



УКРАЇНА

(19) UA (11) 14222 (13) U
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

1

2

(21) u200509354

(22) 04.10.2005

(24) 15.05.2006

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

(72) Третяк Ірина Василівна, Амброскіна Вікторія
Валентинівна, Крячок Тетяна Анатоліївна, Талаєва
Тетяна Володимирівна, Ларіонов Олександр
Петрович(73) ІНСТИТУТ КАРДІОЛОГІЇ ІМ. АКАД.
М.Д.СТРАЖЕСКА АМН УКРАЇНИ(57) Спосіб експериментального моделювання
інсулінорезистентності, що включає введення

тваринам речовини-ініціатора процесу розвитку
інсулінорезистентності, який **відрізняється** тим,
що як речовину-ініціатор процесу розвитку
інсулінорезистентності застосовують пірогенал,
який вводять за схемою: для ініціації процесу
внутрішньовенно по 3-4МПД (мінімальні пірогенні
دوزи) на 1кг ваги тварини 3 рази на тиждень
протягом першого тижня, для підтримки процесу
внутрішньовенно по 3-4МПД на 1кг ваги тварини
один раз на тиждень протягом всього періоду
моделювання.

Корисна модель стосується медицини, а саме
моделювання патологічних процесів, і може бути
використаний для дослідження патогенетичних
механізмів розвитку інсулінорезистентності та
вивчення шляхів корекції порушень чутливості
організму до дії інсуліну.

Відомо декілька напрямків
експериментального відтворення
інсулінорезистентності. Так, з цією метою
використовують генетично модифікованих мишей -
лінії з гіперекспресією апобілка A-II [Castellani
L.W., Goto A.M., Lusis A.J. Studies With
Apolipoprotein A-II Transgenic mice indicate a role
for HDLs in adiposity and insuline resistance //
Diabetes.- 2001.-Vol.50.-P. 643-651], або з
дефіцитом транслокази жирних кислот CD36
[Goudriaan J.R., Dahlmans V.E.H., Teusink B. Et al.
CD36 deficiency increases insulin sensitivity in
muscle, but induces insulin resistance in the liver in
mice //J. Lipid Res., Aug. 2003 in press].

Недоліком таких способів є вибірковий
характер порушень чутливості до інсуліну - так, в
першій названій моделі розвивається
інсулінорезистентність скелетних м'язів, але не
печінки і жирової тканини; в другій моделі,
навпаки, інсулінорезистентність печінки, але не
скелетних м'язів. Тобто, відтворюється лише один
окремий шлях розвитку селективної
інсулінорезистентності, який не дуже часто
зустрічається в природних умовах. Крім того,
створення генетично модифікованої лінії тварин є
досить трудомістким та дорогим процесом.

Ще один напрямок моделювання

інсулінорезистентності - використання методів,
пов'язаних з хронічним введенням тваринам
надлишкових доз глюкози або інсуліну
[Midaoui A. E., Champlain J. Effects of glucose and
insuline on development of oxidative stress and
hypertension in animal models of type 1 and type 2
diabetes// Hyperten-sion.-2005.-Vol.23, N 3.-P.
581-588].

Однак за допомогою методик такого типу
також моделюється лише один шлях формування
інсулінорезистентності - внаслідок первинного
порушення вуглеводного обміну. Крім того,
введення надлишкових доз глюкози потребує
постійного контролю рівня глюкози з метою
запобігання розвитку гіперглікемічної коми у
тварин. Загалом, методи цього напрямку
нефізіологічні - їх аналоги досить рідко
зустрічаються в природі, а тому застосування
даних методик не дає змоги встановити природні
причинно-наслідкові зв'язки між патогенетичними
механізмами, які відповідають за розвиток
інсулінорезистентності.

Найбільш близьким до запропонованого нами
способу є спосіб моделювання метаболічного
синдрому Х шляхом підшкірного введення високих
терапевтичних доз інсуліну спонтанно
гіпертензивним пацієнтам, які утримуються в
умовах гіподинамії на високохолестериновій дієті,
збагаченій насиченими жирними кислотами
протягом 14 днів [див. заявку на винахід Росії
№98112534/14, МПК А61 К31/20, 31/56 А61 Р43/00,
Кивва В.Н.; Заявл.30.06.1998. Опубл.20.05.2000
БІПМ №14].

