується синтез та підвищується розпад глікогену в печінці.

Спостерігаються значні порушення жирового обміну. Стимуляція надлишком інсуліну ліпогенезу і секреції ЛПДНЩ у печінці у хворих на ЦД 2 типу призводить до розвитку дисліпопротеїдемії (особливо гіпертригліцеридемії). Слід зазначити, що порушення обміну ліпідів є однією з важливих причин розвитку макроангіопатій – атеросклерозу та ІХС [12, 15].

Білковий обмін характеризується посиленням катаболізму, неоглюкогенезом. Водночас порушуються мінеральний і водний обміни, змінюється водно-електролітний баланс [15].

В здоровому організмі нормоглікемія забезпечується злагодженою збалансованою взаємодією інсуліну з іншими гормонами, у першу чергу з контрінсуліновими і шлунково-кишковими. Порушення секреції інсуліну порушує цю рівновагу, що призводить до гіперпродукції контрінсулінових гормонів і посилення метаболічних розладів.

Таким чином, ЦД 1 та 2 типу є гетерогенними захворюваннями, клінічні прояви та прогресування яких можуть суттєво відрізнятися. Класифікація захворювання є важливою для вибору терапії, але деякі люди не можуть бути однозначно класифіковані як такі, що страждають на діабет 1 або 2 типу на момент встановлення діагнозу.

Як при цукровому діабеті 1, так і 2 типу, поєднання різних генетичних факторів з факторами навколишнього середовища призводить до поступової втрати маси та/або функції β -клітин, що клінічно проявляється гіперглікемією. Як тільки виникає гіперглікемія, у пацієнтів з усіма типами діабету існує ризик розвитку однакових хронічних ускладнень, хоча темпи прогресування залежно від типу ЦД можуть відрізнятися.

1.2 Сучасні клініко-діагностичні аспекти цукрового діабету.

Клінічні прояви ЦД 1 типу зумовлені характером захворювання, його тривалістю, ступенем компенсації обмінних процесів, наявністю судинних та

інших порушень і ускладнень. Умовно симптоми ЦД можна поділити на дві групи:

1. Симптоми, зумовлені декомпенсацією захворювання;
2. Симптоми, зумовлені наявністю і ступенем прояву діабетичної ангіопатії, невропатії та інших ускладнень або супровідної патології.

Під компенсацією ЦД розуміють підтримування на фізіологічному (або близькому до норми) рівні основних показників вуглеводного, жирового, білкового та електролітного обмінів, що забезпечує задовільний загальний стан хворого і збереження його працездатності.

До найтиповіших проявів декомпенсації вуглеводного обміну (гіперглікемія і глюкозурія) належать такі симптоми як сухість у роті, полідипсія (спрага), поліурія (добовий діурез — понад 1,5-2 л), ніктурія (у дітей може розвиватися енурез), прогресуюче схуднення, свербіж шкіри, слабкість, сонливість після їди, фурункульоз, у дітей може виникати біль у животі та у нижніх кінцівках.

Діабет 1-го типу характеризується швидкою маніфестацією. Дуже часто в стані крайньої декомпенсації обмінних процесів виникає діабетичний кетоацидоз, який може розвиватися на тлі тривалого ЦД при неадекватному лікуванні інсуліном, розвитку вторинної інсулінорезистентності (ІР), порушенні режиму та дієти, інтоксикаціях, гарячці, інфекції, інтеркурентних захворюваннях, травмах, хірургічних втручаннях, стресах, перегріванні на сонці та інших ситуаціях, що зумовлюють напругу організму за умови неадекватної корекції лікарськими засобами. Крім діабетичної та гіперкетонемічної коми, у хворих на ЦД можуть розвиватися некетоацидотична гіперосмолярна кома, молочнокисла, церебральна кома і, як наслідок, передозування інсуліну, гіпоглікемічна кома [15].

При діабеті пошкоджуються всі органи і системи. Зміни шкіри проявляються діабетичною дерматопатією, сверблячим дерматозом, ексикозом, схильністю до фурункульозу та мікозу, ксантоматозом, ліпоїдним некробіозом, інсуліновими ліподистрофіями тощо. Ураження травної системи проявляється

діабетичною ентеропатією і гепатопатією. Серед уражень органів сечовидільної системи, окрім специфічної діабетичної нефропатії, необхідно відмітити і такі неспецифічні зміни як артеріосклероз ниркової артерії та її гілок, ураження каналців нефрону, пієлонефрит, папілярний некроз. Ураження органів зору виявляється діабетичною ретинопатією, атрофією зорових нервів та катарактою. Ураження серця у хворих на ЦД може виявлятися у вигляді кардіоміопатії, ішемічної хвороби серця або їх поєднання, а ураження судин – у вигляді діабетичної макро- та мікроангіопатії [15].

Відповідно до оновлених рекомендацій Американської діабетичної асоціації (ADA, 2021). Цільовими показниками глікемічного контролю є рівень глюкози в плазмі крові натще – 4,4-7,2 ммоль/л, рівень глюкози в плазмі крові через 2 год після прийому їжі – <10 ммоль/л, глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) >70% (табл. 1.1)

Таблиця 1.1

Цілі глікемічного контролю для більшості невагітних дорослих із ЦД

Параметр	Цільові показники терапії
Рівень глюкози в плазмі крові натще	4,4-7,2 ммоль/л
Рівень глюкози в плазмі крові через 2 год після їди	<10 ммоль/л
HbA1c	≤7%
Час у цільовому діапазоні (TIR)*	>70%
Час, нижчий за цільовий діапазон (TBR)*	<4%

Примітка. * При застосуванні постійного моніторингу глюкози [14].

На сьогоднішній день майже основним предиктором клінічної гіперглікемії та діабету 1 типу вважається стійка наявність у пацієнтів двох або більше острівцевих автоантитіл. Швидкість прогресування захворювання залежить від віку, при якому вперше виявили автоантитіла, кількості автоантитіл,

специфічності та титру аутоантитіл. Рівень глюкози і HbA1c підвищуються задовго до клінічного початку діабету, що дозволяє діагностувати ЦД задовго до розвитку діабетичного кетоацидозу (ДКА). Можна виділити три різні стадії діабету 1 типу (таблиця 1.2), які служать основою для подальших досліджень та прийняття регуляторних рішень.

Таблиця 1.2.

Стадії діабету 1 типу

Стадії	Характеристики	Діагностичні критерії
Стадія 1	Аутоімунна Нормоглікемія Пресимптоматична	Наявність аутоантитіл Не має ПГН та ПТГ
Стадія 2	Аутоімунна Дисглікемія Пресимптоматична	Наявність аутоантитіл Дисглікемія ПГН або ПТГ ГПН -100 - 125 мг/дл (5,6-6,9 ммоль/л) 2-годинний ПГ 140-199 мг/дл (7,8 - 11,0 ммоль/л) HbA1c 5,7 - 6,4% (39-47 ммоль/моль) або $\geq 10\%$ -збільшення HbA1c
Стадія 3	Вперше діагностована гіперглікемія Симптоматична	Клінічні симптоми Діабет за стандартними критеріями

Для ЦД 2 типу характерний повільний розвиток захворювання. Клінічні прояви діабету 2-го типу нерідко вже з перших років характеризуються поліморфною симптоматикою, що відображає наявність різних за ступенем вираженості, прогресуванням і локалізацією ангіоневропатій.

Нерідко розвитку явних стадій діабету, особливо 2-го типу, передують тривалий період прихованих гіпоглікемічних станів різної вираженості, зумовлених гіперсекрецією інсуліну. Клінічно такі стани проявляються відчуттям голоду, слабкістю, пітливістю, тремтінням, головним болем, що виникають після тривалих перерв між прийомами їжі або на тлі фізичного навантаження,

нівелюються прийманням їжі, особливо із вмістом вуглеводів. Проте на тлі інфекції, інтоксикації, травми тощо ЦД 2 типу може проявлятися досить гостро [15, 17].

Для діагностики ЦД, оцінки тяжкості й стану компенсації захворювання важливе значення має визначення рівня цукру в крові, повторні його визначення впродовж доби, визначення вмісту кетонів у сечі та крові [14, 15, 17]. Явний ЦД діагностують на підставі виявлення підвищення вмісту цукру в крові натще та появи цукру у добовій сечі чи денній сечі.

Якщо за повторних досліджень виявляють незначне підвищення або нормальні величини цукру в крові в поєднанні з епізодичною глюкозурією або виникають будь-які інші сумніви щодо діагнозу, застосовують перорального тесту на толерантність до глюкози (ПТТГ). Експерти говорять, що навіть випадкове, одноразове виявлення гіперглікемії або глюкозурії потребує ретельної перевірки для виключення чи підтвердження ЦД [16].

Якщо рівень глюкози в плазмі натще (ГПН) або 2-годинне значення глюкози в плазмі (2-г ГП) під час проведення ПТТГ відображають поточний стан глікемічного профілю хворого, то глікозильований (глікований) гемоглобін є об'єктивним сталим показником стану компенсації ЦД. В процесі повільної неферментативної реакції, що залежить від концентрації глюкози, гемоглобін та інші білки з'єднуються з глюкозою. Чим більше глюкози міститься в крові, тим більше глікозильованого гемоглобіну нагромаджується в еритроцитах. Рівень HbA1c відображає середній рівень вмісту глюкози у крові за період життя еритроцитів – останні 3 міс., упродовж яких відбувається взаємодія гемоглобіну і глюкози. У нормі вміст HbA1c у крові становить 5-7% від загального рівня гемоглобіну. Гемоглобін HbA1c є найважливішою підгрупою фракції гемоглобіну (HbA1), яка складається із трьох компонентів (HbA1a + в + с).

Отже, відповідно до клінічної настанови, критеріями для діагнозу ЦД є значення глюкози в плазмі натще або 2-годинне значення глюкози в плазмі під

час проведення перорального тесту на толерантність до глюкози, або HbA_{1c} (A1C) [17]:

- ГПН ≥ 126 мг/дл (7,0 ммоль/л). Голодування визначається як відсутність споживання калорій принаймні 8 год.
- 2-годинна ПГ ≥ 200 мг/дл (11,1 ммоль/л) під час ТТГ. Тест слід проводити, як описано ВООЗ, з використанням глюкозного навантаження, що містить еквівалент 75 г безводної глюкози, розчиненої у воді.
- A1C $\geq 6,5\%$ (48 ммоль/моль). Тест слід проводити в лабораторії з використанням методу, який сертифікований NGSP та стандартизований для аналізу DCCT.
- У пацієнтів з класичними симптомами гіперглікемії або гіперглікемічного кризу випадкова концентрація глюкози в плазмі ≥ 200 мг/дл (11,1 ммоль/л).

1.3 Особливості імунного статусу хворих на ЦД.

1.3.1 Імунний статус хворих на ЦД 1 типу

Цукровий діабет 1 типу є багатофакторним полігенним захворюванням, що призводить до розвитку абсолютного дефіциту інсуліну, порушення вуглеводного та інших видів обміну речовин [18]. За умови ЦД 1 типу розвивається класична трійка клінічних симптомів – полідипсія, поліфагія та поліурія. Найчастіше захворювання діагностують у дітей та підлітків, які зазвичай демонструють вищезгадану комбінацію симптомів і виражену гіперглікемію, що вимагає довічної терапії інсуліном. При ЦД 1 типу руйнування β -клітин має аутоімунну природу і зачіпає обидві ланки імунної системи – гуморальну і клітинну відповідь (автоантигени острівцевих клітин розпізнаються як аутоантитілами, так й автореактивними ефекторними Т-лімфоцитами), а також супроводжується порушенням регуляції балансу Т-хелперів 1 типу (Th1) і Т-хелперів

2 типу (Th2) за типом взаємовідносин контррегуляції. Відповідно до існуючих теорій за умови ЦД 1 типу переважає активність Th1, внаслідок чого у розвитку аутоімунного процесу провідне місце займають прозапальні цитокіни, цитотоксичні ферменти (перфорин і гранзим) і інші сполуки, зокрема вільні радикали (оксид азоту, кисень), що продукуються Т-лімфоцитами. Останнє й спричинює руйнування β -клітин підшлункової залози [19, 20, 21, 22].

Клінічні спостереження доводять, що від 70% до 90% людей із ЦД 1 типу при діагностиці мають ознаки імуноопосередкованого процесу – наявність анти-тіл до антигенів β -клітин: автоантитіла до інсуліну (IAA), до глутаматдекарбоксилази (GAD), тирозинфосфатаза-подібного білка (IA-2A), до цитоплазматичних антигенів острівцевих клітин (ICA) та до транспортерів цинку – ZnT8. Встановлено асоціацію захворювання з генами головного комплексу гістосумісності (HLA) [23, 24, 19, 25, 26].

Отже, хворі на цукровий діабет можуть мати ряд особливостей у своєму імунному статусі:

Аутоімунні реакції: У випадку типу 1 цукрового діабету власна імунна система атакує та руйнує бета-клітини підшлункової залози, відповідальні за продукцію інсуліну. Це є результатом аутоімунних реакцій, коли імунна система помиляється і нападає на власні клітини.

Збільшений ризик інфекцій: Люди з цукровим діабетом можуть бути схильнішими до інфекцій через порушення функції імунної системи, що може призвести до підвищення частоти та тяжкості інфекцій.

Запальні процеси: хронічний запальний стан може бути характерним для багатьох людей із цукровим діабетом. Запалення може бути наслідком порушення метаболізму цукру, що в свою чергу може впливати на імунну відповідь.

Імунна дисфункція: зміни в функції та реакції імунної системи можуть відбуватися через довгострокове впливання високого рівня цукру в крові на клітини імунної системи.

Порушення загоєння поранень: у хворих на цукровий діабет може бути повільніше загоєння поранень через вплив хронічного високого рівня цукру на мікроциркуляцію та імунну систему.

Ці особливості імунного статусу у хворих на цукровий діабет підкреслюють важливість регулярного моніторингу та підтримки імунної системи для запобігання ускладнень та покращення якості життя пацієнтів.

1.3.2 Особливості дисфункції імунної системи за ЦД 2 типу.

Цукровий діабет 2 типу є найпоширенішою формою діабету (~90%), що характеризується системним запальним захворюванням та супроводжується ІР або зниженою метаболічною відповіддю на інсулін у тканинах (в жировій тканині, печінці та скелетних м'язах), а також порушенням синтезу інсуліну β -клітинами підшлункової залози.

Встановлено, що у виникненні як самого захворювання, так й його ускладнень, велику роль відіграє імунна система. Порушення імунного статусу хворих на ЦД 2 типу негативно впливають як на його патогенез, так й на розвиток діабетичних ускладнень. В останні роки показано роль прозапальних цитокінів (IL-1, IL-3, IL-6, TNF- α та ін.) у розвитку ІР, особливо у пацієнтів з ожирінням. Збільшення синтезу прозапальних цитокінів на тлі ожиріння запускає ініціацію та прогресування судинних ускладнень за ЦД (рис.1.4) [27].

У роботах Тронько М.Д. [27], Yiwen Li зі співавт. [28], Gholamreza Daryabor зі співавт. [29] та багатьох інших, показано, що розвиток мікро- та макроангіопатій за ЦД 2 типу пов'язаний з хронічним імунозапальним процесом, з утворенням імунних комплексів. Безпосередня участь у цьому процесі належить активованим моноцитам і макрофагам, імуноглобулінам, цитокінам, адгезивним молекулам, продуктам кінцевого глікозилювання.

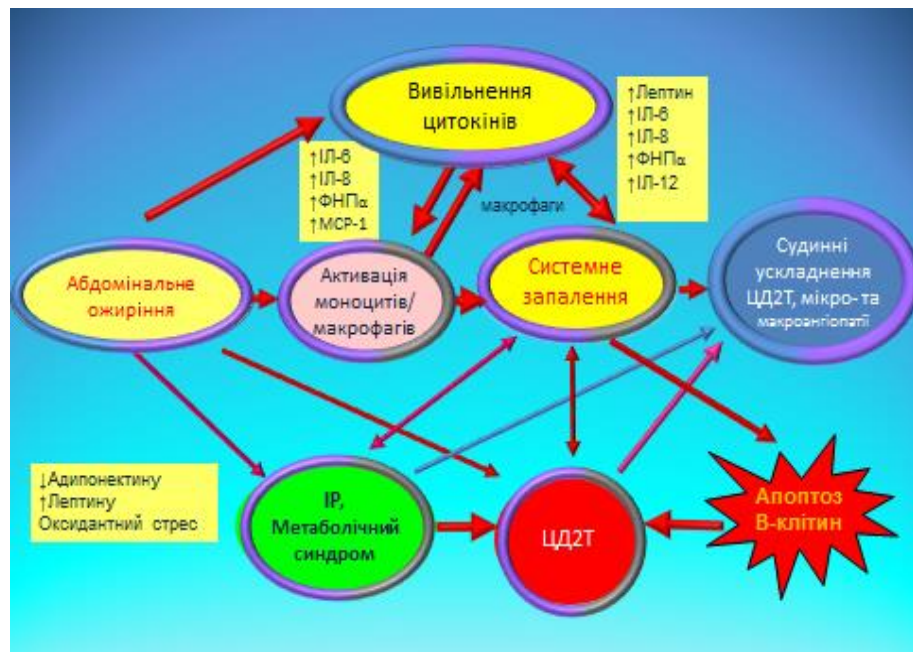


Рис. 1.2. Схема патогенезу ЦД 2 типу та його судинних ускладнень (за Тро-
нсько М.Д. [27]).

Активация неферментативного глікозилювання за умови ЦД призводить до порушення гуморального імунітету багатьма шляхами, наприклад, внаслідок модифікації структури та, відповідно, функції імуноглобулінів (Ig) [30, 31]. А це в свою чергу спричинює зниження ефективності вакцин, що стимулюють гуморальний імунітет у таких пацієнтів. Було показано, що імунізація вакцинами проти грипу у хворих на цукровий діабет викликає формування нормального або навіть підвищеного рівня антитіл до грипу порівняно з нормальними особами [32, 33]. Проте, захисна функція цих дефектних глікозилюваних антитіл щодо мікроорганізмів порушується, що, в свою чергу, знижує опірність організму до інфекцій. Метьюз та ін. (Mathews et al.) показали, що захисні рівні антитіл проти поверхневого протеїну A *Streptococcus pneumoniae* нижчі у хворих на ЦД порівняно з особами, які не хворіють на цукровий діабет. Ці антитіла також демонструють недостатній потенціал активувати комплемент на поверхні пневмококів, внаслідок чого фагоцитоз бактерій стає скомпрометованим. Вони також показали, що гіперглікемія знижує як титри антитіл, так і опсонізуючу функцію комплементу щодо бактерій. Вищезгадані зміни в здатності до захисту від *S. aureus* і *S. pneumoniae* є важливими, оскільки ці бактерії

належать до найбільш поширених збудників інфекцій у хворих на цукровий діабет [34].

