

Винахід стосується медицини, а саме фармакології, патофізіології, ендокринології і може бути використаним для контролю ефективності фармакотерапії цукрового діабету.

Існують декілька методів визначення тяжкості перебігу та ефективності фармакотерапії при цукровому діабеті. При цьому захворюванні рівень глікемії не завжди відображає ступінь уражень тканин та інсулінодефіциту. Визначення ж рівня глікозильованого гемоглобіну відображає коливання глікемії, який був на протязі тижня, а визначення рівня С пептиду є довгим та складним.

Відомий спосіб оцінки ефективності фармакотерапії хворих на цукровий діабет, який полягає у визначенні рівня глюкози в крові та інсуліну в сироватці крові і в еритроцитах (Сандуляк Л.І. Свойство эритроцитов депонировать и транспортировать инсулин. // Успехи совр. биологии. 1987. -Вып.2, Т.3. -С.207-216.).

Спільною суттєвою ознакою аналога і винаходу, що заявляється, є визначення рівня глюкози в крові і інсуліну в сироватці крові та інсуліну в еритроцитах.

Цей спосіб є недостатньо інформативним, тому що він не відображає дійсний вміст інсуліну в еритроцитах бо його визначення проводилось ad oculus по кількості глибок інсуліну та підрахуванням кількості еритроцитів, які включають інсулін, що не є точним й носить суб'єктивний характер визначення й не відображає ступінь змін в еритроцитах та вміст і концентрацію в них інсуліну, а саме вплив на розвиток мікро і макроангіопатій та інш.

Найбільш близьким за технічною сутністю та результатами, що досягається є спосіб, який полягає у визначенні вмісту глюкози в крові, інсуліну в сироватці крові та внутрішньоеритроцитарного вмісту інсуліну лабораторних тварин з цукровим діабетом І типу (Халаим Е.А. Цитохимическое и радиоиммунное исследование закономерностей депонирования инсулина эритроцитами: Автореф. дис. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук. Кишинев: Гос. ун-т, 1985. 16с.).

Спільними суттєвими ознаками прототипу і винаходу, що заявляється є такі:

- визначення глюкози в крові,
- визначення інсуліну в сироватці крові,
- визначення внутрішньоеритроцитарного вмісту інсуліну.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що на рівень імунореактивного інсуліну в сироватці крові впливає активно протікаючі процеси імунітету, що не відображає дійсну концентрацію його в крові при цукровому діабеті, а визначення інсуліну в еритроцитах проводилось в ручному режимі по підрахуванню кількості глибок в клітинах, що також не відображає його дійсного вмісту.

В основу винаходу поставлено задачу удосконалення способу оцінки ефективності фармакотерапії цукрового діабету І типу в експерименті шляхом введення додаткових етапів дослідження, що забезпечить підвищення достовірності оцінки тяжкості стану та ефективності лікування цукрового діабету.

Поставлена задача вирішується тим, що в спосіб, який включає визначення глюкози в крові, інсуліну в сироватці крові та внутрішньоеритроцитарного вмісту інсуліну в експерименті новим є те, що вводять холецистокініну октапептид (26-33) інтраперітонеально, або інтрацеребровентрикулярно, або ж шляхом кон'юнктивальних інстиляцій, тваринам додатково визначають вміст інсуліну в еритроцитах та їх морфометричні показники (площа, периметр, діаметр, коефіцієнт форми) в автоматичному режимі, та при зміні показників до норми вважають лікування ефективним.

Прийчинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому.