(13) U
(11) 14222
(19) UA

Недоліками даного способу є потреба у спеціально виведеній лінії тварин - спонтанно гіпертензивних пацюках, що призводить до значного подорожчання експерименту. Крім того, процес, змодельований з залученням стількох факторів впливу - введення інсуліну, гіподинамія, високохолестеринова та високожирова дієти, досить трудомісткий, складний та не є природнім, що значно знижує інформативність та достовірність даних, отриманих при його дослідженні.

В основу корисної моделі покладено завдання створення способу експериментального моделювання інсулінорезистентності на лабораторних тваринах, в якому шляхом застосування нової речовини та режимів її використання підвищується інформативність та достовірність результатів досліджень, отриманих з застосуванням цього способу внаслідок наблизення процесу інсулінорезистентності до її природних механізмів та значно спрощується сам процес моделювання.

Поставлене завдання вирішується тим, що у способі експериментального моделювання інсулінорезистентності тваринам вводять речовину - ініціатор процесу розвитку інсулінорезистентності.

Новим в способі є те, що, в якості речовини - ініціатора процесу розвитку інсулінорезистентності застосовують пірогенал, який вводять за схемою: для ініціації процесу внутрішньовенне по 3-4МПД (мінімальні пірогенні дози) на 1кг ваги тварини 3 рази на тиждень протягом першого тижня та для підтримки процесу внутрішньовенне по 3-4МПД на 1кг ваги тварини один раз на тиждень протягом всього періоду моделювання.

Пірогенал є ліпополісахаридом, який виділений з клітин *Salmonella typhi*. Внутрішньовенне його введення викликає активацію запальних клітин крові і розвиток системної внутрішньосудинної запальної реакції, яка суттєво впливає на чутливість тканин організму до дії інсуліну, про що свідчать дослідження останніх років [Quilley J. Insuline resistance, oxidative stress and aspirin: therapeutic implications? // J. Hypertens. -2002,-Vol. 20, N 7.- P. 1279-1281].

Внаслідок застосування нових ознак способу з'являється можливість спростити процес моделювання інсулінорезистентності, в експериментальних умовах наблизити його відтворення до природних механізмів, завдяки цьому підвищити інформативність даних, отриманих з застосуванням заявленого способу, на основі отриманих даних розробити методи впливу на патогенетичні механізми інсулінорезистентності та проконтролювати ефективність лікувального втручання.

Запропонований спосіб ілюструється прикладом.

Відтворення інсулінорезистентності з застосуванням способу, що заявляється, було проведене на 10 дорослих кролях породи "шиншила" вагою 3-3,5кг. Піддослідним тваринам пірогенал вводили внутрішньовенне за схемою: 3-4МПД пірогеналу на 1кг ваги тварини 3 рази на

тиждень протягом першого тижня, далі 3-4МПД пірогеналу 1 раз на тиждень протягом семи тижнів моделювання інсулінорезистентності.

Для контролю за розвитком процесу визначали чутливість до інсуліну за допомогою інсулінової проби, яка виконувалась наступним чином. З краю вени вуха кроля брали кров, визначали рівень глюкози в плазмі цієї крові, далі кролю вводили підшкірно інсулін (препарат Актрапід) з розрахунку 0,1ОД на кг ваги, і визначали рівень глюкози в плазмі крові через 60 і 120 хвилин після ін'єкції [див. БМЗ.-1978.-изд. 3-е.- т.9.-С.264-265]. Зниження рівня глюкози в плазмі крові через 60 хв. після ін'єкції інсуліну не менше ніж на 50% свідчило про високий рівень чутливості до інсуліну. Дослідження глюкози проводились на полуавтоматичному біохімічному аналізаторі "Cormay Plus" з використанням реактивів фірми "Cormay" згідно з наказом №290 МОЗ СРСР від 11.04.72 "Об унификации клинических лабораторных методов исследований".

Визначення чутливості до інсуліну було проведене двічі: перший раз до початку здійснення впливу на тварин за допомогою пірогеналу, другий раз - через вісім тижнів введення пірогеналу за зазначеною вище схемою.