Багато досліджень показали, що в осіб із ЦД 2 типу порушена функціональна активність Т-клітин [35, 36]. На тлі ожиріння рівні активованих CD4+CD278+Т-клітин-хелперів, цитотоксичних Т-клітин і Th17-клітин були вище у пацієнтів з ЦД ніж у осіб з ЦД але без ожиріння [37]. Крім того, поліморфноядерні лейкоцити, виділені від хворих на ЦД з ожирінням, синтезували меншу кількість IL-2, IL-6 та TNF- α після стимуляції фітогемаглютиніном, що віддзеркалює зниження функціональної активності Т-клітин [37].

Мартінес зі співавторами показали, що пацієнти з ЦД мають знижену специфічну, для патогена, відповідь Th17 лімфоцитів-пам'яті, а також зменшення кількості CD4+Т-клітин у відповідь на стимуляцію *Streptococcus pneumoniae* [37]. Встановлено, що клітини Th17 мають вирішальне значення для залучення нейтрофілів до місця інфекції та активації фагоцитозу бактерій та дріжджів, що потрапляють в організм ззовні [38].

Moura зі співавторами показали, що пацієнти з ЦД, особливо з наявністю діабетичної стопи, мають знижені рівні наївних Т-клітин, але підвищену кількість ефektorних Т-клітин [39]. Науковці пов'язують встановлені зміни з аномальною кількістю запальних цитокінів (наприклад, IFN- γ і TNF- α), що виробляються під час інфекції, та подальшою потужною стимуляцією Т-клітин. Leung та ін. повідомили, що ішемізовані тканини пацієнтів із ЦД 2 типу містять підвищену кількість клітин Th1, що продукують TNF- α та IFN- γ , та зменшену кількість регуляторних Т-клітин (Tregs), які пригнічують ангіогенез та зменшують щільність судин [40].

Високий рівень інфекційних захворювань у пацієнтів із ЦД 2-го типу також може бути пов'язаний зі зниженням функції мітохондріальної ДНК, що спричиняє дисфункцію лімфоцитів, а це, в свою чергу, обумовлює підвищену сприйнятливність до інфекції [41, 42]. Нещодавно проведені дослідження продемонстрували, що у пацієнтів із ЦД 2 типу кількість клітин, що продукують

IFN- γ , проти цитомегаловірусу (ЦМВ), вірусу Епштейна-Барр (EBV) та вірусу грипу значно менша ніж у звичайних осіб [43].

Кумар та ін. досліджували функції CD8⁺ Т-клітин і NK-клітин у цільній крові пацієнтів із ЦД 2 типу, інфікованих *Mycobacterium tuberculosis*. У порівнянні з контролем у цих пацієнтів спостерігалось зниження як продукції цитокінів (IFN- γ , IL-2, IL-17A/F і TNF- α) так й зниження експресії цитотоксичних молекул (перфорину, гранзиму В і CD107a) [44].

Підсумок

Цукровий діабет – це складне хронічне захворювання, що характеризується порушенням метаболізму глюкози внаслідок абсолютного або відносного дефіциту інсуліну. За сучасною класифікацією, він включає різні типи, серед яких ЦД 1 типу і ЦД 2 типу є найбільш поширеними підтипами.

Цукровий діабет 1 типу характеризується аутоімунним руйнуванням інсулінподокуючих β -клітин ПЗ, тоді як ЦД 2 типу є результатом поєднання β -клітинного секреторного дефекту та ІР. За умови ЦД 2 типу активуються прозапальні цитокіни та порушуються обидві ланки імунної системи – гуморальна та клітинна, що призводить до зниження опірності хворих на ЦД вірусним, грибковим та бактеріальним інфекціям.

Цукровий діабет супроводжується різними супутніми захворюваннями та хронічними ускладненнями, такими як ожиріння, артеріальна гіпертензія, васкулопатія, прозапальний і гіперкоагуляційний стан та серцево-судинні захворювання.

РОЗДІЛ 2. БІОМАРКЕРИ ГЛІКЕМІЧНОГО КОНТРОЛЮ ТА ІМУНОПАТОЛОГІЇ ЗАХВОРЮВАННЯ.

2.1 Глікозильований гемоглобін – маркер діагностики та моніторингу цукрового діабету.

Оптимальна терапія ЦД вимагає регулярного дослідження рівня глікемії з частотою 2-4 рази на рік. Такий підхід дає можливість своєчасної корекції схеми лікування ЦД та запобігає розвитку ускладнень. Крім того, ефективна терапія ускладнень цукрового діабету та супутніх захворювань неможлива без досягнення оптимального рівня глікемії [45].

Існує багато способів перевірити глікемію (наприклад, явні симптоми в анамнезі (поліурія, полідипсія тощо), рівень глюкози в сечі, випадковий рівень глюкози в плазмі або натще).

Із всіх лабораторних інструментів оцінки глікемічного профілю хворого найбільш часто використовуваним є рівень глюкози в крові натще, він адекватно відображає середню глікемію при стабільному діабеті 2 типу. Згідно з рекомендаціями клінічної настанови України, саме цей показник, як й 2-годинне значення глюкози в плазмі (2-г ГП) під час проведення ПТТГ, є рутинними лабораторними тестами для діагностики ЦД. Але ці показники відображають рівень глюкози в крові лише на даний момент часу [17].

Найбільш стабільним показником є визначення HbA_{1c}, оскільки він відображає рівень глікемії за 3 місяці. Клінічне тестування на HbA_{1c} проводиться більш ніж у 220 мільйонів хворих із діагностованим діабетом у всьому світі, хоча фактична кількість людей з діабетом, більша через підступний початок діабету 2 типу та через те, що доволі багато людей із порушенням толерантності до глюкози залишаються поза уваги лікарів.

Клініцисти відмічають, що для отримання надійних результатів лабораторне тестування на HbA_{1c} необхідно виконувати у високоякісних клінічних

лабораторіях, стандартизованих відповідно до Національної програми стандартизації глікогемоглобіну (NGSP) [46].

Деякі модифікації тесту дозволяють проводити діагностику на місці надання медичної допомоги, що дає можливість отримати результати відразу, під час огляду пацієнтів, а не через деякий час після візиту. До того ж експрес-тести на місці надання медичної допомоги можна використовувати в медичних закладах з обмеженим доступом до клінічної лабораторії. Це дуже важливо, враховуючи недостатність діагностичного обхвату людей на ЦД.

Значною перевагою визначення вмісту HbA1c (A1c) з метою моніторингу глікемії є те що проведення тесту не вимагає попереднього голодування хворого, а кров можна здавати в будь-який час протягом дня. Експерти сподіваються, що ця перевага тесту на глікований гемоглобін дозволить поставити діагноз більшій кількості людей.

Очікується, що портативні аналізи та тести, такі як різні біосенсори, ручні набори для біотесту та подібні аналітичні пристрої, можуть дозволити клініцистам поставити діагноз цукрового діабету в домашніх умовах або в умовах невеликих лабораторій і приватних медичних практик.

HbA1c — це глюкозомодифікований гемоглобін, що утворюється під час спонтанної реакції між глюкозою та N-кінцевими залишками валіну на β -ланцюгах β -N-1-дезоксифруктозилу, що утворює гемоглобін [47]. Точний хімічний механізм глікозилювання базується на утворенні основи Шиффа, яка потім переходить у перегрупування за допомогою реакцій Майяра, врешті-решт забезпечуючи кінцеву молекулу ковалентно зв'язану глюкозою, що називається продуктом Амадорі, або кінцевим продуктом глікації [48]. Принципи цієї хімічної реакції зображено на малюнку 2.1. Після утворення HbA1c він залишається в кровообігу протягом досить тривалого часу, зазвичай від двох до трьох місяців, через тривалість життя еритроцитів, яка становить приблизно 120 днів [49]. Рівень HbA1c в крові досить стабільний і не залежить від часу доби, голодування або нещодавно прийнятої їжі [50]. Усі вищезазначені факти роблять HbA1c хорошим маркером цукрового діабету з мінімальною

помилковою діагностикою через тимчасові та непатологічні зміни глікемії [51, 52]. Хоча вимірювання HbA1c зазвичай вважається хорошим способом діагностики цукрового діабету, деякі патології, такі як гемолітична анемія, яка впливає на тривалість життя еритроцитів, або наявність аномального ланцюга в молекулі гемоглобіну можуть спричинити спотворення результатів [53].

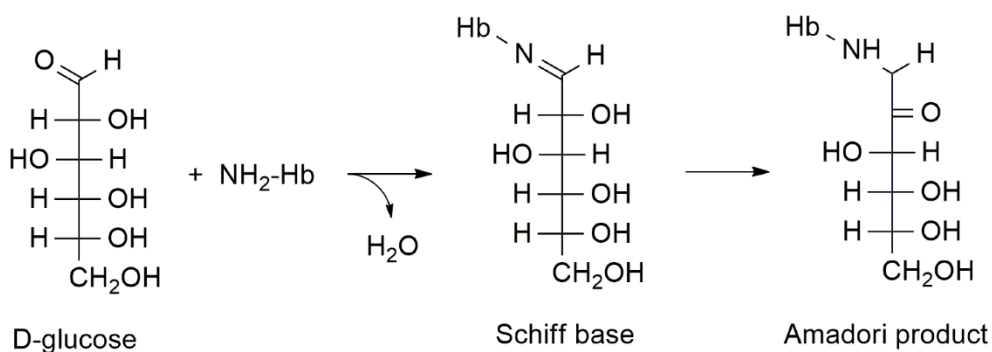


Рис. 2.1 Хімічні принципи глікації гемоглобіну, Hb = гемоглобін. [54]

Накопичення кінцевих продуктів глікації пов'язане з прогресуванням ускладнень діабету, зокрема, приймають участь у розвитку серцево-судинних захворювань [55]. Вони накопичуються в різних частинах тіла та взаємодіють з рецепторами кінцевих продуктів прогресуючого глікування (RAGE), викликають окислювальний стрес, підсилюють запалення та посилюють відкладення позаклітинного матриксу, тим самим прискорюючи процес ендотеліальної дисфункції. Як наслідок, вони призводять до прискореного утворення бляшок і кінцевого атеросклерозу при діабеті [56].

На противагу ферментативна деглікація змінює процес неферментативного глікозилювання та генерує вільні аміногрупи [12]. Ферментативна деглікація є потужною системою захисту від неферментативної глікації в клітинах ссавців. Ця система працює за допомогою фруктозамін-3-кінази (FN3K), фосфорилуючи залишок фруктозеліну на глікованих білках і, таким чином, дестабілізуючи сполуку, зрештою викликаючи розкладання глікованих білків [57, 58].

Цей процес ферментативної деглікації переповнюється епізодами екстремальної гіперглікемії в осіб з діабетом, оскільки неферментативна глікація продовжується без зупинки [59]. У довгостроковій перспективі це змінює стабільність структури білка, що зрештою призводить до клітинної дисфункції [60].

Молекулярна маса гемоглобіну – 64,5 кДа з не більше однієї зв'язаної глюкози – може зрости до 68 кДа, коли приєднується до 15 фрагментів глюкози [61, 62]. Інтенсивність флуоресценції також може підвищуватися від 34% для неглікованого гемоглобіну до 45% для HbA1c [63]. Отже, флуоресценція може служити аналізом для ідентифікації типів гемоглобіну [64]. Спектроскопія також може ідентифікувати різні типи гемоглобіну [65]. Зміни гідрофобності поверхні можна досліджувати за допомогою таких реагентів, як 6-п-толуїдинілнафтален-2-сульфонат і 8-анілінонафтален-1-сульфонат, які забезпечують флуоресценцію залежно від полярності розчинника, розвивають низьку флуоресценцію в полярних розчинниках (наприклад, вода) і висока флуоресценція в низькополярних розчинниках [66]. Глікація гемоглобіну робить HbA1c менш полярним, ніж неглікований гемоглобін, що можна візуалізувати за допомогою 8-анілінонафталін-1-сульфонату [62]. Поверхневі гідрофобні ділянки можуть служити для утримання всієї молекули при хроматографічному виділенні. Наприклад, у дослідженні проведеному Shanbhag, V.P. та Axelsson C.-G. гемоглобін був розділений у системі полярної фази та показав високе значення коефіцієнта розподілу в більш гідрофобному середовищі, такому як поліетиленгліколевий полімер, збагачений олеатом [67]. Нормальний і підвищений глікований гемоглобін розрізнявся між фазами, що склалися з різних кількостей ПЕГ 600, декстрану 500 або полівінілпіролідону. Zaslavsky, B.Y. зі співавторами використовували полярні фази та успішно розрізняли рівні глікованого гемоглобіну, що вказує на полярний характер поверхні [68, 69].

Співвідношення HbA1c до неглікованого гемоглобіну служить для діагностики цукрового діабету. Здорові люди мають менше приблизно 42 ммоль/моль HbA1c порівняно із загальним гемоглобіном, що становить 6,0%. Підозра на цукровий діабет (предіабет) знаходиться в діапазоні 42–47

ммоль/моль відповідно, що становить від 6,0% до 6,4%. Порівняння неглікованого гемоглобіну та HbA_{1c} представлено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Основні характеристики неглікованого гемоглобіну та HbA_{1c}

Специфікація	Неглікований гемоглобін	HbA _{1c}
Кількість гліковий sites/молекулярна вага	1/64.5 мг	15/68 мг
Інтенсивність флуоресценції	34%	45%
Гідрофобність	високий	низький
Відсоток у крові здорових людей	вище 94%	менше 6.0%
Відсоток у крові людей з переддіабетом	94.0–93.5%	6.0–6.5%
Відсоток у крові хворих на цукровий діабет	менше 93.5%	більше 6.5%

Наявність HbA_{1c} вище значення 48 ммоль/моль, що становить 6,5% і більше, характерно для людей, які страждають на цукровий діабет [70].

Слід зазначити, що проведення аналізу HbA_{1c} не потребує специфічної підготовки пацієнта та стану натще. Здійснюється дослідженням крові з вени в стаціонарній лабораторії. Також використовуються експрес-аналізатори HbA_{1c}, які працюють з зразками крові з пальця і за кілька хвилин надають результат. Такі портативні апарати дуже зручні для проведення скринінгу на виявлення переддіабету. Також вони дають можливість лікарю прямо у себе в кабінеті зробити аналіз та оцінити стан компенсації діабету у пацієнта. Порівняння переваг та недоліків наведено у таблиці 2.2.

Переваги та недоліки аналізу крові на HbA1c

Переваги	Недоліки
Дає можливість оцінити середній рівень глюкози в крові впродовж довгого періоду в 3 місяці, а не просто рівень глюкози в момент проведення аналізу; Може проводитися в будь який час – для аналізу не потрібен стан натще (8 годин голодування), що дуже зручно для скринінгу; Менша залежність від стану стресу, супутніх захворювань.	Вища вартість та менша доступність у порівнянні з показником глюкози крові; При деяких станах та захворюваннях показник HbA1c може реєструватися більш низьким або ж більшим ніж насправді є рівень глюкози в крові.

Більш низький показник HbA1c може бути при таких станах:

- Цукровий діабет 1 типу, при різкій декомпенсації, що спричинили сильний стрес, інфекційне захворювання, операція тощо. Оскільки процес перебігає дуже швидко рівень HbA1c просто не встигає піднятися до відповідного рівня, незважаючи на те, що рівень глюкози насправді вже дуже високий.
- При гемолітичній анемії спостерігається зниження рівня HbA1c. Це пояснюється тим, що за анемії активно стимулюється формування нових еритроцитів. У такій ситуації співвідношення між кількістю старого (глікованого) та нового (неглікованого) гемоглобіну змінюється у бік неглікованого. Таким чином, показник HbA1c не відображає дійсного рівня глюкози та реальна ситуація маскується.
- Інформативність HbA1c знижується при кровотечі або гемолізу (руйнування еритроцитів). У таких випадках результат буде занижений.

2.2. Стандартизація лабораторних методів визначення глікозильованого гемоглобіну

Діагностика та моніторинг лікування людей з діабетом є глобальною проблемою, яка потребує значних ресурсів у лабораторіях та клініках у всьому світі. Гемоглобін A1c (HbA1c) протягом багатьох років був основою моніторингу глікемічного контролю у людей з ЦД, а останнім часом його пропагували як діагностичний засіб для ЦД 2 типу.

Хороша аналітична продуктивність є ключем до успішного використання будь-якого лабораторного тесту, але має вирішальне значення при використанні тесту для діагностики захворювання, особливо коли потенційна кількість діагнозів може перевищити 500 мільйонів людей. Дуже невеликі варіації у зміщеннях або підвищеній неточності можуть призвести або до упущеної діагностики, або до гіпердіагностики захворювання, а враховуючи масштаб глобального тягаря захворювання, це може означати помилкову класифікацію потенційно мільйонів людей. Основою хорошої ефективності діагностичного тестування є стандартизація з визначеними стандартними матеріалами та процедурами вимірювання [71].

Відсутність стандартизації лабораторних методів визначення HbA1c призвела до великої варіативності результатів – від 4,0% до 8,1% для одного зразка [72], що ускладнювало порівняння міжлабораторних результатів пацієнтів. Ця невідповідність завжди була джерелом занепокоєння серед постачальників медичних послуг.

У епоху важкої економічної міграції, коли люди подорожують на великі відстані та беруть із собою рідні записи, це стає ще важливішим. Тому мати той самий метод і однакові одиниці для вимірювання HbA1c є потребою дня.

Щоб подолати цю проблему, у 1995 році Міжнародна федерація клінічної хімії (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) взяла на себе ініціативу щодо розробки єдиної міжнародної стандартизації HbA1c. Для калібрування еталонного методу були розроблені суміші з чистого HbA1c і HbA₀.

