



УКРАЇНА

(19) UA (11) 18577 (13) U  
(51) МПК (2006)  
A61B 5/145

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ В ТЕСТІ З ГЕПАРИНОМ

1

2

(21) u200605148

(22) 10.05.2006

(24) 15.11.2006

(46) 15.11.2006, Бюл. №11, 2006р.

(72) Соколик Вікторія Василівна, Божко Генріх Хрисанфович, Чурсіна Валентина Сергіївна, Перцева Тетяна Григорівна

(73) ІНСТИТУТ НЕВРОЛОГІЇ, ПСИХІАТРІЇ ТА НАРКОЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб діагностики інсулінорезистентності шляхом аналізу показників вуглеводного і ліпідного обмінів, який відрізняється тим, що порівнюють напрямок змін вищезазначених показників до і після 15хв. експозиції гепарину in vivo.

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до медичинської біохімії і ендокринології, та може бути застосований для діагностики інсулінорезистентної патології.

Інсулінорезистентний стан хворих з цукровим діабетом 2 типу характеризують формальними індексами, що ґрунтуються на співвідношенні вмісту інсуліну і глюкози натщесерце та після навантаження глюкозою: індекс Caro, індекси HOMA-IR і HOMA-S, індекс QUICKI, індекси ISI і Bennett-Si, тощо. Найбільш поширені особливості ліпідного обміну цієї патології об'єднує так звана «ліпідна триада»: гіпертригліцеридемія, гіпоальфаліпопротеїнемія і поява дрібних щільних часток у фракції ліпопротеїнів низької щільності (ЛНЩ).

Найближчим аналогом корисної моделі є спосіб виявлення порушень вуглеводного і ліпідного обмінів, що притаманний інсулінорезистентній патології [Соколик В.В., Перцева Т.Г., Божко Г.Х. Усиление липолиза и истощение гепарина при развитии дислипидемии в условиях инсулинорезистентности // Пробл. эндокринологии, 2005, Т.51, №5, С.18-22], який діагностуються при збільшенні глюкози та інсуліну у сироватці крові натщесерце; підвищенні вмісту тригліцеридів, зниження фракції ліпопротеїнів високої щільності (ЛВЩ) та зсув піку ЛНЩ у зону дрібних щільних часток [Божко Г.Х., Соколик В.В., Чурсіна В.С., Перцева Т.Г. Обмен липопротеинов у больных сахарным диабетом второго типа // Укр. біохім. журнал, 2005, Т.77, №5, С.93-99].

Серед недоліків даного способу діагностики наявності або ступеню вираженості інсулінорезистентного стану звертає на себе увагу низька чутливість методу, що спирається на вищезгадані показники сироватки крові. Інсулінорезистентність констатується лише тоді, коли порушення захо-

дять так далеко, що ми маємо справу не лише з гіперінсулінемією і резистентністю до інсуліну, а вже й з гіперглікемією. З іншого боку, у спектрі ліпопротеїнів сироватки крові хворих на інсулінорезистентну патологію не завжди виявляється зниження вмісту ЛВЩ та наявність фракції модифікованих ЛНЩ.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалення способу діагностики інсулінорезистентності шляхом вимірювання не лише абсолютних величин вмісту інсуліну, глюкози, індексів інсулінорезистентності та ліпопротеїнового спектру сироватки крові, а визначення напрямку змін всіх цих показників за умов 15хв. впливу гепарину, що забезпечить виявлення схильності до розвитку інсулінорезистентної патології і лікування її на початкових етапах формування.

Суть корисної моделі полягає в тому, що 15хв. експозиція екзогенного гепарину in vivo демаскує гіперінсулінемію і інсулінорезистентний стан, які не виявляються за показниками безгепаринової сироватки крові. До того ж, гепариновий тест дає змогу виявити пік дрібних щільних часток ЛНЩ у тих інсулінорезистентних хворих, в яких у ліпопротеїновому спектрі догепаринової сироватки крові він відсутній. Як можливий механізм зазначених змін апоВ-вмісних ліпопротеїнів при гепаринізації обговорюється солюбілізує дія цього протеоглікану на модифіковані частки ЛНЩ, що частково експоновані на ендотелії судин у хворих з інсулінорезистентною патологією.

Даний спосіб діагностики інсулінорезистентної патології дає змогу виявляти інсулінорезистентність порушення вуглеводного і ліпідного обмінів на початкових етапах захворювання, коли вони ще не виявляються стандартними засобами діагностики у клініці.

(19) UA (11) 18577 (13) U

Спосіб здійснюється таким чином.

Одержують догепаринову сироватку (через 15хв. після введення 50ОД екзогенного гепарину на кг ваги *in vivo*) шляхом 20хв. центрифугування крові при 3тис.об./хв. У догепариновій і післягепариновій сироватках крові вимірюють вміст глюкози і інсуліну уніфікованими методами з використанням стандартних наборів реактивів (наприклад «Глюкоза-Ф» Delisit (глюкозооксидазний метод) і ріо-ИНС-ПГ-<sup>125</sup>І Беларусь (радіоімунологічний метод)) з подальшим вирахуванням індексів інсулінорезистентності ISI, HOMA-IR, HOMA-S за відомими формулами:  $ISI = 10000 / (I_0 \times G_0)$ ;  $HOMA-IR = (I_0 \times G_0) / 22,5$ ;  $HOMA-S = (20 \times I_0) / (G_0 - 3,5)$ , де  $I_0$  і  $G_0$  - вміст інсуліну і глюкози у сироватці крові натщесерце.