Визначають рівень глюкози глюкозоксидазним методом в крові, інсуліну в сироватці крові радіоімунним методом, цитохімічно в еритроцитах, а також проводять визначення основних морфометричних параметрів нативних еритроцитів в мазках (площу, периметр, діаметр, коефіцієнт форми) в автоматичному режимі за допомогою цифрової системи аналізу зображення у здорових тварин, тварин з цукровим діабетом. Як відомо, рівень глюкози в крові не відображає морфологічні зміни органів при тяжкому перебігу діабету та при декомпенсації стану, а рівень імунореактивного інсуліну в сироватці крові при цукровому діабеті значно нижче дійсного із-за активно протікаючих процесів аутоімунітету (антитіла виробляються як до  $\beta$ -клітин та їх органел, так і до інсуліну безпосередньо). Тому визначення внутрішньо еритроцитарного інсуліну, який корелює з рівнем інсуліну в сироватці, в автоматичному режимі дозволяє визначити його концентрацію і вміст об'єктивно. Крім того, еритроцити змінюють свою форму та розміри в залежності від впливу на них різних речовин, а також в залежності від стану організму. Так, нами встановлені чіткі зміни в розмірах еритроцитів в процесі розвитку цукрового діабету у тварин в сторону збільшення протягом перших трьох тижнів і зменшення їх морфометричних параметрів на протязі 5 тижнів його розвитку, що було зроблено вперше. При введенні нейропептиду кишкової групи - холецистокініну октапептиду (26-33), який, як ми визначили за літературними даними, активно впливає на інсулінопродукцію  $\beta$ -клітинами, нами встановлено покращання стану тварин, підвищення рівня інсуліну в сироватці крові, в еритроцитах, та зменшення рівня глюкози в крові і морфометричних параметрів еритроцитів до норми.

Наш спосіб оцінки стану тварин технічно легко виконується, дає малі розбіжності в результатах досліджень і малу помилку, дозволяє чітко визначити стан тварин та ефективність фармакотерапії при цукровому діабеті.

Спосіб здійснюють таким чином.

Після моделювання стрептозотоцінового цукрового діабету протягом 3-х тижнів щурам лінії Вістар на протязі 10 днів вводять холецистокініна октапептид інтраперітонеально, або інтрацеребровентрикулярно, або шляхом кон'юнктивальних інстиляцій. Визначають рівень глюкози та інсуліну в крові, морфометричні показники еритроцитів та вміст і концентрацію в них інсуліну до моделювання діабету, перед введенням пептиду та після 10-ти денного його введення різними шляхами. При зміні показників до норми оцінюють лікування як ефективне.

Приклад

Щур за №3, до індукції діабету мав рівень глюкози в крові 4,2ммоль/л, інсуліну в сироватці крові 133,4пмоль/л. Було проведено вивчення морфометричних параметрів його еритроцитів за способом який пропонується в мазках крові, а саме площі нативних еритроцитів, яка складала  $35,44 \pm 0,08 \mu\text{м}^2$ , їх периметр був  $22,20 \pm 0,05 \mu\text{м}$ , середній діаметр -  $6,69 \pm 0,02 \mu\text{м}$  і коефіцієнт форми  $0,962 \pm 0,001$ . Вміст інсуліну в еритроцитах був

2,66±0,08УО, а його концентрація складала 0,484±0,009. Після розвитку стрептозотоціндукованого діабету протягом 3-х тижнів у щура показники змінювались. Так рівень глюкози в крові зріс до 20,55ммоль/л, інсуліну зменшився до 73,7пмоль/л, площа еритроцитів зросла до 36,60±0,07мкм<sup>2</sup>, периметр до 22,58±0,02мкм, середній діаметр складав 6,82±0,01мкм, коефіцієнт форми - 0,963±0,002. Кількість інсуліну в еритроцитах зменшилось до 2,35±0,03УО, а концентрація до 0,470±0,006. З цього моменту на протязі 10 днів кожен день почали кон'юнктивальні інстиляції холецистокініна октапептиду по 0,4мкг/кг на обидва ока. Після 10-ти введень пептиду вимірювали рівні глюкози (16,15мкм/л), інсуліну (69,6пмоль/л), морфометричні параметри еритроцитів: площа їх була 34,99±0,09мкм<sup>2</sup>, периметр - 22,09±0,03мкм, середній діаметр - 6,66±0,01мкм, коефіцієнт форми - 0,967±0,005. В той же час у щурів контрольної групи продовжувалось зростання рівня глюкози, зменшення інсуліну в сироватці крові і в еритроцитах, а також морфометричних параметрів нижче показників інтактних тварин.

Таким чином, лікування за результатами отриманих даних вважали ефективним.