Також було створено лабораторну мережу, яка використовує два еталонних аналізи, які поєднують обернено-фазову високоефективну рідинну хроматографію (high performance liquid chromatography (HPLC), ВЕРХ) з мас-спектроскопією або капілярним електрофорезом, використовуючи ту саму суміш, що й калібратори. Тоді IFCC визначив HbA1c як гемоглобін, який необоротно глікується на одному або обох N-кінцевих валінах бета-ланцюгів [73]. Це визначення також охоплює гемоглобін, який додатково глікований на будь-якому залишку лізину в b-ланцюзі. До стандартизації IFCC HbA1c визначався як певний пік у системі ВЕРХ. Гемоглобін, який глікозилюється лише в ділянці лізину, не включається у вимірювання HbA1c. Оскільки вимірювання IFCC є надто специфічним, воно вимірює лише один молекулярний вид HbA1c: таким чином, не-HbA1c компоненти не входять до остаточних результатів. Отже, значення HbA1c, отримані за допомогою методу IFCC, на 1,5-2 % нижчі, ніж результати NGSP, відстежувані за DCCT, а також за шведськими та японськими методами порівняння [74].

У зв'язку з цим, висловлювалося занепокоєння щодо впливу цих змін значення на догляд за пацієнтами, оскільки це могло б призвести до менш бажаного контролю глікемії у пацієнтів з діабетом [75]. Для вирішення цієї проблеми, було розроблено «головне рівняння», щоб сформулювати взаємозв'язок між еталонним методом IFCC і всіма трьома визначеними методами порівняння (DCM), а саме Національною програмою стандартизації глікогемоглобіну США (NGSP), Японським діабетичним товариством/Японським товариством клінічної хімії (JDS/JSCC) і Mono-S у Швеції [6]. Головне рівняння дозволяє конвертувати результати IFCC у більш звичайні результати HbA1c, які можна простежити за результатами DCCT та проспективного дослідження діабету Сполученого Королівства (UKPDS).

У 2004 році Американська діабетична асоціація, Європейська асоціація з вивчення діабету та Міжнародна діабетична федерація створили робочу групу аналізу HbA1c для гармонізації систем звітності. До нього увійшли члени ADA, IDF, EASD, NGSP та IFCC.

У 2007 році IFCC рекомендував, щоб результати HbA1c виражалися як ммоль HbA1c/моль Hb замість відсотка HbA1c, оскільки пацієнтам, які використовують ммоль/л або мг/дл для щоденного самоконтролю рівня глюкози, важко зрозуміти, коли їхні лікарі обговорювали рівень гемоглобіну у відсотках. Щоб усунути плутанину та спростити ці розбіжності, у травні 2007 року ADA, EASD, IDF та IFCC ухвалили консенсусну заяву [76] щодо всесвітньої стандартизації вимірювання гемоглобіну A1c. У ньому зазначено, що нова еталонна система IFCC є єдиним дійсним якорем для впровадження стандартизації вимірювання HbA1c. Крім того, результати HbA1c повинні були повідомлятися в усьому світі в одиницях IFCC (ммоль глікованого гемоглобіну/моль загального гемоглобіну) і похідних одиницях NGSP (%), використовуючи головне рівняння IFCC-NGSP. Таким чином, діапазон від 25 до 42 (ммоль/моль) вказував би на недіабетиків, оскільки аналогічно отримані одиниці NGSP для недіабетичного діапазону становили 2,5-4,2% (HbA1c). Було також вирішено, що якщо поточне «дослідження середнього рівня глюкози в плазмі» буде успішно завершено (тобто підтверджено взаємозв'язок між середнім рівнем глюкози в крові та HbA1c), то середній еквівалент глюкози, отриманий з A1c, також буде повідомлено як інтерпретація результатів HbA1c [77].

2.3 Зв'язок між середнім рівнем глюкози в крові та HbA1c.

Як повідомлялося вище, основними лабораторними показниками моніторингу глікемічного профілю хворих на ЦД є показники глюкози натще та 2-годинна глюкоза в плазмі після їжі. Проте, ці показники характеризують рівень глюкози тільки на момент визначення. На відміну від цих показників глікозильований гемоглобін відображає рівень цукру в плазмі протягом попередніх 120 днів.

Суттєвою перевагою є те, що показник не потребує особливої підготовки та досить стабільний: не пов'язаний із прийомом їжі, не залежить від часу доби, фізичних чи емоційних навантажень. У зв'язку з цим, визначення

глікозильованого гемоглобіну широко використовується для подальшого моніторингу рівня глікемії у хворих на ЦД. За допомогою глікозильованого гемоглобіну діагностується стан переддіабету та діабет, визначається ступінь компенсації захворювання та оцінюється ефективність схеми лікування.

Проте, постає питання про відповідність зв'язку між середнім рівнем глюкози в плазмі та рівнем HbA1c. Декілька разів робилися спроби визначити справжній зв'язок між середнім рівнем глюкози в плазмі та рівнем HbA1c, але такі дослідження мали обмежену користь через меншу кількість вимірювань значень глюкози та обмежену кількість учасників. В цих дослідженнях не аналізувалися нічні зразки крові, тому дослідження визначали несправжню 24-годинну глікемію.

Nathan зі співавт. використовували безперервний моніторинг рівня глюкози, який включав вимірювання інтерстиціального рівня глюкози кожні 5 хвилин протягом 3 місяців як у недіабетиків, так й у діабетиків із відносно стабільною глікемією. Вони повідомили про математичний зв'язок між HbA1c і середнім рівнем глюкози в крові, тобто HbA1c можна виразити в еквівалентному середньому рівні глюкози (в тих самих одиницях, що й одиниці самоконтролю пацієнтів) [78]. Однак, нажаль, це дослідження було обмеженим через надзвичайно малий пул вибірок.

Ретроспективний аналіз даних DCCT також виявив лінійну кореляцію між HbA1c і середнім рівнем глюкози в крові; однак досліджувана популяція складалася лише з пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу, і це дослідження не планувало визначення такого зв'язку [79].

У клінічній практиці цільові показники HbA1c рекомендовані офіційними організаціями – <6,5% або <7,0% із низкою застережень [80, 81]. Будь-який із цих рівнів HbA1c сигналізує про низький ризик розвитку прогресуючих мікросудинних ускладнень. Існує лише невелика різниця в статусі ризику між довгостроковим контролем на рівні 6,5% або 7,0%, але індивідуалізація цілей може мати суттєве значення. У пацієнтів літнього віку з декількома супутніми захворюваннями контроль глікемії має невелику перевагу. Також має

клінічний сенс пом'якшити контроль глікемії для людей, які не підозрюють про гіпоглікемію або перенесли важку гіпоглікемію в минулому. Людина молодшого віку зі стабільним діабетом і хорошим самообслуговуванням може досягти кращого контролю глікемії [82, 83].

Слід зазначити, що у кожному випадку цільові значення компенсації захворювання визначаються лікарем індивідуально, залежно від історії хвороби, віку пацієнта (табл. 2.3).

Таблиця 2.3.

**Відповідність цільового рівня глюкози плазми цільовому рівню
HbA1c**

HbA1c, %	Глюкоза плазми натще (перед їжею), ммоль/л	Глюкоза плазми (через 2 год. після їжі), ммоль/л
< 6,5	< 6,5	< 8,0
< 7,0	< 7,0	< 9,0
< 7,5	< 7,5	< 10,0
< 8,0	< 8,0	< 11,0

На основі результатів численних досліджень було встановлено, що підвищення рівня HbA1c на 1% відповідає підвищенню рівня цукру в крові в середньому на 2 ммоль/л. Значення глікозильованого гемоглобіну прямо корелює зі ступенем компенсації цукрового діабету (табл. 2.4).

Показник рівня HbA1c входить до списку обов'язкових обстежень на цукровий діабет. Проте є такі ситуації, коли цей показник не є об'єктивним. До них відносяться: наявність серповидноклітинної анемії, крововтрати або переливання крові в анемії, проведення гемодіалізу, лікування еритропоєтином. Також, під час другого та третього триместру вагітності з фізіологічних причин показник HbA1c слід вважати недостовірним і для діагностики більше орієнтуватися на рівень глюкози в плазмі крові.

Таблиця 2.4.

Кореляція HbA1c та рівня глюкози в крові

HbA1c (%)	Глюкоза плазми	
	ммоль/л	мг/дл
6	7.0	126
7	8.6	154
8	10.2	183
9	11.8	212
10	13.4	240
11	14.9	269
12	16.5	298

Таким чином, HbA1c є ключовим параметром моніторингу стану людей хворих на ЦД.

РОЗДІЛ 3. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ГЛІКОЗИЛЬОВАНОГО ГЕМОГЛОБІНУ

3.1 Лабораторні методи визначення глікозильованого гемоглобіну

Вимірювання рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) є золотим стандартом для оцінки тривалого глікемічного контролю в осіб із цукровим діабетом, оскільки воно дає стабільне та надійне значення рівня глюкози в крові протягом 90-120 днів. HbA1c утворюється шляхом неферментативного глікації кінцевого валіну молекули гемоглобіну. На HbA1c не впливають короточасні коливання концентрації глюкози в крові, наприклад, через їжу, кров можна взяти для тестування на HbA1c незалежно від того, коли була з'їдена їжа.

Інструментальні аналітичні методи повинні бути зосереджені на визначенні стандартного гемоглобіну та HbA1c. Меті аналізу служать фізичні та хімічні відмінності між двома молекулами. Молекула HbA1c відрізняється розміром від інших компонентів і на ній присутній хімічний (електричний) заряд, величина якого відрізняється від зарядів на різних компонентах гемоглобіну [84, 85, 86, 87, 88].

Взаємодія з антитілами створює можливість розрізняти обидва типи гемоглобіну за допомогою імунологічного аналізу, різні фізичні властивості поверхні молекули (головним чином через полярність поверхні) дозволяють виділяти та визначати за допомогою хроматографії, а також різні маси молекул та їх фрагментів є передумовою мас-спектрометрії (МС) [89]. Загальні принципи аналізу HbA1c у присутності стандартного гемоглобіну підсумовано на малюнку 3.

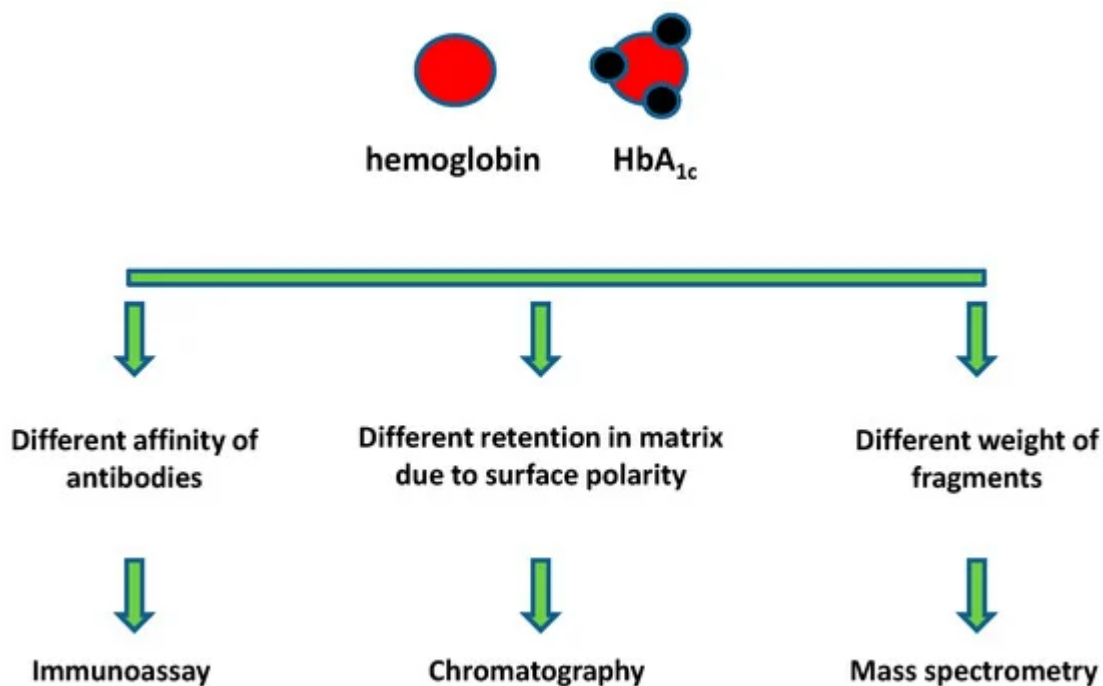


Рис. 3.1 Загальний принцип визначення HbA_{1c} за наявності стандартного гемоглобіну [54].

На даний час у клінічній практиці поширені різні хроматографічні методи, спектрометричні методи та їх поєднання. Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) [90], катіонообмінна ВЕРХ [91], рідинна хроматографія (РХ), тандемна МС [92], матрична лазерна десорбція, іонізаційна часпролітна МС [93].], капілярний електрофорез [94] і тандемний електрофорез капілярної зони МС [95] – всі ці тести придатні для розрізнення типів гемоглобіну. Імунохімічні методи, такі як преципітаційно-турбідиметричний метод [96], флуориметричний імуноаналіз [97] і твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA) [98, 99] також підходять для вимірювання HbA_{1c}.

Вищезазначені інструментальні аналізи забезпечують надійні дані про HbA_{1c} відповідно до неглікованого гемоглобіну.

Хоча аналітичні властивості описаних методів достатньо добрі, щоб охопити очікувані діапазони HbA_{1c} порівняно з неглікованим гемоглобіном, вони не підходять для роботи поза обладнаними лабораторіями, оскільки для їх використання потрібен навчений лабораторний персонал та дороговартисне обладнання. Окрім інструментальних аналізів, немає жодного аналізу повністю

придатного для тестування на місці надання медичної допомоги, незважаючи на те, що такі методи дуже бажані й можуть підвищити ефективність лікування хворих на цукровий діабет. Тим не менш, останніми роками інструментальні аналізи стали меншими та дешевшими. Незважаючи на обмежений потенціал застосування для тестування на місці надання медичної допомоги, краща доступність інструментальних аналізів може бути актуальною для невеликих лабораторій, мобільних госпіталів тощо. Тим не менш, очікується, що майбутні дослідження вивчатимуть обидва напрямки: стандартні інструментальні аналізи та аналізи на місці надання медичної допомоги тести.

3.2 Експрес-тести для вимірювання HbA1c

Для успішного лікування ЦД надзвичайно актуальною є рання діагностика порушень метаболізму глюкози, у зв'язку з чим у світі все більшої популярності набувають різноманітні експрес-тести (Point-Of-Care, POC-тести). Застосування POC-тестів в місці надання медичної допомоги або тестування пацієнтом вдома дозволяють лікарям та медичному персоналу отримати результати діагностики на рівні якості лабораторії в режимі реального часу протягом декількох хвилин, а не годин.

POC-тести визначаються як «клінічні лабораторні дослідження, які проводяться поруч з місцем догляду за пацієнтом, як правило, клінічним персоналом, які не мають спеціальної лабораторної освіти, або самим хворим в якості самоконтролю» [100]. Отже, POC-тест відноситься до будь-якого лабораторного дослідження, проведеного за межами основної або центральної лабораторії.

POC-тести не можуть замінити центральну лабораторію, проте, мають деякі беззаперечні переваги, порівняно зі стандартними лабораторними тестами, а саме:

- вони не потребують окремого приміщення чи обладнання, можуть використовуватись безпосередньо біля ліжка хворого в критичному стані або в кабінеті лікаря на первинному прийомі;

- дозволяють охопити більше пацієнтів і надають швидкий результат, необхідний в конкретний момент часу, що з клінічної точки зору прискорює та покращує діагностику та скорочує час до отримання пацієнтом специфічного лікування;

- не вимагають додаткового штату співробітників зі спеціальною лабораторною освітою;

- дозволяють проводити аналіз на невеликому обсязі цільної крові, що виключає необхідність пробопідготовки та часто мають хорошу візуалізацію [101];

- портативні пристрої можуть передавати результати аналізів бездротово та в режимі реального часу до електронної медичної картки пацієнта для огляду лікарем [100].

Слід також зазначити, що РОС-тести демонструють досить високу чутливість на специфічність [102]. Очікується, що РОС-тести та експрес-тести будуть дешевшими за стандартні інструментальні методи, їх можна буде застосовувати без дорогих вимірювальних пристроїв або пристроїв для обробки зразків і не вимагатимуть ані детальної обробки зразків чи реагентів, ані вимог до навчання чи навчання персоналу.

В даний час існують методи та експрес-тести, доступні для швидкого виявлення глюкози та визначення рівня глікемії, і ці пристрої мають хороші аналітичні параметри, простоту та низьку вартість, і навіть розроблено неінвазивні методи вимірювання глюкози [103, 104, 105, 106, 107, 108]. Проте, як обговорювалося вище, ці тести можуть охарактеризувати стан глікемії у даний конкретний час, з точки зору довгострокової перспективи прогнозу перебігу та лікування ЦД більш інформативним є визначення HbA1c.

Платформою для біоаналізу HbA_{1c} можуть служити імунохроматографічний аналіз, який працює за принципом взаємодії аналіту з міченими (кольоровими наночастинками, флуоресцентним реагентом тощо) антитілами, що проявляють специфічну спорідненість. Аналіт мігрує за допомогою бічного потоку, і видимі зони утворюються шляхом захоплення або аналіту, або антитіла, що не прореагувало, іншими молекулами розпізнавання (антитілами), які іммобілізовані на матриці тонкошарової хроматографії. Загальний принцип визначення HbA_{1c} зображено на рисунку 3.2.

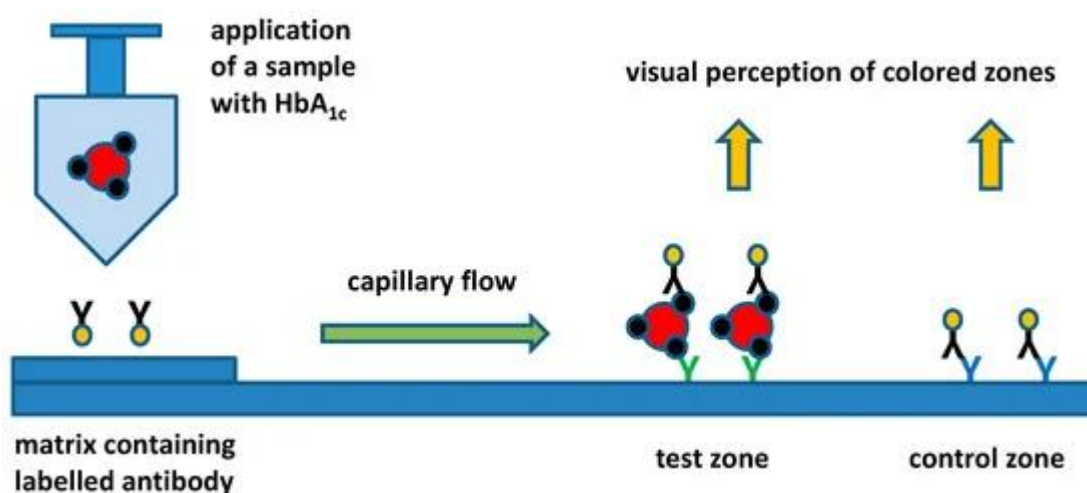


Рис. 3.2 Загальний принцип роботи імунохроматографічного тесту на визначення HbA_{1c}.