Результати представлені в таблиці 1 та таблиці 2.

Як видно з таблиць, до початку введення пірогеналу у піддослідних тварин чутливість до інсуліну були високою, про що свідчить достовірне зменшення рівня глюкози у плазмі крові через 60 хвилин після підшкірної ін'єкції інсуліну в середньому по групі на 55% (P <0,001).

У кролів, які протягом 8 тижнів отримували пірогенал згідно зазначеної вище схеми, спостерігався розвиток інсулінорезистентності, про що свідчить суттєве зниження чутливості до підшкірного введення інсуліну - через 60 хвилин після підшкірної ін'єкції інсуліну рівень глюкози в плазмі зменшився в середньому по групі на 17%, що в три рази менше, ніж до експериментального втручання.

Отримані дані свідчать про те, що введення пірогеналу запропонованим способом приводить до розвитку інсулінорезистентності у піддослідних тварин.

Список літератури.

1. Castellani L.W., Goto A.M., Lusis A.J. Studies With Apolipoprotein A-II Transgenic mice indicate a role for HDLs in adiposity and insuline resistance // Diabetes.- 2001.-Vol.50.-P. 643-651.

2. Goudriaan J.R., Dahlmans V.E.H., Teusink B. Et al. CD36 deficiency increases insulin sensitivity in muscle, but induces insulin resistance in the liver in mice //J. Lipid Res., Aug.2003 in press

3. Midaoui A.E., Champlain J. Effects of glucose and insuline on development of oxidative stress and hipertension in animal models of type 1 and type 2 diabetes// Hypertension.-2005.-Vol.23, N 3.-P. 581-588

4. А.С. №98112534/14, МПКА61 К31/20 А61 Р43/00 Кивва В.Н.; Заявл. 30.06.98. Опубл. 20.05.00., БИПМ № 14 Способ моделирования метаболического синдрома X

5. Quilley J. Insuline resistance, oxidative stress

Таблиця 1

Рівень глюкози (в ммоль/л) в пробах плазми крові тварин
до експериментального втручання

| № П/п | Початковий рівень глюкози | Через 60хв після введення інсуліну | Через 120хв після введення інсуліну | % змін рівня глюкози через 60хв |
|------------------|------------------------------|---------------------------------------|--|------------------------------------|
| 1 | 8,10 | 3,95 | 8,37 | 51% |
| 2 | 7,25 | 2,65 | 4,33 | 63% |
| 3 | 7,11 | 3,54 | 5,83 | 50% |
| 4 | 6,99 | 2,71 | 4,51 | 61% |
| 5 | 7,57 | 3,43 | 6,21 | 55% |
| 6 | 7,62 | 3,74 | 5,57 | 51% |
| 7 | 6,62 | 3,23 | 4,85 | 51% |
| 8 | 7,73 | 3,51 | 6,28 | 54% |
| 9 | 5,99 | 2,72 | 4,89 | 54% |
| 10 | 8,43 | 3,59 | 3,94 | 57% |
| Середні значення | 7,34 | 3,31 | 5,48 | 55% |

Таблиця 2

Рівень глюкози (в ммоль/л) в пробах плазми крові тварин
через 8 тижнів введення пірогеналу

| № П/п | Початковий рівень глюкози | Через 60хв після введення інсуліну | Через 120хв після введення інсуліну | % змін рівня глюкози через 60хв |
|------------------|------------------------------|---------------------------------------|--|------------------------------------|
| 1 | 9,39 | 8,24 | 9,41 | 12% |
| 2 | 8,59 | 6,06 | 8,61 | 29% |
| 3 | 8,39 | 6,49 | 7,83 | 23% |
| 4 | 7,26 | 5,91 | 7,13 | 19% |
| 5 | 7,54 | 6,59 | 7,88 | 13% |
| 6 | 9,49 | 7,14 | 8,02 | 25% |
| 7 | 7,86 | 6,99 | 8,81 | 11% |
| 8 | 11,1 | 8,68 | 9,78 | 22% |
| 9 | 8,09 | 7,26 | 12,65 | 10% |
| 10 | 7,21 | 7,02 | 9,94 | 3% |
| Середні значення | 8,49 | 7,04 | 9,01 | 17% |