Різні аналіти (речовини, що визначаються – білки, гормони та ін.), включаючи хоріонічний гонадотропін людини (тест на вагітність), а також різні антитіла та антигенні маркери можна виміряти за допомогою імунохроматографічного аналізу з боковим потоком. Типовим прикладом фактичного використання цього аналізу є тести на вагітність [109, 110, 111]. З іншого боку, імунохроматографічний аналіз забезпечує лише напівкількісний сигнал і не придатний для кількісного визначення маркера, хоча експерименти, спрямовані на те, щоб зробити аналіз придатним для визначення точних концентрацій були багатообіцяючими [112].

Покращені версії імунохроматографічних аналізів з бічним потоком можуть надавати повністю або частково кількісно визначені сигнали. В цьому випадку необхідне обладнання для вимірювання щільності кольору, інтенсивності флуоресценції, спектроскопії або інше обладнання [113, 114, 115]. Використання приладів зробить імунохроматографічний аналіз з боковим потоком більш застосовним для ЦД, але це також створює й матеріальні вимоги до обладнання та висококваліфікованого персоналу, що обмежує можливість виконання імунохроматографічного аналізу з боковим потоком у стаціонарних умовах. На додаток до стандартних тестів імунохроматографічного тесту, популярними та застосовними на практиці стали різноманітні мікрофлюїдні пристрої [116, 117].

Останніми роками було досягнуто значного прогресу в розробці біосенсорів, різних оптичних та електрооптичних сенсорних методів аналізу HbA1c [118, 119]. Sun зі співавт. був розроблений біосенсор для визначення HbA1c з використанням платформи поверхневого плазмонного резонансу [120]. Дослідники використовували аптамер як розпізнавальну частину біосенсора і змогли визначити HbA1c з межею визначення 2,55 нмоль/л і чутливістю $1,06 \times 10^{-3}$ RU/нмоль/л. В іншій роботі поверхневий плазмонний резонанс з іммобілізованим аптамером служив для вимірювання HbA1c з межею визначення 1 нмоль/л і лінійним динамічним діапазоном 18-147 нмоль/л [121]. Аптамер також використовувався в роботі Lin і співавторами [122]. Автори зафіксували аптамер на фіолетовій мембрані, вбудованій в бактеріородопсин, як фізико-хімічний перетворювач. Аптамер був специфічним щодо HbA1c або неглікованого гемоглобіну. Взаємодія аптамеру з HbA1c або неглікованим гемоглобіном зменшувала виявлений фотострум через часткове поглинання світла захопленим аналітом. Аналіз мав однакові межі визначення для обох типів, менше 0,1 мкг/мл, і динамічний діапазон 0,1-100 мкг/мл протягом 15-хвилинного циклу вимірювання.

Електрохемілюмінесцентний датчик був сконструйований для вимірювання HbA1c з використанням трис(2,2'-біпіридил)дихлоррутенію(II)

мезопористих наночастинок полідофаміну, покритих аптамером, специфічним для HbA1c [94]. Взаємодія отриманих наночастинок з HbA1c викликала гасіння електрохемілюмінесценції рутенієвого комплексу. Автори знайшли межу визначення 0,015% HbA1c від загального гемоглобіну, а лінійний діапазон становив 0,1-18,5%. Подальші вдосконалення оптичних та електрооптичних аналітичних пристроїв можуть базуватися на колориметричних плазмонних датчиках [123, 124, 125].

Аналіз літератури показує, що біоаналітичні методи та біосенсиори можуть працювати на вольтаметричних принципах. Так, Shahbazmohammadi зі співавторами іммобілізували фруктозилпептидоксидазу за допомогою оксиду графену та наночастинок золота на робочих електродах [126]. Фруктозилвалілігістидин служив міметиком HbA1c і окислювався іммобілізованим ферментом. Амперометричне виявлення забезпечило відповідь у діапазоні калібрування від 0,1 до 2 ммоль/л з межею виявлення для фруктозилвалілігістидину 0,3 мкмоль/л. В іншій роботі фруктозиламіноксидаза, іммобілізована на композитних наночастинках золота і платини, служила для окислення HbA1c і амперометричного виявлення [127]. В роботі Rohanka, M. був виготовлений п'єзоелектричний кварцовий кристалічний біосенсор мікробалансу з використанням наночастинок оксиду заліза та поліклонального антитіла, специфічного до HbA1c [128]. При зв'язуванні HbA1c з іммобілізованим антитілом частота коливань біосенсора падала. За результатами цього аналізу встановлено межу виявлення 0,045 мг/мл, яка повністю відповідала стандартному ELISA. Великою перевагою методу служить той факт, що аналіз можна завершити в один етап, який складається із застосування зразка.

Jaberi, S.Y.S. зі співавт. сконструювали графітовий листовий електрод на основі вольтаметричного біосенсора [129]. Дослідники покрили графітовий лист нанокompозитом, що складається з відновленого оксиду графену та золота, а також аптамером ДНК, специфічним для HbA1c. Взаємодія з HbA1c спричинює зміну вольтаметричної чутливості до берлінської лазурі, розташованої в навколишньому розчині, а диференціальна імпульсна

вольтамперометрія служить для вимірювання відповіді. Біосенсор має лінійний діапазон від 1 нмоль/л до 13,8 мкмоль/л, чутливість 269 мкА/см² і межу виявлення HbA1c – 1 нмоль/л.

Афінні взаємодії з HbA1c можуть базуватися на простіших молекулах, ніж вищезгадані антитіла та аптамери. У роботах Hatamvand, R. зі співавт. [130], Li, H. зі співавт. [131], Han, Y.D. зі співавт. [132] та інших показано, що похідні борної кислоти є придатними реагентами для цієї взаємодії. Електрохімічна сенсорна система для виявлення HbA1c з використанням борної кислоти була також запропонована в роботі Wang зі співавт. [133]. Дослідники підготували золоті нано-квіти, модифіковані 4-меркаптофенілбороною кислотою, і весь комплекс розмістили на графітових електродах, надрукованих трафаретним друком. HbA1c був уловлений на 4-меркаптофенілбороновій кислоті, а потім каталізував відновлення перекису водню, що було зареєстровано циклічною вольтамперометрією. Золоті наноквіти покращили транспортування електронів до електрода. Аналіз створює лінійний динамічний діапазон 5-1000 мкг/мл, що відповідає 2-20% HbA1c, який триває 65 хвилин. Як показано в роботі Pandey, I. зі співавт. борна кислота може служити матрицею для імпринтингу HbA1c щодо неглікованого гемоглобіну та для виготовлення полімеру з молекулярним імпринтом [134]. Полімер з молекулярним відбитком був виготовлений з амінофенілборонової кислоти з нанокубами полірдаміну b і нанесений на алюмінієву фольгу, покриту вуглецевою пастою, шляхом електрополімеризації. Взаємодія HbA1c (відносно неглікованого гемоглобіну) з датчиком змінювала вольтаметричні властивості електрода, який вимірювали. Датчик забезпечив межу визначення на рівні 0,08 нг/мл для неглікованого гемоглобіну та 0,09 нг/мл для HbA1c.

Підсумок

Динамічний розвиток лабораторної діагностики неможливий без інноваційних технологій, що базуються на передових наукових розробках. Сучасні дослідження біосенсорів і подібних біотестів видаються багатообіцяючими.

Незважаючи на те, що багато тестів, запропонованих у літературі, не підходять для масового комерційного виробництва, оскільки їх частини (наприклад, специфічні наночастинки або виготовлені вручну аптамери) недоступні на ринку, ця ситуація може змінитися в майбутньому і в найближчі роки стане можливим проведення тестування на HbA_{1c} за допомогою невеликих портативних пристроїв, які надаватимуть точну діагностику глікемічного стану хворого.

РОЗДІЛ 4. ПОРІВНЯННЯ РІВНЕЙ HbA1c, ВИЗНАЧЕНИХ МЕТОДОМ РОС І HPLC.

Гемоглобін A1c (HbA1c) визнаний ключовим біомаркером для контролю рівня глюкози у пацієнтів із цукровим діабетом. Критичну роль у діагностиці та моніторингу захворювання відіграють методи його вимірювання, точність яких, особливо в педіатричній практиці, визначає надійність діагностики та відповідність підходів у лікуванні. Отже, стандартизація, порівняння різних методів вимірювання HbA1c є важливим для забезпечення точності та ефективності клінічної практики в контексті управління цукровим діабетом.

Золотим стандартом вимірювання рівня HbA1c є метод високоефективної рідинної хроматографії (HPLC), що був розроблений у рамках дослідження "Контроль діабету та ускладнень/Епідеміологія діабету втручань та ускладнень" (DCCT/EDIC). Проте, використання цього методу можливо тільки в умовах стаціонару, оскільки вимагає наявності дороговартісного обладнання та високонавченого медичного персоналу і не підходить для роботи поза обладнаними лабораторіями в силу наведених причин.

Тим не менш рання діагностика ЦД залишається актуальною і проведення моніторингу глікемії на місці надання допомоги є дуже важливим для успішного лікування та попередження розвитку ускладнень ЦД. Кілька досліджень показали значне зниження HbA1c у тих пацієнтів, у яких значення HbA1c було доступне під час консультації [135].

У світі все більшої популярності набувають різноманітні експрес-тести (Point-Of-Care, РОС-тести). Застосування РОС-тестів в місці надання медичної допомоги або для тестування пацієнтами вдома дозволяють лікарям отримати результати діагностики в режимі реального часу протягом декількох хвилин, а не днів. РОС-тестування також може проводитися особами, які не мають спеціальної лабораторної підготовки [136], і завдяки цьому, цей метод широко застосовується в медичному обстеженні хворих на діабет. Проте, точність різних

РОС-аналізаторів може значно відрізнятися, піддаючи пацієнтів ризику неадекватного лікування діабету [137].

У зв'язку з вищенаведеним, відповідність, стандартизація результатів, отриманих різними аналітичними методами вимірювання HbA1c, набуває надзвичайної значущості для забезпечення надійної та ефективної діагностики і контролю цукрового діабету.

Метою цього фрагменту роботи стало проведення порівняльного аналізу вимірювання HbA1c за допомогою РОС-тестів з методом вискоефективної рідинної хроматографії (HPLC).

У проспективному дослідженні, проведеному Irina L. Dubach зі співавторами [138], порівнювали значення HbA1c, визначені за допомогою двох широко використовуваних методів РОС для вимірювання HbA1c у венозних зразках 100 пацієнтів, а саме аналізатор Afinion™ AS100 (Axis-Shield, Осло, Норвегія) та аналізатор DCA Vantage™ (Siemens Healthcare Diagnostics, Таррітаун, Нью-Йорк, США). В якості еталонного методу дослідники використовували метод вискоефективної рідинної хроматографії G8 HPLC, який використовується в лабораторії біохімії Inselspital Bern, сертифікованої відповідно до вимог Національної програми стандартизації глікогемоглобіну (NGSP). Еквівалентність і ступінь узгодженості результатів оцінювали за допомогою графіка Бланда–Альтмана. Зразки цільної крові, збрані в пробірки з ЕДТА, 100 пацієнтів з ЦД були проспективно проаналізовані в Університетській клініці ендокринології, діабету та клінічного харчування Inselspital Bern. Гемоглобін A1c кожного зразка крові кількісно визначали трьома різними методами безпосередньо на двох РОС-аналізаторах одночасно з проведенням HPLC в центральній лабораторії (еталонний метод).

Відповідно до отриманих даних (табл. 4.1), рівні HbA1c коливалися від 33 до 116 ммоль/моль (5,2–12,8%), 31–122 ммоль/моль (5,0–13,3%) і 30–119 ммоль/моль (4,9–13%) для Afinion™, DCA Vantage™ та G8 HPLC Analyzer відповідно. Межі відповідності в 95% були між -0,84 і +0,30 для Afinion™ і -0,71 і +0,29 для DCA Vantage™. Результати обох РОС були дещо нижчими з

похибкою -0,27% і -0,21% ($p < 0,0001$) для Afinion™ і DCA Vantage™ Analyzer відповідно.

Таблиця 4.1

Рівень HbA1c, визначений на Afinion™, DCA Vantage™ аналізаторах у порівнянні з рівнем HbA1c, визначеного на аналізаторі G8 HPLC

Методи визначення	Вміст HbA1c, ммоль/моль	Довірчі інтервали, 95%	$p < 0,0001$
Afinion™ аналізатор	33-116 (5,2-12,8%)	-0,84;+0,30	-0,27%
DCA Vantage™ аналізатор	31-122 (5,0-13,3%)	-0,71;+0,29	-0,21%
G8 HPLC аналізатор	30-119 (4,9-13%)		

Отже, на підставі результатів, отриманих у дослідженні, автори дійшли висновку, що методи РОС, перевірені в цьому дослідженні, показують хорошу кореляцію з лабораторним еталонним методом, однак із загальним негативним відхиленням.

Ретроспективний огляд дітей, які отримували лікування діабету в лікарні Род-Айленда в період з 2007 по 2013 роки, було проведено Agrawal S. зі спів-авторами [139]. Вони відібрали 72 дітей із цукровим діабетом 1 віком 5–21 років з 1002 пацієнтів з тестами РОС, що мали відповідні результати визначення HbA1C на аналізаторі G8 HPLC в центральній лабораторії в той самий день. Двадцять сім дітей мали РОС HbA1C $< 9\%$, і ці пацієнти були виключені з дослідження, оскільки цей діапазон HbA1C вивчався раніше. Увага вчених увага була зосереджена на пацієнтах із поганим контролем глікемії. У дослідження було відібрано 24 пацієнтів (12 жінок, 12 чоловіків) зі значеннями РОС в діапазоні 9,1–13,2%; середній вік становив 14,2 року (діапазон 4,6–21,5 року). Було 19 пацієнтів зі значеннями РОС $\geq 14\%$, із середнім віком 16,1 років

(діапазон 11,2-18,9 років) і переважали чоловіки (11 чоловіків, 8 жінок). Жоден із пацієнтів дослідної когорти не мав відомої гемоглобінопатії, що впливала на вимірювання A1C.

Зразки крові отримували під час регулярних візитів до клініки з пальця. Гемоглобін A1C вимірювали за допомогою методів DCA 2000 (до квітня 2010 року) або DCA Vantage (Seimens, Tarrytown, NY, USA). Обидва ці методи використовують латексну методику інгібування імунної аглютинації та сертифіковані NGSP. У результаті проведеного дослідження було встановлено, що результати визначення гемоглобіну за методом РОС на аналізаторі DCA Vantage/DCA 2000, добре корелюють з методами HPLC ($r=0,939$, $p < 0,000110$ та $r=0,94$, $p < 0,00111$, відповідно).

На наступному етапі було проаналізовано зразки цільної крові, отримані за допомогою венепункції. Гемоглобін A1C вимірювали за допомогою автоматичного аналізатора глікогемоглобіну Tosoh HLC723G8 (Tosoh Bioscience Inc, Південний Сан-Франциско, Каліфорнія, США). У цьому методі використовується непористий іонообмін, вискоєфективна рідинна хроматографія (HPLC). Він також сертифікований NGSP.

Для оцінки відповідності між тестуванням РОС і HbA1C, проведеним за допомогою HPLC використовували регресію Демінга. Оцінку узгодженості між двома клінічними вимірюваннями проводили за графіком Бланда-Альтмана, Графік візуально ілюструє можливість систематичного зміщення шляхом побудови середнього значення двох вимірювань (вісь X) їхньою різницею (вісь Y).

Як показано на рис 4.1, регресія Демінга вказує на хорошу відповідність між двома маркерами, коли значення РОС були $< 14\%$. Крім того, 95% довірчий інтервал відсікання містить 0 (тобто $[-1,68, 3,35]$), що означає повну еквівалентність результатів, отриманих різними методами.

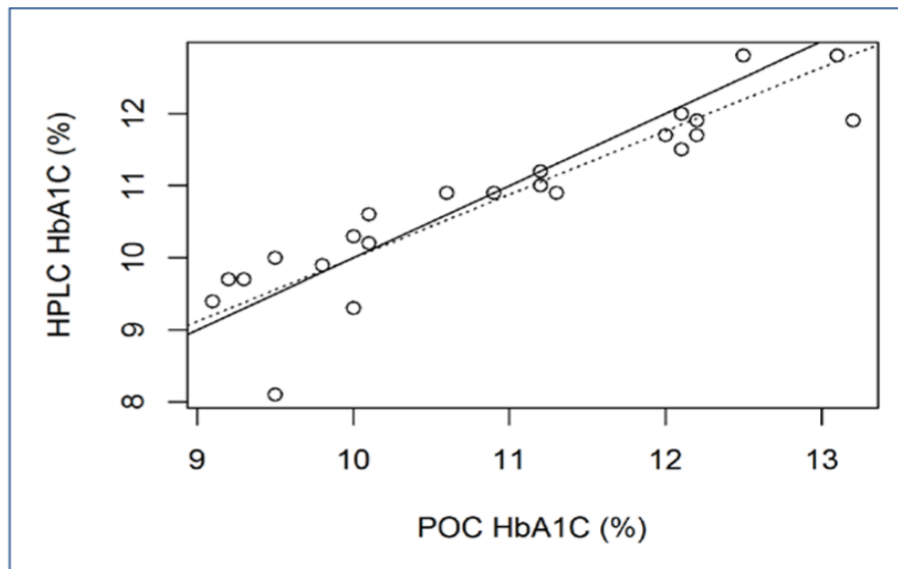


Рис. 4.1 Регресія Демінга порівняння РОС (point-of-care) гемоглобіну А1С з HPLC (high performance liquid chromatography) [139].

Діаграма Бланда-Альтмана (рис. 4.2.) вказує на відсутність основної систематичної тенденції в різниці між двома маркерами, а також виявляє лише невелику систематичну похибку між двома вимірюваннями: HbA1C, отриманий за допомогою HPLC, в середньому, дещо нижчий порівняно з РОС HbA1C із середньою різницею 0,1125 (95% довірчий інтервал [-0,11, 0,33]).

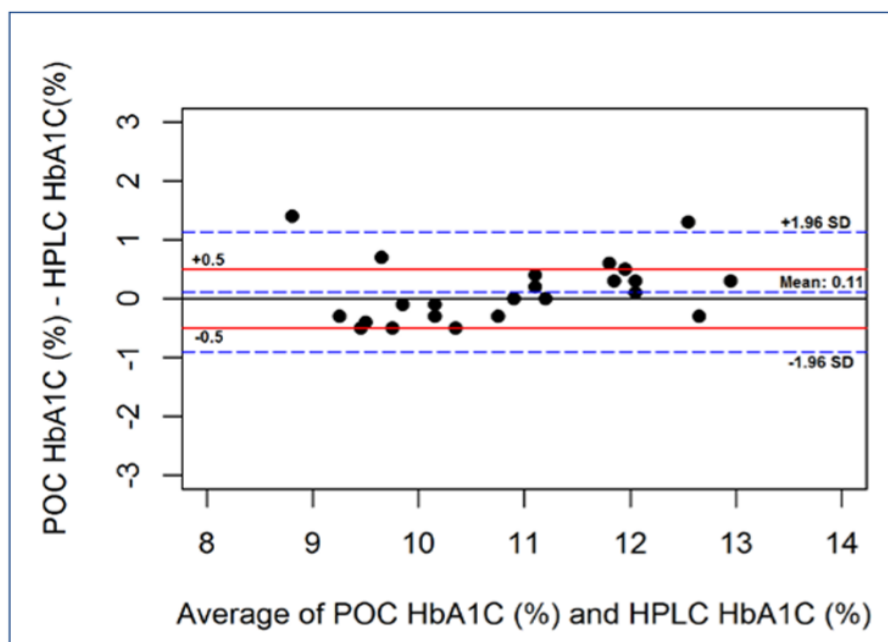


Рис. 4.2. Діаграма Бланда-Альтмана, порівняння РОС (point-of-care) гемоглобіну А1С з HPLC (high performance liquid chromatography) [139].

Крім того, чотири спостереження вийшли за межі 0,5% (різниця в 0,5% вважається клінічно значущою). . Будь-яку можливу різницю між значеннями оцінити було не можливо через низький розмір вибірки. Для пацієнтів із значеннями HbA1C при $\text{POC} \geq 14\%$ середнє центральне лабораторне значення становило 14,1% (95% ДІ [13,4, 14,8]), з діапазоном 11,1–16,3 і стандартним відхиленням 1,4% (рис. 4.3).

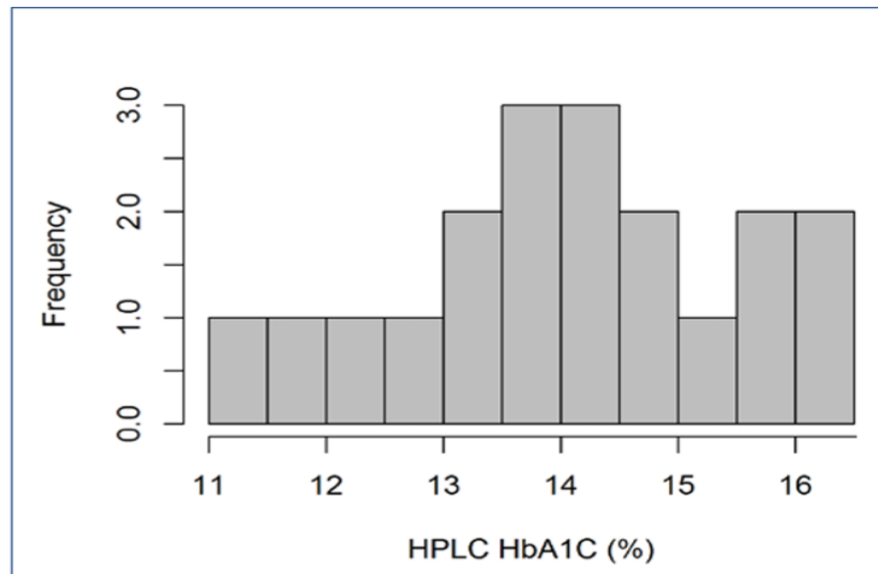


Рис. 4.3 Гістограма відповідності рівня HPLC HbA1C (Hemoglobin A1C) рівня HbA1C за методом POC (point-of-care) $\geq 14\%$.

Отримані дані свідчать, що результати тестування POC узгоджуються з результатами, отриманими в центральній лабораторії за методом HPLC, коли HbA1C становить 9–13,9%, при цьому значення POC були дещо вищими. Проте, коли значення HbA1C, отримані методом $\text{POC} \geq 14\%$, відповідні значення HbA1C, визначені методом HPLC, сильно змінюється. Середнє значення HbA1C, отримане за допомогою аналізу в центральній лабораторії, становить 14,1%, але діапазон розмаху даних дуже широкий, від 11,0–16,3%. Ця широка варіація робить проблематичним виявлення відносних змін HbA1C під час наступних відвідувань клініки.

Tamborlane W. [140] проводили багатоцентрове педіатричне діабетологічне дослідження, в якому вивчали відповідність значень HbA1c, що

вимірювалися на аналізаторі DCA 2000®+ (Bayer Inc., Tarrytown, NY, USA) значенням HbA1c, що визначалися в лабораторії DCCT/EDIC за методом HPLC. Аналізатор DCA 2000®+ (Bayer Inc., Tarrytown, NY, USA), який використовує імуноаналіз, є дуже популярним пристроєм для вимірювання рівня HbA1c у педіатричних клініках діабету.

У дослідження було залучено 200 дітей з цукровим діабетом типу 1 (ЦДТ1) (віком $12,5 \pm 2,8$ років). На тому ж візиті було взято додатковий зразок крові, охолоджено та відправлено до центральної лабораторії DCCT/EDIC для визначення рівня HbA1c.

Як показали проведені дослідження середнє значення HbA1c у центральній лабораторії склало $8,0 \pm 0,9\%$ (середнє значення $\pm$ стандартне відхилення), з медіаною (25-й та 75-й квартилями) $7,8\%$ ($7,3$ та $8,5\%$). Значення HbA1c, отримані за допомогою аналізатора DCA 2000, мали сильну кореляцію зі стандартним вимірюванням ($r=0,94$, $p<0,001$), але були значно вищими за значення отримані у центральній лабораторії DCCT/EDIC з відмінністю в середньому $+0,2\%$ (95% довірчий інтервал $+0,14$ до $0,23\%$, $p<0,001$). Існувала певна варіація різниць між значеннями DCA 2000 та центральної лабораторії в п'яти клінічних центрах ($p<0,001$), з середніми відмінностями в діапазоні від $0,0$ до $0,3\%$, проте різниці між двома методами не було виявлено залежно від віку чи статі. Автори дослідження дійшли висновку, що вимірювання HbA1c за допомогою аналізаторі DCA 2000 порівняно зі стандартним методом центральної лабораторії DCCT/EDIC показують подібні результати, хоча й зі слабким збільшенням значень.

У дослідженні Grant D.A. зі співавт. [141] порівнювали роботу автоматизованого приладу Quo-Test POC (EKF Diagnostics), який використовує технологію боратного флуоресцентного гашення, з лабораторним методом високоефективної рідинної хроматографії (HPLC) (Biorad D10) для вимірювання HbA1c.

Було досліджено 100 пацієнтів з ЦД та без нього, HbA1c у зразках цільної крові з EDTA вимірювали на аналізаторах BioRad D10 та Quo-Test.

Внутрішню варіацію визначали, вимірюючи шість зразків HbA1c у трьох пробах, а міжпробну варіацію визначали за допомогою аналізу чотирьох зразків протягом 4 днів. Стабільність визначали, аналізуючи три зразки, збережені при температурі -20°C протягом 14 та 28 днів після збору.

Отримані дані наведені у таблиці 4.2. Відповідно до отриманих даних, медіанне значення HbA1c отримане за допомогою BioRad D10 статистично значуще не відрізняється від значень отриманих на аналізаторі Quo-Test. Результати, отримані на обох аналізаторах мали високу позитивну кореляцію з даними, отриманими за допомогою стандартного методу визначення HbA1c. Середнє відхилення значень (стабільність) HbA1c після 28-денного зберігання при температурі -20°C склала -0.7% та $+0.3\%$ для D10 та Quo-Test відповідно.

Таблиця 4.2

Порівняння значень HbA1c, отриманих за допомогою аналізаторів BioRad D10 та Quo-Test (медіана (25-й та 75-й квартилі))

Показники	Аналізатор BioRad D10	Аналізатор Quo-Test	Кореляція, щодо HPLC
HbA1c, ммоль/моль	60 (44.0–71.2)	62 (45.0–69.0)	R2=0.969, p<0.0001
HbA1c, %	7.6 (6.17–8.66)	7.8 (6.27–8.46)	
Внутрішня варіації	1.2% (0.0-2.7%)	3.5% (0.0-6.7%)	
Міжпробна варіації	1.6% (0.0-2.7%)	2.7% (0.7-5.1%)	
HbA1c після 28-денного зберігання при температурі -20°C	-0.7%	$+0.3\%$	

Отже, у ході дослідження, проведеного вченими [141], була виявлена суворототожність між D10 та Quo-Test у широкому діапазоні значень HbA1c. Пристрій Quo-Test РОС показав подібні результати до лабораторного методу HPLC.

Таким чином, нові рекомендації Американської діабетичної асоціації (ADA) рекомендують цільовий рівень гемоглобіну $\text{A1C} < 7.5\%$ для всіх

педіатричних вікових груп [3, 12, 14]. Однак, можливість відстежувати відносні зміни HbA1C під час наступних візитів до клініки є важливим, оскільки це дозволяє клініцистам оцінити ефективність терапії ЦД. Крім того, знання про те, що рівень HbA1C знижується, може мотивувати підлітків на дотримання терапії та лікувальних заходів, запропонованих лікарями. Добре відомо, що підлітки з цукровим діабетом 1 становлять особливу проблему для підтримки належного глікемічного контролю [142]. Підлітки часто не дотримуються свого режиму лікування через почуття сорому перед своїми однолітками і підвищену частоту депресії. Втручання, які допомагають підліткам досягти покращеного глікемічного контролю, включають залучення членів сім'ї, мотиваційне інтерв'ю (підготовленим фахівцем), забезпечення регулярних візитів до клініки для лікування діабету (запобігання втрати можливості подальшого спостереження) та покращення зв'язку між пацієнтом і постачальником послуг за допомогою технології [142]. Тому ряд вчених рекомендує регулярне тестування HbA1C, коли РОС становить $\geq 14\%$ за методом HPLC для належного консультування та моніторингу глікемічного контролю [138, 139, 140]. Дослідження за участю дорослих із діабетом 1 або 2 типу показали, що коли доступність негайного вимірювання HbA1C, за потребою, сприяє покращенню глікемічного контролю, яке зберігається протягом 12 місяців. Однак у дітей таких результатів не було виявлено [143]. Agus та інші провели рандомізоване контрольоване дослідження дітей віком до 18 років і виявили, що наявність HbA1C, доступного для негайного зворотного зв'язку, не призвело до стійкого покращення глікемічного контролю [144]. Дослідження виявило, що використання апарату РОС корисно для зменшення кількості спілкування між пацієнтом і клініцистом, необхідного між відвідуваннями, тому тестування РОС стає стандартною практикою в багатьох діабетичних центрах. Важливо зазначити, що, незважаючи на те, що існує багато комерційно доступних апаратів РОС HbA1C, не всі з них відповідають загальноприйнятим критеріям аналітичної ефективності [145]. Lenters-Westra та інші протестували вісім різних апаратів і виявили, що лише DCA Vantage (апарат, який використовувався в цьому

дослідженні), і Afinion відповідали критеріям прийнятності щодо загального коефіцієнта варіації $<3\%$ (у клінічно значущому діапазоні). Однак все ще існують відмінності між номерами партій картриджів [145].

Таким чином, результати доволі великої кількості досліджень свідчать про хорошу тотожність між значеннями HbA1C, отриманими за допомогою HPLC, і РОС, якщо HbA1C у пацієнтів зберігається на рівні $< 14\%$. Проте, якщо рівень HbA1C РОС $\geq 14\%$ вимірювання на аналізаторах РОС характеризується широкими варіаціями для значень. Тому, у випадках коли РОС становить $\geq 14\%$ для належного консультування та подальшого контролю глікемії пропонується проводити тестування рівня HbA1C у лабораторіях з використанням рутинних стандартних методів HPLC.

ВИСНОВКИ

1. Цукровий діабет – це хронічне захворювання, що характеризується порушенням метаболізму глюкози внаслідок абсолютного або відносного дефіциту інсуліну. За сучасною класифікацією, він включає різні типи, серед яких ЦД 1 типу і ЦД 2 типу є найбільш поширеними.
2. Цукровий діабет 1 типу характеризується аутоімунним руйнуванням інсулінотропних β -клітин ПЗ, тоді як ЦД 2 типу є результатом поєднання дефекту секреції інсуліну та ІР. За умови ЦД 2 типу активуються прозапальні цитокіни та порушуються обидві ланки імунної системи – гуморальна та клітинна, що призводить до зниження опірності хворих на ЦД вірусним, грибковим та бактеріальним інфекціям.
3. Для діагностики ЦД, оцінки тяжкості й стану компенсації захворювання використовують рутинні показники – рівень глюкози в плазмі натще та 2-годинне значення глюкози в плазмі під час проведення ПТТГ, що відображають лише поточний стан глікемічного профілю хворого.
4. Вимірювання рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) є золотим стандартом для оцінки тривалого глікемічного контролю в осіб із ЦД, оскільки воно дає стабільне та надійне значення рівня глюкози в крові протягом 90-120 днів.
5. На сьогодні існують дві основні групи клініко-лабораторних методів визначення вмісту HbA1c: рутинний стандартний метод вискоефективної рідинної хроматографії та експрес-методи РОС.
6. Порівняльний аналіз літературних даних показав, що значення HbA1C, отримані за допомогою HPLC, і РОС мають високу тотожність, за умови якщо HbA1C у пацієнтів зберігається на рівні $<14\%$.
7. Якщо рівень HbA1C РОС $\geq 14\%$ – вимірювання на аналізаторах РОС характеризується широкими варіаціями для значень. Тому, у цих випадках для належного консультування та подальшого контролю глікемії тестування рівня HbA1C слід проводити у лабораторіях з використанням рутинних стандартних методів HPLC.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Classification of diabetes mellitus / World Health Organization. Geneva, 2019. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325182> (Date of access: 10.12.2021).
2. Классификация сахарного диабета. ВОЗ 2019 г. Что нового? / И. В. Кононенко и др. Сахарный диабет. 2020. Т. 23, № 4. С. 329–339. DOI: <https://doi.org/10.14341/DM12405> (дата обращения: 10.12.2021).
3. Diabetes Mellitus: A Major Risk Factor for Cardiovascular Disease. A Joint Editorial Statement by the American Diabetes Association; the National Heart, Lung, and Blood Institute; the Juvenile Diabetes Foundation International; the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; and the American Heart Association. *Circulation*. 1999. Vol. 100. P. 1132–1133.
4. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies / N. Sarwar et al. *Lancet*. 2010. Vol. 375 (9733). P. 2215–2222.
5. Global Economic Burden of Diabetes in Adults: Projections From 2015 to 2030 / C. Bommer et al. *Diabetes Care*. 2018. Vol. 41, № 5. P. 963–970.
6. Diabetes mellitus. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 1965. Vol. 310. P. 1–44.
7. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Pt. 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus / World Health Organization Department of Noncommunicable Disease Surveillance. Geneva, 1999. 65 p.
- 8 Elizabeth J. Mayer-Davis, Anna R. Kahkoska, Craig Jefferies, Dana Dabelea, Naby Balde, Chun X. Gong, Pablo Aschner, Maria E. Craig ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents // *Pediatric Diabetes* Volume19, IssueS27 Pages 7-19 <https://doi.org/10.1111/pedi.12773>.
- 9 Tronko, M. (2021). Цукровий діабет 1-го типу: етіологія, патогенез, клініка, діагностика та лікування. Couper JJ, Hailer MJ, Greenbaum CJ, et al. ISPAD

Clinical Practice Consensus Guidelines 2018 Stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*. 2018. 10.1111/pedi.12734.

10 Couper JJ, Hailer MJ, Greenbaum CJ, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018 Stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*. 2018. 10.1111/pedi.12734.

11. Дедов И. И. Сахарный диабет типа 1: реалии и перспективы. Москва : Медицинское информационное агентство, 2016. 502 с.

12 Tronko, M. D., Bolshova, O. V., Sokolova, L. K., & Belchina, Y. B. (2021). Цукровий діабет 2-го типу: етіологія, патогенез, клініка, діагностика та лікування. *Практикуючий лікар*, (4), 35-44

13. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes / P. Gaede et al. *N. Engl. J. Med.* 2003. Vol. 348. P. 383–393.

14 American Diabetes Association. 6. Glycemic targets: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care* 2021; 44 (Suppl. 1): S73-S84з

15 Довідник з клінічної ендокринології. За редакцією МД Тронька, ОВ Болшовой. Бібліотека практикуючого лікаря. К.: Видавничий дім Медкнига, 2020:368.

16 Rhee MK, Safo SE, Jackson SL, et al. Inpatient glucose values: determining the nondiabetic range and use in identifying patients at high risk for diabetes. *Am J Med* 2018;131:443.e11– 443.e24

17 УКРАЇНИ, М. О. З. Я., & ХІРУРГІЇ, Т. ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ КЛІНІЧНА НАСТАНОВА, ЗАСНОВАНА НА ДОКАЗАХ. 2022, 347 с
https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2023/01/2023_nastanova-czd_dorosli.pdf

18. Дедов И. И. Сахарный диабет типа 1: реалии и перспективы. Москва : Медицинское информационное агентство, 2016. 502 с.

19. The Diabetes Mellitus – Atherosclerosis Connection: The Role of Lipid and Glucose Metabolism and Chronic Inflammation / A. Poznyak et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, № 5. P. 1835. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms21051835> (Date of access: 10.12.2021).

20. Roep B. O., Atkinson M., von Herrath M. Satisfaction (not) guaranteed: Re-evaluating the use of animal models of type 1 diabetes. *Nat. Rev. Immunol.* 2004. Vol. 4. P. 989–997.
21. Four-year metabolic outcome of a randomized controlled CD3-antibody trial in recent-onset type 1 diabetic patients depends on their age and baseline residual beta cell mass / B. Keymeulen et al. *Diabetologia.* 2010. Vol. 53. P. 614–623.
22. Type 1 Diabetes TrialNet GAD Study Group. Antigen-based therapy with glutamic acid decarboxylase (GAD) vaccine in patients with recent-onset type 1 diabetes: A randomised double-blind trial / D. K. Wherrett et al. *Lancet.* 2011. Vol. 378. P. 319–327.
- 23 ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents / E. J. Mayer-Davis et al. *Pediatr. Diabetes.* 2018. Vol. 19, Suppl. 27. P. 7–19. DOI: <https://doi.org/10.1111/pedi.12773> (Date of access: 10.12.2021).
- 24 . ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents / E. J. Mayer-Davis et al. *Pediatr. Diabetes.* 2018. Vol. 19, Suppl. 27. P. 7–19. DOI: <https://doi.org/10.1111/pedi.12773> (Date of access: 10.12.2021).
25. Pivari F., Mingione A., Brasacchio C., Soldati L. Curcumin and Type 2 Diabetes Mellitus: Prevention and Treatment. *Nutrients.* 2019. Vol. 11, № 8. P. 1837. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11081837> (Date of access: 10.12.2021).
26. Bluestone J. A., Herold K., Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature.* 2010. Vol. 464. P. 1293–1300.
27. Тронько М. Д. Пріоритетні питання діабетології в Україні на сучасному етапі та шляхи їх вирішення. URL: http://iem.net.ua/endocrinology_task/ (дата звернення: 10.12.2021).
- 28 Li, Y., Liu, Y., Liu, S. et al. Diabetic vascular diseases: molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Sig Transduct Target Ther* 8, 152 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01400-z>

- 29 Gholamreza Daryabor Mohamad Reza Atashzar Dieter Kabelitz Seppo Meri Kurosh Kalantar The Effects of Type 2 Diabetes Mellitus on Organ Metabolism and the Immune System, *Front. Immunol., Sec. Inflammation* Volume 11 - 2020 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01582>
30. Evidence for an increased glycation of IgG in diabetic patients / P. M. Danze et al. *Clin. Chim. Acta.* 1987. Vol. 166, № 2-3. P. 143–153.
31. Shcheglova T., Makker S., Tramontano A. Reactive immunization suppresses advanced glycation and mitigates diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009. Vol. 20, № 5. P. 1012–1019.
32. The immune response to influenza vaccination in diabetic patients / P. Pozzilli et al. *Diabetologia.* 1986. Vol. 29, № 12. P. 850–854.
33. The antibody response to influenza vaccination is not impaired in type 2 diabetics / P. A. Sheridan et al. *Vaccine.* 2015. Vol. 33, № 29. P. 3306–3313.
34. Impaired function of antibodies to pneumococcal surface protein A but not to capsular polysaccharide in Mexican American adults with type 2 diabetes mellitus / C. E. Mathews et al. *Clin. Vaccine Immunol.* 2012. Vol. 19, № 9. P. 1360–1369.
35. Islet amyloid polypeptide is not a target antigen for CD8⁺ T-cells in type 2 diabetes / F. Kalantar et al. *Iran J. Immunol.* 2014. Vol. 11, № 1. P. 1–12.
36. Individuals with obesity and type 2 diabetes have additional immune dysfunction compared with obese individuals who are metabolically healthy / C. Richard et al. *BMJ Open Diabetes Res. Care.* 2017. Vol. 5, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2016-000379> (Date of access: 10.12.2021).
37. Individuals with obesity and type 2 diabetes have additional immune dysfunction compared with obese individuals who are metabolically healthy / C. Richard et al. *BMJ Open Diabetes Res. Care.* 2017. Vol. 5, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2016-000379> (Date of access: 10.12.2021).
38. Protection against *Streptococcus pneumoniae* serotype 1 acute infection shows a signature of Th17- and IFN- γ -mediated immunity / J. M. Marqués et al. *Immunobiology.* 2012. Vol. 217, № 4. P. 420–429.

39. Impaired T-cell differentiation in diabetic foot ulceration / J. Moura et al. *Cell Mol. Immunol.* 2017. Vol. 14, № 9. P. 758–769.
40. Regulatory T Cells Promote Apelin-Mediated Sprouting Angiogenesis in Type 2 Diabetes / O. M. Leung et al. *Cell Rep.* 2018. Vol. 24, № 6. P. 1610–1626.
41. Patti M.-E., Corvera S. The role of mitochondria in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Endocr. Rev.* 2010. Vol. 31. P. 364–395. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2009-0027> (Date of access: 10.12.2021).
42. Role and clinical significance of lymphocyte mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes mellitus / S. Khan et al. *Transl. Res.* 2011. Vol. 158. P. 344–359. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.08.007> (Date of access: 10.12.2021).
43. Islet amyloid polypeptide is not a target antigen for CD8⁺ T-cells in type 2 diabetes / F. Kalantar et al. *Iran J. Immunol.* 2014. Vol. 11. P. 1–12.
44. Type 2 diabetes mellitus is associated with altered CD8(+) T and natural killer cell function in pulmonary tuberculosis / N. P. Kumar et al. *Immunology.* 2015. Vol. 144. P. 677–686. DOI: <https://doi.org/10.1111/imm.12421> (Date of access: 10.12.2021).
- 45 Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, et al. (1999) Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association *Circulation* 100(10): 1134-1146.
- 46 Little RR (2003) Glycated hemoglobin standardization-National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) perspective. *Clin Chem Lab Med* 41(9): 1191-1198.
- 47 Bergmann, K.; Sypniewska, G. The influence of sample freezing at –80 °C for 2–12 weeks on glycated haemoglobin (hba(1c)) concentration assayed by hplc method on bio-rad d-10® auto analyzer. *Biochem. Med.* 2016, 26, 346–352.
- 48 Spaeth, B.A.; Shephard, M.D.S.; Schatz, S. Point-of-care testing for haemoglobin a1c in remote australian indigenous communities improves timeliness of diabetes care. *Rural Remote Health* 2014, 14, 2849.
- 49 Takahashi, S.; Uchino, H.; Shimizu, T.; Kanazawa, A.; Tamura, Y.; Sakai, K.; Watada, H.; Hirose, T.; Kawamori, R.; Tanaka, Y. Comparison of glycated albumin

(ga) and glycated hemoglobin (hba1c) in type 2 diabetic patients: Usefulness of ga for evaluation of short-term changes in glycemic control. *Endocr. J.* 2007, 54, 139–144.

50 Buffarini, R.; Restrepo-Méndez, M.C.; Silveira, V.M.; Miranda, J.J.; Gonçalves, H.D.; Oliveira, I.O.; Horta, B.L.; Gigante, D.P.; Menezes, A.M.; Assunção, M.C.F. Distribution of glycated haemoglobin according to early-life and contemporary characteristics in adolescents and adults without diabetes: The 1982 and 1993 pelotas birth cohorts. *PLoS ONE* 2016, 11, e0162614.

51 Winston, A.P. Eating disorders and diabetes. *Curr. Diabetes Rep.* 2020, 20, 32.

52 Katwal, P.C.; Jirjees, S.; Htun, Z.M.; Aldawudi, I.; Khan, S. The effect of anemia and the goal of optimal hba1c control in diabetes and non-diabetes. *Cureus* 2020, 12, e8431.

53 Kohzuma, T.; Yamamoto, T.; Uematsu, Y.; Shihabi, Z.K.; Freedman, B.I. Basic performance of an enzymatic method for glycated albumin and reference range determination. *J. Diabetes Sci. Technol.* 2011, 5, 1455–1462.

54 Pohanka M. Glycated Hemoglobin and Methods for Its Point of Care Testing. *Biosensors*. 2021; 11(3):70. <https://doi.org/10.3390/bios11030070>

55 Jandeleit Dahm K, Cooper ME (2008) The role of AGEs in cardiovascular disease. *Curr Pharm Des* 14(10): 979-986.

56 Yan SF, D’Agati V, Schmidt AM, Ramasamy R (2007) Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE): a formidable force in the pathogenesis of the cardiovascular complications of diabetes & aging. *Curr Mol Med* 7(8): 699-710.

57 Szwergold BS, Howell S, Beisswenger PJ (2001) Human fructosamine- 3-kinase: purification, sequencing, substrate specificity, and evidence of activity in vivo. *Diabetes* 50(9): 2139-2147.

58 Depierre G, Van SE (2003) Fructosamine 3-kinase, an enzyme involved in protein deglycation. *Biochemical Society transactions* 31(6): 1354-1357.

59 Szwergold BS, Howell SK, Beisswenger PJ (2005) Transglycation-a potential new mechanism for deglycation of Schiff’s bases. *Ann NY Acad Sci* 1043: 845-864.

- 60 Luthra M, Balasubramanian D (1993) Nonenzymatic glycation alters protein structure and stability. A study of two eye lens crystallins J Biol Chem 268(24): 18119-18127.
- 61 McDonald, M.J.; Bleichman, M.; Bunn, H.; Noble, R.W. Functional properties of the glycosylated minor components of human adult hemoglobin. J. Biol. Chem. 1979, 254, 702–707.
- 62 Zhang, X.; Medzihradszky, K.F.; Cunningham, J.; Lee, P.D.K.; Rognerud, C.L.; Ou, C.-N.; Harmatz, P.; Witkowska, H.E. Characterization of glycated hemoglobin in diabetic patients: Usefulness of electrospray mass spectrometry in monitoring the extent and distribution of glycation. J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl. 2001, 759, 1–15.
- 63 Bakhti, M.; Habibi-Rezaei, M.; Moosavi-Movahedi, A.; Khazaei, M. Consequential alterations in haemoglobin structure upon glycation with fructose: Prevention by acetylsalicylic acid. J. Biochem. 2007, 141, 827–833.
- 64 Ali, S.; Rao, N.I.L. Correlation of serum fluorescence of advanced glycation end products with diabetes duration and glycemic control in type 2 diabetic patients. Biomed. Res. Ther. 2020, 7, 3933–3938.
- 65 Gonzalez-Viveros, N.; Castro-Ramos, J.; Gomez-Gil, P.; Cerecedo-Nunez, H.H. Characterization of glycated hemoglobin based on raman spectroscopy and artificial neural networks. Spectrosc. Acta Part. A Mol. Biomol. Spectr. 2021, 247, 119077.
- 66 Szkudlarek, A.; Sułkowska, A.; Maciążek-Jurczyk, M.; Chudzik, M.; Równicka-Zubik, J. Effects of non-enzymatic glycation in human serum albumin. Spectroscopic analysis. Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 2016, 152, 645–653..
- 67 Shanbhag, V.P.; Axelsson, C.-G. Hydrophobic interaction determined by partition in aqueous two-phase systems. Eur. J. Biochem. 1975, 60, 17–22.
- 68 Zaslavsky, B.Y.; Uversky, V.N.; Chait, A. Analytical applications of partitioning in aqueous two-phase systems: Exploring protein structural changes and protein–partner interactions in vitro and in vivo by solvent interaction analysis method. Biochim. Biophys. Acta (BBA) Proteins Proteom. 2016, 1864, 622–644.

- 69 Chait, A.; Zaslavsky, B.Y. Method for Evaluation of the Ratio of Amounts of Biomolecules or Their Sub-Populations in a Mixture. U.S. Patent No. 6,136,960, 24 October 2000.
- 70 Appel, E.V.R.; Moltke, I.; Jorgensen, M.E.; Bjerregaard, P.; Linneberg, A.; Pedersen, O.; Albrechtsen, A.; Hansen, T.; Grarup, N. Genetic determinants of glycosylated hemoglobin levels in the greenlandic inuit population. *Eur. J. Hum. Genet.* 2018, 26, 868–875.
- 71 Emma English & Erna Lenters-Westra (2018) HbA1c method performance: The great success story of global standardization, *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 55:6, 408-419, DOI: [10.1080/10408363.2018.1480591](https://doi.org/10.1080/10408363.2018.1480591)
- 72 Little RR, Wiedmeyer HM, JD England, AL Wilke, Rohlfing CL, et al. (1992) Interlaboratory standardization of measurements of glycohemoglobins. *Clinical Chemistry* 38(12): 2472-2478.
- 73 Uwe Kobold, Jan Olof Jeppsson, Thomas Dülffer, Andreas Finke, Wieland Hoelzel, et al. (1997) Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clinical Chemistry* 43(10): 1944-1951.
- 74 Mosca A, Goodall I, Hoshino T, Jeppsson JO, John WG, et al. (2007) Global standardization of glycosylated hemoglobin measurement: the position of the IFCC Working Group. *Clin Chem Lab Med* 45(8): 1077-1080.
- 75 Hanas R (2002) Psychological impact of changing the scale of reported HbA(1c) results affects metabolic control. *Diabetes Care* 25(11): 2110-2111.
- 76 Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, Miedema K, Barr JR (2004) IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study. *Clin Chem* 50(1): 166-174.
- 77 Cas Weykamp (2013) HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. *Ann Lab Med* 33(6): 393-400.
- 78 Nathan DM, Turgeon H, Regan S (2007) Relationship between glycosylated haemoglobin levels and mean glucose levels over time. *Diabetologia* 50(11): 2239-2244.

- 79 Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, et al. (2002) Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 25(2): 275-278.
- 80 Padma Rajan, Mahipal Nera, Aravind Kumar Pavalura, Nagasree Medandrao, S Chetan Kumar, et al. (2013) Comparison of glycosylated hemoglobin (HbA1C) levels in patients with chronic periodontitis and healthy controls. *Dent Res J (Isfahan)* 10(3): 389-393.
- 81 Rodbard HW, Blonde L, Braithwaite SS, Brett EM, Cobin RH, et al. (2007) American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the management of diabetes mellitus. *Endocr Pract* 13(1): 1-68.
- 82 Huang ES1, Zhang Q, Gandra N, Chin MH, Meltzer DO, et al. (2008) The effect of comorbid illness and functional status on the expected benefits of intensive glucose control in older patients with type 2 diabetes: a decision analysis. *Ann Intern Med* 149(1): 11-19.
- 83 Saudek CD, Kalyani RR (2009) Does comorbidity affect the benefit of intensive glycemic control in older patients with type 2 diabetes mellitus? *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 5(2): 78-79.
- 84 Olav Klingenberg, Torill Furuset, Camilla R. Hestbråten, Marit H. Hallberg, Astrid Steiro, Iren R. Orset & Jens P. Berg (2017) HbA1c analysis by capillary electrophoresis – comparison with chromatography and an immunological method, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 77:6, 458-464, DOI: [10.1080/00365513.2017.1338747](https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1338747)
- 85 Melissa Conrad Stöppler (2016) HbA1c Test (Hemoglobin A1c).
- 86 Diazyme laboratories (2017) Innovations in clinical Diagnostics. Direct Enzymatic HbA1c Methods.
- 87 Pohanka, Miroslav (2009) Monoclonal and polyclonal antibodies production - preparation of potent biorecognition element. *Journal of Applied Biomedicine (De Gruyter Open)* 7(3): 115-121.

- 88 Hamwi A, Schweiger CR, Veitl M, Schmid R (1995) Quantitative measurement of HbA1c by an immunoturbidimetric assay compared to a standard HPLC method. *Am J Clin Pathol* 104(1): 89-95.
- 89 Gupta S, Jain U, Chauhan N (2017) Laboratory Diagnosis of HbA1c: A Review. *J Nanomed Res* 5(4): 00120. DOI: 10.15406/jnmr.2017.05.00120
- 90 Okamoto, T.; Shima, H.; Noma, Y.; Komatsu, M.; Azuma, H.; Miya, K.; Tashiro, M.; Inoue, T.; Masaki, C.; Tada, H.; et al. Hereditary spherocytosis diagnosed with extremely low glycated hemoglobin compared to plasma glucose levels. *Diabetol. Int.* 2021.
- 91 Kulkarni, J.D.; Shivashanker, S. Incidental detection of hemoglobin variants during evaluation of hba1c. *Indian J. Clin. Biochem.* 2021.
- 92 Chen, H.J.C.; Teng, Y.C. Stability of glyoxal- and methylglyoxal-modified hemoglobin on dried blood spot cards as analyzed by nanoflow liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Food Drug Anal.* 2019, 27, 526–530.
- 93 Xu, A.P.; Wang, Y.J.; Li, J.; Xie, W.J.; Chen, W.D.; Ji, L. Detection of hb phnom penh by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (maldi-tof) mass spectrometry during the measurement of glycated hemoglobin. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2020, 58, E233–E235.
- 94 Xu, A.P.; Chen, W.D.; Xie, W.J.; Wang, Y.J.; Ji, L. Hemoglobin variants in southern china: Results obtained during the measurement of glycated hemoglobin in a large population. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2021, 59, 227–232.
- 95 Stolz, A.; Hedeland, Y.; Salzer, L.; Romer, J.; Heiene, R.; Leclercq, L.; Cottet, H.; Bergquist, J.; Neususs, C. Capillary zone electrophoresis-top-down tandem mass spectrometry for in-depth characterization of hemoglobin proteoforms in clinical and veterinary samples. *Anal. Chem.* 2020, 92, 10531–10539.
- 96 Gilani, M.; Aamir, M.; Akram, A.; Haroon, Z.H.; Ijaz, A.; Khadim, M.T. Comparison of turbidimetric inhibition immunoassay, high-performance liquid chromatography, and capillary electrophoresis methods for glycated hemoglobin determination. *Lab. Med.* 2020, 51, 579–584.

- 97 Vargas, M.G.; Gomez, B.J.P.; Lorenti, F.E.V.; Condo, G.M.A.; Neira, E.I.R.; Veron, D.; Veron, M.F.; Cercado, A.G.; Bahar, B.; Tufro, A. Assessment of two glycated hemoglobin immunoassays. *Endocrinol. Diabetes Nutr.* 2020, 67, 297–303.
- 98 Movsas, T.Z.; Muthusamy, A. Feasibility of neonatal haemoglobin a1c as a biomarker for retinopathy of prematurity. *Biomarkers* 2020, 25, 468–473.
- 99 Edriss, H.; Molehin, A.J.; Selvan, K.; Gavidia, R.; Patel, P.U.; Nugent, K. Advanced glycation end products and glycosaminoglycans in patients with diabetic ketoacidosis. *J. Investig. Med.* 2020, 68, 738–742.
- 100 Ong, D., & Poljak, M. (2020). Smartphones as mobile microbiological laboratories. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(4), 421–424. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.09.026>
- 101 Ong, D., & Poljak, M. (2020). Smartphones as mobile microbiological laboratories. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(4), 421–424. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.09.026>
- 102 Rietmeijer, C. A., Mungati, M., Kilmarx, P. H., Barr, B. T., Gonese, E., Kularatne, R. S., Lewis, D. A., Klausner, J. D., Rodgers, L., & Handsfield, H. H. (2019). Performance of a Dual Human Immunodeficiency Virus/Syphilis Rapid Test Compared With Conventional Serological Testing for Syphilis and Human Immunodeficiency Virus in a Laboratory Setting: Results From the Zimbabwe STI Etiology Study. *Sexually transmitted diseases*, 46(9), 584–587. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000001022>
- 103 Tang, L.; Chang, S.J.; Chen, C.J.; Liu, J.T. Non-invasive blood glucose monitoring technology: A review. *Sensors* 2020, 20, 6925.
- 104 Juska, V.B.; Pemble, M.E. A critical review of electrochemical glucose sensing: Evolution of biosensor platforms based on advanced nanosystems. *Sensors* 2020, 20, 6013.

- 105 He, W.J.; Huang, Y.X.; Wu, J. Enzyme-free glucose biosensors based on mos2 nanocomposites. *Nanoscale Res. Lett.* 2020, 15, 60.
- 106 Dziergowska, K.; Labowska, M.B.; Gasior-Glogowska, M.; Kmiecik, B.; Detyna, J. Modern noninvasive methods for monitoring glucose levels in patients: A review. *Bio-Algorithms Med. Syst.* 2019, 15, 20190052.
- 107 Lisi, F.; Peterson, J.R.; Gooding, J.J. The application of personal glucose meters as universal point-of-care diagnostic tools. *Biosens. Bioelectron.* 2020, 148, 111835.
- 108 Scognamiglio, V.; Arduini, F. The technology tree in the design of glucose biosensors. *Trac-Trends Anal. Chem.* 2019, 120, 115642.
- 109 Zhang, T.; Wang, H.B.; Zhong, Z.T.; Li, C.Q.; Chen, W.; Liu, B.; Zhao, Y.D. A smartphone-based rapid quantitative detection platform for lateral flow strip of human chorionic gonadotropin with optimized image algorithm. *Microchem. J.* 2020, 157, 105038.
- 110 Kasetsirikul, S.; Shiddiky, M.J.A.; Nguyen, N.T. Challenges and perspectives in the development of paper-based lateral flow assays. *Microfluid. Nanofluid.* 2020, 24, 17.
- 111 Sathishkumar, N.; Toley, B.J. Development of an experimental method to overcome the hook effect in sandwich-type lateral flow immunoassays guided by computational modelling. *Sens. Actuator B Chem.* 2020, 324, 128756.
- 112 Ang, S.H.; Rambeli, M.; Thevarajah, T.M.; Alias, Y.B.; Khor, S.M. Quantitative, single-step dual measurement of hemoglobin a1c and total hemoglobin in human whole blood using a gold sandwich immunochromatographic assay for personalized medicine. *Biosens. Bioelectron.* 2016, 78, 187–193.
- 113 Khlebtsov, B.; Khlebtsov, N. Surface-enhanced raman scattering-based lateral-flow immunoassay. *Nanomaterials* 2020, 10, 2228.
- 114 Li, H.; Wang, D.; Tang, X.Q.; Zhang, W.; Zhang, Q.; Li, P.W. Time-resolved fluorescence immunochromatography assay (trfica) for aflatoxin: Aiming at increasing strip method sensitivity. *Front. Microbiol.* 2020, 11, 676.

- 115 Urusov, A.E.; Zherdev, A.V.; Dzantiev, B.B. Towards lateral flow quantitative assays: Detection approaches. *Biosensors* 2019, 9, 89.
- 116 Kumar, S.; Nehra, M.; Khurana, S.; Dilbaghi, N.; Kumar, V.; Kaushik, A.; Kim, K.H. Aspects of point-of-care diagnostics for personalized health wellness. *Int. J. Nanomed.* 2021, 16, 383–402.
- 117 Konwar, A.N.; Borse, V. Current status of point-of-care diagnostic devices in the indian healthcare system with an update on covid-19 pandemic. *Sens. Intern.* 2021.
- 118 Sharma, P.; Panchal, A.; Yadav, N.; Narang, J. Analytical techniques for the detection of glycated haemoglobin underlining the sensors. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020, 155, 685–696.
- 119 Ahmadi, A.; Kabiri, S.; Omidfar, K. Advances in hba1c biosensor development based on field effect transistors: A review. *IEEE Sens. J.* 2020, 20, 8912–8921.
- 120 Sun, D.P.; Wu, Y.; Chang, S.J.; Chen, C.J.; Liu, J.T. Investigation of the recognition interaction between glycated hemoglobin and its aptamer by using surface plasmon resonance. *Talanta* 2021, 222, 121466.
- 121 Zhang, C.G.; Chang, S.J.; Settu, K.; Chen, C.J.; Liu, J.T. High-sensitivity glycated hemoglobin (hba1c) aptasensor in rapid-prototyping surface plasmon resonance. *Sens. Actuator B Chem.* 2019, 279, 267–273.
- 122 Lin, Y.C.; Lin, C.Y.; Chen, H.M.; Kuo, L.P.; Hsieh, C.E.; Wang, X.H.; Cheng, C.W.; Wu, C.Y.; Chen, Y.S. Direct and label-free determination of human glycated hemoglobin levels using bacteriorhodopsin as the biosensor transducer. *Sensors* 2020, 20, 7274.
- 123 Mauriz, E. Clinical applications of visual plasmonic colorimetric sensing. *Sensors* 2020, 20, 6214.
- 124 Reinhard, I.; Miller, K.; Diepenheim, G.; Cantrell, K.; Hall, W.P. Nanoparticle design rules for colorimetric plasmonic sensors. *ACS Appl. Nano Mater.* 2020, 3, 4342–4350.
- 125 Mejía-Salazar, J.R.; Oliveira, O.N., Jr. Plasmonic biosensing. *Chem. Rev.* 2018, 118, 10617–10625.

- 126 Shahbazmohammadi, H.; Sardari, S.; Omidinia, E. An amperometric biosensor for specific detection of glycated hemoglobin based on recombinant engineered fructosyl peptide oxidase. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020, 142, 855–865.
- 127 Jain, U.; Gupta, S.; Chauhan, N. Detection of glycated hemoglobin with voltammetric sensing amplified by 3d-structured nanocomposites. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017, 101, 896–903.
- 128 Pohanka, M. Qcm biosensor for measurement of glycated hemoglobin. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2019, 14, 11340–11348.
- 129 Jaber, S.Y.S.; Ghaffarinejad, A.; Omidinia, E. An electrochemical paper based nano-genosensor modified with reduced graphene oxide-gold nanostructure for determination of glycated hemoglobin in blood. *Anal. Chim. Acta* 2019, 1078, 42–52.
- 130 Hatamvand, R.; Shams, A.; Mohammadifar, E.; Yari, A.; Adeli, M. Synthesis of boronic acid-functionalized poly(glycerol-oligo gamma-butyrolactone): Nanonetworks for efficient electrochemical sensing of biosystems. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* 2019, 57, 1430–1439.
- 131 Li, H.; Huo, W.S.; He, M.L.; Lian, J.; Zhang, S.H.; Gao, Y.H. On-chip determination of glycated hemoglobin with a novel boronic acid copolymer. *Sens. Actuator B Chem.* 2017, 253, 542–551.
- 132 Han, Y.D.; Kim, K.R.; Park, Y.M.; Song, S.Y.; Yang, Y.J.; Lee, K.; Ku, Y.; Yoon, H.C. Boronate-functionalized hydrogel as a novel biosensing interface for the glycated hemoglobin a1c (hba(1c)) based on the competitive binding with signaling glycoprotein. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2017, 77, 1160–1169.
- 133 Wang, X.; Su, J.; Zeng, D.D.; Liu, G.; Liu, L.Z.; Xu, Y.; Wang, C.G.; Liu, X.X.; Wang, L.; Mi, X.Q. Gold nano-flowers (au nfs) modified screen-printed carbon electrode electrochemical biosensor for label-free and quantitative detection of glycated hemoglobin. *Talanta* 2019, 201, 119–125.
- 134 Pandey, I.; Tiwari, J.D. A novel dual imprinted conducting nanocubes based flexible sensor for simultaneous detection of hemoglobin and glycated haemoglobin in gestational diabetes mellitus patients. *Sens. Actuator B Chem.* 2019, 285, 470–478.

- 135 A. Qaseem et al. Hemoglobin A1c targets for glycemic control with pharmacologic therapy for nonpregnant adults with type 2 diabetes mellitus: a guidance statement update from the American College of Physicians
Ann. Intern. Med. (2018)
- 136 C.D. Miller et al. Rapid A1c availability improves clinical decision-making in an urban primary care clinic Diabetes Care (2003)
- 137 J.R. Petersen et al. Effect of point-of-care on maintenance of glycemic control as measured by A1C Diabetes Care (2007)
- 138 Irina L. Dubach, Emanuel R. Christ, Peter Diem. HbA1c-testing: Evaluation of two point-of-care analysers, Primary Care Diabetes, 2019, Volume 13, Issue 6, Pages 583-587 <https://doi.org/10.1016/j.pcd.2019.05.007>
- 139 Agrawal S., Reinert S. E., Baird G. L., Quintos J. B. Comparing HbA1C by POC and HPLC (2018) Rhode Island Medical Journal, p. 43-46
<http://www.rimed.org/rimedicaljournal/2018/09/2018-09-43-cont-agrawal.pdf>
- 140 Tamborlane W, Kollman C, Steffes M, et al. Comparison of fingerstick hemoglobin A1c levels assayed by DCA 2000 with the DCCT/EDIC central laboratory assay: results of a Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study. Pediatric diabetes. 2005;6(1):13-16.
- 141 Grant D.A., Dunseath G.J., Churm R., Luzio S.D.. Comparison of a point-of-care analyser for the determination of HbA1c with HPLC method Practical Laboratory Medicine 8 (2017) 26–29
- 142 Borus J, Laffel L. Adherence challenges in the management of type 1 diabetes in adolescents: prevention and intervention. Current opinion in pediatrics. 2010;22(4):405-411.
- 143 Cagliero E, Levina E, Nathan D. Immediate feedback of HbA1c levels improves glycemic control in type 1 and insulin-treated type 2 diabetic patients. Diabetes care. 1999;22(11):1785-1789.
- 144 Agus M, Alexander J, Wolfsdorf J. Utility of immediate hemoglobin A1c in children with type I diabetes mellitus. Pediatric diabetes. 2010;11(7):450-454.

145 Leters-Westra E, Slingerland R. Six of eight hemoglobin A1c point-of-care instruments do not meet the general accepted analytical performance criteria. *Clinical chemistry*. 2010;56(1):44-52.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Науково-практична конференція
молодих вчених, здобувачів освіти та лікарів-інтернів

**СУЧАСНІ ПИТАННЯ
ФІЗИЧНОЇ ТЕРАПІЇ ТА ЕРГОТЕРАПІЇ.
ЛАБОРАТОРНА МЕДИЦИНА:
ПРОБЛЕМИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ**

Харків, 22 листопада 2023 року

Цирулік Катерина ФІЗИЧНА ТЕРАПІЯ В КОМПЛЕКСНІЙ РЕАБІЛІТАЦІЇ ХВОРИХ ПІСЛЯ ТРАНСФЕМОРАЛЬНОЇ АМПУТАЦІЇ.....	112
Цидибрага Іванна, Латогуз Сергій, Манучерян Світлана ФІЗИЧНА ТЕРАПІЯ ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ З ПОПЕРЕКОВО-КРИЖОВИМ ОСТЕОХОНДРОЗОМ.....	114
Цінкевич Юлія ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ІНФЕКЦІЙ, ВИКЛИКАНИХ ВІРУСАМИ ПАПІЛОМИ ЛЮДИНИ	116
Чиняк Ольга КОГНІТИВНА РЕАБІЛІТАЦІЯ ПАМ'ЯТІ У ХВОРИХ НА РОЗСІЯНИЙ СКЛЕРОЗ	119
Шаніна Вікторія, Підгайна Поліна, Літвінова Валерія РОЛЬ СЕРОЛОГІЧНИХ ТЕСТІВ У ДІАГНОСТИЦІ ІНФЕКЦІЙ, ЩО ПЕРЕДАЮТЬСЯ СТАТЕВИМ ШЛЯХОМ.....	121
Штайф І.М., Кошова О.Ю. КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ: БІОМАРКЕРИ ГЛІКЕМІЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗАХВОРЮВАННЯ.....	124
Штепура Максим, Латогуз Сергій, Манучерян Світлана СТАН СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЇ СИСТЕМИ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ.....	126
Щербак Софія МІКРОБІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ БЕЗПЕЧНОГО ДОНОРСТВА КРОВІ	128
Янішен І.В., Кричка Н.В. РЕАБІЛІТАЦІЯ ХВОРИХ ІЗ ПОВНОЮ ВІДСУТНІСТЮ ЗУБІВ ПІСЛЯ НЕ- ЗАДОВІЛЬНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ОРТОПЕДИЧНОГО ЛІКУВАННЯ.....	129

КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ: БІОМАРКЕРИ ГЛІКЕМІЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗАХВОРЮВАННЯ

**Штайф І.М.
Кошова О.Ю.**

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Проблема ранньої діагностики та ефективного лікування цукрового діабету та його ускладнень є однією з найактуальніших у сучасній ендокринології. Діабет посідає третє місце після серцево-судинних та онкологічних захворювань як причина смерті та серйозних інвалідизуючих ускладнень. Частота захворювання збільшується з віком: кількість хворих цукрового діабету до 15 років складає 5 % від їхньої загальної кількості, переважна більшість хворих (80 %) старше 40 років. Поширеність діабету більше серед осіб літнього віку, а також серед осіб з ожирінням (у 4–30 разів).

В даний час, проводяться інтенсивні дослідження в галузі лабораторної діагностики хронічних захворювань, включаючи діабет і серцево-судинні захворювання, з метою розробки нових біомаркерів для поліпшення діагностики.

Відповідно до клінічної настанови МОЗ України (2022) головними показниками діагностики та контролю глікемії у хворих на цукровий діабет є визначення рівня глюкози в плазмі крові, критеріями якого є – значення глюкози в плазмі натще (ГПН) або 2-годинне значення глюкози в плазмі (2-г ГП) під час проведення перорального тесту на толерантність до глюкози (ПТТГ), або глікозильованого гемоглобіну HbA1c. Ці показники (ГПН, 75-г ПТТГ та HbA1c) однаково підходять для діагностичного скринінгу діабету.

На сьогодні доведено, що рівень глюкози та глікозильованого гемоглобіну залежить від віку пацієнта та періоду захворювання, що обґрунтовує необхідність індивідуального підходу до визначення цільових рівнів глюкози плазми та HbA1c для кожного пацієнта з врахуванням його віку.

Глікозильований гемоглобін – це молекула гемоглобіну, що хімічно пов'язана з цукром. Він відображає середній рівень цукру в крові за останні 2–3 місяці. Нижчий рівень HbA1c (<6,5 %) допустимо лише за відсутності необґрунтованого ризику тяжкої гіпоглікемії, частих епізодів легкої гіпоглікемії та зниження якості життя дитини та батьків. Вищий рівень HbA1c (<7,5 %) доцільний у дітей, які не можуть повідомити про симптоми гіпоглікемії, з порушенням сприйняття гіпоглікемії/важкої гіпоглікемії в анамнезі, недостатнім контролем рівня глюкози крові.

Як зазначено у настанові, HbA1c має ряд переваг у порівнянні з ГПН та ПТТГ: зручність (голодування не потрібне) проведення тесту, більша переданалітична стабільність та менша частота щоденних коливань під час стресу, змін у дієті чи захворюваннях [1, с. 25–27, 2, с. 724–733, 3, с. 1–10].

Однак, ці переваги можуть бути нівельовані нижчою чутливістю HbA1c, більшою вартістю, обмеженою доступністю тестування HbA1c у певних країнах, що розвиваються, та відсутністю кореляції між HbA1c та середнім рівнем глюкози у певних осіб. За даними Національного дослідження здоров'я та харчування (NHANES), тест HbA1c, діагностичний поріг якого становить $\geq 6,5\%$ (48 ммоль/моль), виявляє лише 30 % випадків діабету, встановлених комплексним тестуванням за допомогою HbA1c, ГПН або ПТТГ.

Іншим важливим показником моніторингу діабету є С-пептид – поліпептид, утворений 31 амінокислотою, який разом з інсуліном є продуктом розпаду проінсуліну. Він біологічно неактивний, не пов'язаний з печінкою та не залежить від приймання інсуліну пацієнтом, який страждає на цукровий діабет. Його концентрація в сироватці відповідає концентрації ендogenous інсуліну, тому С-пептид є одним з найголовніших лабораторних показників для контролю перебігу та діагностики ЦД, показником активності бета-клітин та маркером онкологічних новоутворень підшлункової залози. Референтні значення залежать від методу визначення: у звичайних умовах – 0,4–1,2 нмоль/л (1,2–3,6 мкг/л); на 6-й хвилині після *в/в* ін'єкції 1 мг глюкагону – 1–4 нмоль/л (3,0–12 мкг/л). Нормальна концентрація С-пептиду, особливо після стимуляції глюкагоном, свідчить про збереження секреторного резерву β-клітин. Концентрація $<0,6$ нмоль/л після стимуляції глюкагоном реєструється, головним чином, при ЦД 1-го типу і при довго триваючому ЦД 2-го типу, після вичерпання секреторного резерву β-клітин. Дуже високі концентрації С-пептиду натше і після стимуляції глюкагоном можуть вказувати на гіперінсулінізм при ЦД 2-го типу або бути симптомом інсуліноми. Також, підвищена концентрація С-пептиду в крові спостерігається при пухлинах в підшлунковій залозі, ожирінні за чоловічим типом, хворобах печінки і прийомі глібенкламиду. Знижений рівень С-пептиду вказує на цукровий діабет, а також може бути наслідком прийому тiazоліндіонів [4–6].

Таким чином, найголовнішими лабораторними показниками для контролю перебігу та діагностики ЦД є показники, що характеризують рівень глікемії (ГПН, 2-г ГП за 75-г ПТТГ та HbA1c) та функціональної активності бета-клітин підшлункової залози.

Перелік використаних джерел:

1. Цукровий діабет клінічна настанова, заснована на доказах. МОЗ України (2022) С. 25–29. [2023_nastanova-czd_dorosli.pdf \(dec.gov.ua\)](https://nastanova-czd.dorosli.pdf(dec.gov.ua))
2. Bogun M, Inzucchi SE. Inpatient management of diabetes and hyperglycemia. Clin Ther 2013; 35: 724–733.
3. Moghissi E, Inzucchi S. The evolution of glycemic control in the hospital setting. In Managing Diabetes and Hyperglycemia in the Hospital Setting. Draznin B, Ed. Alexandria, VA, American Diabetes Association, 2016, pp. 1–10
4. Jeyam, Anita; Colhoun, Helen; McGurnaghan, Stuart; Blackbourn, Luke; McDonald, Timothy J.; Palmer, Colin N.A.; McKnight, John A.; Strachan, Mark W.J.; Patrick, Alan W.; Chalmers, John; Lindsay, Robert S.; Petrie, John R.;

Thekkepat, Sandeep; Collier, Andrew; MacRury, Sandra (2021-02-05). ["Erratum. Clinical Impact of Residual C-Peptide Secretion in Type 1 Diabetes on Glycemia and Microvascular Complications. Diabetes Care 2021;44:390–398". Diabetes Care: dc21er04b. doi:10.2337/dc21er04b. ISSN 0149-5992.](#)

5. ["C-peptide – Creative Peptides -" AdisInsight. Retrieved 22 October 2016.](#)

6. Koska J, Nuyujukian DS, Bahn G, Zhou JJ, Reaven PD (2021). ["Association of low fasting C-peptide levels with cardiovascular risk, visit-to-visit glucose variation and severe hypoglycemia in the Veterans Affairs Diabetes Trial \(VADT\)". Cardiovascular Diabetology. 20 \(1\): 232. doi:10.1186/s12933-021-01418-z. PMC 8656002. PMID 34879878.](#)

СТАН СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЇ СИСТЕМИ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ

Штепура Максим

Латогуз Сергій

Манучерян Світлана

Харківський національний медичний університет, м Харків

Вступ. Ішемічна хвороба серця, за даними ВООЗ, є епідемією XXI століття. Організація боротьби з серцево-судинними захворюваннями, у тому числі з ішемічною хворобою серця, які ведуть до значної смертності, інвалідності та великих трудових втрат, набула державної значущості та реалізується численними науковими дослідженнями з основних захворювань серця та судин із забезпеченням впровадження результатів у практику охорони здоров'я [1–3].

Порушення ритму серця і провідності є однією з актуальних проблем сучасної кардіології, що має надзвичайно велике як теоретичне, так і практичне значення [4, 5].

Аритмії зустрічаються практично при всіх серцево-судинних захворюваннях, але особливо часто при ішемічній хворобі серця [6].

Матеріали та методи дослідження. Дослідження стану симпатoadреналової системи проведено за добовою екскрецією вільних фракцій адреналіну та норадреналіну із сечею. Контрольні групи склали здорові особи та 49 хворих на ХІХС без аритмій. У групі контрольних осіб екскреція адреналіну з сечею дорівнювала 46.0 ± 2.0 нмоль/24год., норадреналіну 138.2 ± 5.6 нмоль/24год.

Результати дослідження під час порушень ритму серця порівнювалися також із даними після їх усунення.

Результати дослідження та їх обговорення. Найбільш високі показники екскреції катехоламінів спостерігалися при пароксизмальній формі миготливої аритмії, параксизмальної надшлункової тахікардії, шлуночкової екстрасистолії.

Національний фармацевтичний університет

Факультет медико-фармацевтичних технологій

Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

Рівень вищої освіти другий магістерський (перший бакалаврський)

Спеціальність 224 Технології медичної діагностики та лікування

Освітня програма Лабораторна діагностика

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувачка кафедри

Наталія ФІЛІМОНОВА

“ ____ ” _____ 2024 року

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ
ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ**

Івanni Штайф

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунопатології захворювання», керівник кваліфікаційної роботи: Олена КОШОВА, к.фарм.н., доцент, затверджений наказом НФаУ № 242 від “01” листопада 2023 року.
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: грудень 2023 року.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: теоретичне обґрунтування доцільності використання сучасних лабораторних біомаркерів стану імунної системи та глікемічного профілю хворих на ЦД, порівняння сучасних лабораторних експрес-методів зі стандартним методом високоефективної рідинної хроматографії визначення вмісту HbA1c.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік, які потрібно розробити): провести аналіз літератури щодо біомаркерів контролю глікемічного профілю та імунопатологічних змін за цукрового діабету. Надати порівняльний аналіз сучасних лабораторних експрес-методів зі стандартним методом високоефективної рідинної хроматографії визначення вмісту HbA1c.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов’язкових креслень): результати досліджень наведені у вигляді 2 таблиць, 1 рисунку.
6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1.1 Класифікація, етіологія і патогенез цукрового діабету 1.3 Особливості імунного статусу хворих на ЦД	Ірина ТИЩЕНКО, доцент каф. мікробіології, вірусології та імунології	13.09.2023	21.09.2023
2.2 Роль запалення у патофізіології ЦД	Наталія ФІЛІМОНОВА, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології НФаУ	05.10.2023	16.10.2023
3.2. Стандартизація лабораторних методів визначення глікозильованого гемоглобіну	Ольга ШАПОВАЛОВА, доцент каф. мікробіології, вірусології та імунології	16.10.2023	27.10.2023

7. Дата видачі завдання: 07. 09.2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Формування напряму наукового дослідження	з 04.09.2023 р. до 11.09.2023 р.	виконано
2	Аналітичний огляд літератури	з 13.09.2023 р. до 29.09.2023 р.	виконано
3	Вибір об'єктів і методів дослідження	з 04.10.2023 р. до 09.10.2023 р.	виконано
4	Розробка календарної схеми проведення досліджень	з 11.10.2023 р. до 16.10.2023 р.	виконано
5	Проведення досліджень	з 18.10.2023 р. до 03.11.2023 р.	виконано
6	Оформлення магістерської роботи та списку використаних джерел	з 15.11.2023 р. до 20.12.2023 р.	виконано

Здобувач вищої освіти

Іванна ШТАЙФ

Керівник кваліфікаційної роботи

Олена КОШОВА

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 242
по Національному фармацевтичному університету
від 01 листопада 2023 року

Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти денної форми здобуття освіти факультету медико-фармацевтичних технологій НФаУ 2024 року випуску:

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1.	Штайф Іванна Михайлівна	Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунопатології захворювання	Clinical-laboratory diagnosis of diabetes: biomarkers of glycemic control and immunopathology of the disease	доц. Кошова О. Ю.	доц. Чікіткіна В. В.

ПІДСТАВА: службова записка завідувача кафедри про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.
З оригіналом згідно:

Декан факультету медико-фармацевтичних технологій _____ О.І. Набока

Ф А2.8-47-110

ВИСНОВОК**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу****щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі****здобувача вищої освіти**

№ 125083 від « 28 » грудня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Штайф Івонни Михайлівни, 2 курсу, _____ групи, спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування, на тему: «Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунопатології захворювання / Clinical-laboratory diagnosis of diabetes: biomarkers of glycemic control and immunopathology of the disease», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,
професор**

**Інна ВЛАДИМИРОВА**

1%

22%

ВІДГУК

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти
магістр, спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування**

Іванни ШТАЙФ

на тему: «Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунopatології захворювання»

Актуальність теми. Діагностика та моніторинг лікування людей з діабетом є актуальною сучасною проблемою, що потребує розробки нових та удосконалення існуючих методів контролю глікемічного профілю та імунopatологічних змін за ЦД у лабораторіях та клініках у всьому світі. Основою моніторингу, золотим стандартом оцінки тривалого глікемічного контролю у людей з ЦД є глікозильований гемоглобін A1c (HbA1c). На відміну від рутинних маркерів глікемії, що відображають лише поточний рівень глюкози в крові, глікозильований гемоглобін дає стабільну та надійну інформацію про глікемічний профіль хворого протягом 90-120 днів. На сьогодні існують дві основні групи клініко-лабораторних методів визначення вмісту HbA1c: стандартний метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), який зарекомендував себе як надійний та точний метод, та експрес-методи (методи РОС (point-of-care)). На відміну від методу ВЕРХ, застосування якого можливо тільки в спеціалізованій лабораторії за наявності висококваліфікованого персоналу та дороговартісного обладнання, експрес-методи більш зручні для рутинної діагностики і можуть надати лікарю необхідну інформацію щодо глікемічного профіля хворого одразу під час прийому. Тому актуальним є питання щодо точності та стандартизації вимірювання HbA1c експрес-методами.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Здобувачем проведено теоретичне обґрунтування доцільності використання сучасних лабораторних біомаркерів стану імунної системи та глікемічного профілю хворих на ЦД. Проведено порівняння сучасних лабораторних експрес-методів зі

стандартним методом ВЕРХ визначення вмісту HbA1c. Порівняльний аналіз літературних даних показав, що значення HbA1C, отримані за допомогою ВЕРХ, і РОС-методів мають високу тотожність, за умови якщо HbA1C у пацієнтів зберігається на рівні $<14\%$. Якщо рівень HbA1C РОС $\geq 14\%$ – вимірювання на аналізаторах РОС характеризується широкими варіаціями для значень. Тому, у цих випадках тестування рівня HbA1C слід проводити у лабораторіях з використанням рутинних стандартних методів HPLC для належного контролю глікемії та моніторингу лікування.

Наукові результати, що отримані автором, можна рекомендувати для використання у навчальному процесі кафедр медико-біологічного профілю і клінічної лабораторної діагностики та у науковому процесі ННПФ.

Оцінка роботи. Іванна ШТАЙФ показала здатність самостійно планувати роботу та вирішувати завдання, використовуючи відповідні інструменти. Кваліфікаційна робота в цілому виконана на належному рівні; магістрант показав себе досвідченим фахівцем, продемонстрував глибоке знання предмета і гарні навички практичної роботи.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Робота виконана в достатньому обсязі, цілком відповідає встановленим вимогам, що висуваються до випускних робіт на освітньо-кваліфікаційному рівні магістра зі спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування та може бути представлена до захисту.

Науковий керівник _____

Олена КОШОВА

"09 " грудня 2023 р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр, спеціальності 224 технології медичної діагностики та лікування

Івanni ШТАЙФ

на тему: «Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунopatології захворювання»

Актуальність теми, обраної Штайф І., важко переоцінити, оскільки цукровий діабет за даними Міжнародної діабетичної федерації є поширеною хворобою по всьому світу, і, згідно з прогнозами на 2040 рік, кількість хворих на ЦД підвищиться до 642 млн. Соціально-медична значущість ЦД обумовлена тим, що цукровий діабет знаходиться на третьому місці після серцево-судинних та онкологічних захворювань серед причин смерті та є причиною таких важких інвалідизуючих ускладнень, як ниркова недостатність, сліпота, інфаркт міокарда, інсульт, гангрена нижніх кінцівок. Отже, проблема ранньої діагностики та ефективного лікування цукрового діабету та його ускладнень є актуальною в сучасній ендокринології.

Сьогодні, в області лабораторної діагностики хронічних захворювань, зокрема цукрового діабету та серцево-судинних захворювань, ведуться інтенсивні дослідження з метою розробки нових біомаркерів, які б допомагали поліпшити діагностику, прогнозування хвороби та моніторингу ефективності лікування. Найбільш актуальні напрямки досліджень що стосуються діабету включають такі біомаркери: глікозильований гемоглобін (HbA1c – є одним з важливих біомаркерів у діагностиці та моніторингу цукрового діабету); біомаркери запалення та стресу (запалення є провідним фактором у розвитку серцево-судинних захворювань); біомаркери окисного стресу можуть допомогти прогнозуванню ризиків та вибору оптимальних терапевтичних стратегій(окисний стрес відіграє ключову роль у патогенезі серцево-судинних захворювань); біомаркери атеросклерозу – С-реактивний білок, фібріноген, ліпопротеїни та інші (для виявлення атеросклеротичних процесів та визначення ризиків серцево-судинних захворювань); біомаркери ендотеліальної дисфункції (зміни в ендотеліальній функції можуть бути раннім показником розвитку серцево-судинних захворювань).

На сучасному етапі для діагностики ЦД, оцінки тяжкості й стану компенсації захворювання використовують рутинні показники – рівень глюкози в плазмі натще та 2-годинне значення глюкози в плазмі під час проведення ПТТГ. Проте, ці показники відображають лише поточний стан глікемічного профілю хворого.

Надійним і стабільним методом оцінки тривалого глікемічного контролю в осіб із ЦД є вимірювання рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), оскільки воно дає значення рівня глюкози в крові протягом 90-120 днів.

На сьогодні існують дві основні групи клініко-лабораторних методів визначення вмісту HbA1c: рутинний стандартний метод високоефективної рідинної хроматографії та експрес-методи РОС. Останні доволі зручно використовувати у домашніх умовах, під час відвідування лікаря, що дає змогу лікареві та пацієнту отримати результати негайно та скоригувати лікувальні заходи. Проте, ці тести потребують стандартизації та дослідження їх відповідності результатам, отриманим за допомогою ВЕРХ. Робота Іванни ШТАЙФ присвячена аналізу літературних даних щодо порівняльного аналізу значень HbA1C, отриманих за допомогою ВЕРХ, і методами РОС.

Теоретичний рівень роботи. В ході виконання кваліфікаційної роботи Іванна ШТАЙФ показала високий рівень теоретичних знань предмета та області обраного напрямку досліджень. Для кваліфікаційної роботи Іванна ШТАЙФ обрала доступні адекватні методи, що дає можливість проаналізувати та порівняти динаміку показників HbA1C, отриманих за допомогою ВЕРХ, і методами РОС. Огляд сучасних досліджень, вибір теми роботи, методів її виконання і формулювання висновків з проведеного дослідження свідчить про високий теоретичний рівень представленої кваліфікаційної роботи.

Пропозиції автора з теми дослідження. Автором було проведено теоретичне узагальнення існуючих літературних даних щодо етіології, патогенезу, клінічних проявів ЦД та сучасних лабораторних методів глікемічного контролю та діагностики імунopatологічного стану при захворюванні.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Основними аспектами практичної цінності роботи є теоретичне обґрунтування можливості і доцільності використання експрес-методів для моніторингу глікемічного профілю хворих на ЦД. Отримані дані доводять, що значення HbA1C, отримані за допомогою HPLC, і експрес-методів мають високу тотожність, за умови якщо HbA1C у пацієнтів зберігається на рівні <14%. При рівні HbA1C <14% контроль глікемії за допомогою

НБА1С слід проводити у лабораторіях з використанням рутинних стандартних методів ВЕРХ.

Результати дослідження можуть бути використані у навчальному процесі кафедр медико-біологічного профілю і лабораторної діагностики та у науковому процесі ННПФ НФаУ.

Недоліки роботи. Суттєвих зауважень до змісту та оформлення кваліфікаційної роботи немає. В роботі зустрічаються поодинокі стилістичні та орфографічні помилки. Проте, вказані зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Загальний висновок і оцінка роботи. Кваліфікаційна робота Іванни ШТАЙФ на тему: «Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунopatології захворювання» виконана згідно з вимогами «Положення про порядок підготовки та захисту випускних кваліфікаційних робіт у Національному фармацевтичному університеті». Вона містить усі необхідні розділи і достатня за обсягом. Актуальність роботи, її теоретичний рівень, якість виконання обраних методичних підходів, практична цінність висновків та їх обґрунтованість дозволяє допустити роботу до захисту.

Рецензент

доцент закладу вищої освіти

кафедри нормальної та

патологічної фізіології,

к.біол.н., доцент

«15» грудня 2023 р

Валентіна ЧІКІТКІНА

ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 11
засідання кафедри мікробіології, вірусології та імунології
від 20.12.23

м. Харків

« 20 » грудня 2023 р

Засідання проводилось з використанням ZOOM технологій з 12 год 00 хв по 12 год 50 хв.
 Чисельний склад кафедри: 6 штатних науково педагогічних працівників,

ПРИСУТНІ: зав. каф., проф. Філімонова Н.І., доц. Гейдеріх О.Г., доц. Дубініна Н.В., доц. Тіщенко І.Ю., доц. Шаповалова О.В., доц. Кошова І.Ю.

СЛУХАЛИ: Про представлення до захисту в Екзаменаційній комісії кваліфікаційної роботи на тему: **«Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунопатології захворювання»** магістрантки спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування другого курсу 2024 року випуску Іванни ШТАЙФ

(прізвище, ім'я, по-батькові)

Науковий керівник: доцент ЗВО кафедри мікробіології, вірусології та імунології, к. фарм н., доцент **Олена КОШОВА**

Рецензент: доцент ЗВО кафедри нормальної та патологічної фізіології, к. біол. н., доцент **Валентина ЧІКІТКІНА**

В обговоренні кваліфікаційної роботи брали участь:

проф. Філімонова Н.І., доц. Тіщенко І.Ю., доц. Гейдеріх О.Г., доц. Шаповалова О.В., доц. Дубініна Н.В., доц. Кошова О.Ю.

ПОСТАНОВИЛИ: Рекомендувати до захисту в Екзаменаційній комісії кваліфікаційну роботу магістрантки 2 курсу Іванни ШТАЙФ
 (прізвище, ім'я, по-батькові)

на тему: **«Клініко-лабораторна діагностика цукрового діабету: біомаркери глікемічного контролю та імунопатології захворювання»**

Голова _____

Наталія ФІЛІМОНОВА

Секретар _____

Олена КОШОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувач вищої освіти Іванна ШТАЙФ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 224 Технології медичної діагностики та лікування освітньою програмою Лабораторна діагностика на тему: «ДИНАМІКА БІОМАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Ольга НАБОКА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Іванна ШТАЙФ продемонструвала гарне знання досліджувані тематики, здатність самостійно поставити наукову мету та вирішувати наукові завдання, використовуючи різні методи дослідження. За обсягом та науковим рівнем кваліфікаційна робота відповідає вимогам

Керівник кваліфікаційної роботи _____

Олена КОШОВА

“09” грудня 2023 року

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Іванна ШТАЙФ допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
мікробіології, вірусології
та імунології _____

Наталія ФІЛІМОНОВА

Протокол №11 від 20.12.2023 р.

Кваліфікаційну роботу захищено у Екзаменаційній комісії

« ____ » _____ 2024 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії, доктор медичних наук, професор

_____ / Ірина РИЖЕНКО /