Порушення ліпідного обміну оцінюють за наявністю модифікованих часток ЛНЩ у спектрі ліпопротеїнів методом електрофорезу в ПААГ. Фракції ліпопротеїнів характеризують довжиною електрофоретичного шляху відповідного піку (зокрема ЛНЩ) в мм на денситограмах, які одержують після сканування електрофореграм на денситометрі (ERI-65m, «Karl Zeiss», Германия). Інтенсивність внутрішньосудинного ліполізу реєструють за пока-

зниками загальної ліпопротеїналізаційної активності, яку визначають за методом R.Deckelbaum і виражають в наномолях неетерифікованих жирних кислот, що вивільнилися з тригліцеридів за 1сек. інкубації у 1л сироватки крові: нмоль/(с·л). Вміст неетерифікованих жирних кислот визначають спектрофотометрично в кольоровій реакції з діфенілкарбазидом.

Далі формують базу даних з показників вуглеводного і ліпідного обмінів для групи здорових добровольців (нормативний стандарт) і порівнюють з нею показники пацієнтів з артеріальною гіпертензією або цукровим діабетом 2 типу. Важливо звернути увагу на протилежний напрямок змін цих показників під впливом гепарину при інсулінорезистентній патології, порівняно з нормативним стандартом.

Приклад. Обстежували 3 групи осіб: контроль (13 здорових добровольців), пацієнти з артеріальною гіпертензією (16 осіб) і хворі на цукровий діабет 2 типу (20 осіб). Показники догепаринової і післягепаринової сироватки крові згруповані у таблиці.

Таблиця

Показник	контроль		артеріальна гіпертензія		цукровий діабет 2 тип <sup>А</sup>	
	до гепарину	після гепарину	до гепарину	після гепарину	до гепарину	після гепарину
інсулін <sup>1</sup>	11,4±1,2	8,1±0,6*	11,9±0,4	15,5±1,0*	12,6±1,3	17,211,2*
Глюкоза <sup>2</sup>	5,1±0,4	5,1±0,3	5,0±0,8	4,9±0,5	9,9±0,7 <sup>#</sup>	9,610,8 <sup>#</sup>
ISI	17,4±1,5	24,4±2,0*	16,9±1,4	12,911,1* <sup>#</sup>	7,9±0,8 <sup>#</sup>	6,0±0,3* <sup>#</sup>
HOMA-IR	2,6±0,2	1,8±0,2*	2,6±0,3	3,4±0,3* <sup>#</sup>	5,6±0,5 <sup>#</sup>	7,4±0,6* <sup>#</sup>
HOMA-S	144,6±12	101,5±9*	149,0±13	209±19* <sup>#</sup>	38,8±4,4 <sup>#</sup>	56,4±5,1* <sup>#</sup>

Примітка. <sup>1</sup> - концентрація інсуліну наведена в мОД/л; <sup>2</sup> - вміст глюкози в ммоль/л; \* - зміни статистично значимі між відповідними величинами до і після гепарину; <sup>#</sup> - зміни статистично значимі порівняно з відповідними значеннями у контрольній групі.

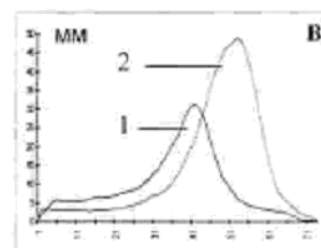
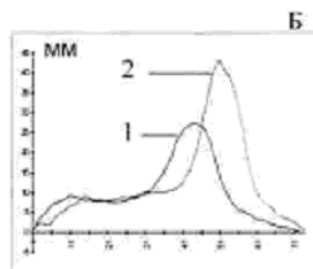
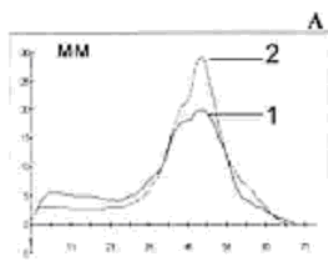
Необхідно наголосити, що в групі пацієнтів з артеріальною гіпертензією показники вуглеводного обміну в догепариновій сироватці крові статистично не відрізняються від нормативного стандарту, що узагальнює група контролю. Лише тест з гепарином дає змогу викрити наявність інсулінорезистентності з огляду на напрямок змін цих показників у післягепариновій сироватці крові (див. Таблицю). Отже, напрямок змін показників вуглеводного обміну під впливом гепарину при інсулінорезистентній патології сонаправлений (групи осіб з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом 2 типу) і протилежний напрямку змін у здорових добровольців.

У дослідженні з'ясувалося, що загальна ліполітична активність під впливом екзогенного гепарину збільшувалась до максимального рівня (17,7-21,3нмоль/(с·л)), однакового для усіх трьох досліджених груп. Але, оскільки початковий рівень загальної ліпопротеїналізаційної активності в догепаринових сироватках крові інсулінорезистентних хворих майже втричі перебільшував нормативний стандарт, то виявлялось пригнічення реактивності

ферментної системи внутрішньосудинного ліполізу завдяки її постійного перенапруження.

У ліпопротеїновому спектрі догепаринової сироватки крові інсулінорезистентних хворих пік дрібних щільних часток ЛНЩ, характерний для даної патології, виявлявся не завжди. 15 хвилинна експозиція екзогенного гепарину *in vivo* призводила до появи піку модифікованих ЛНЩ у спектрі ліпопротеїнів пацієнтів з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом 2 типу (див. рис.). Ми припускаємо, що за такий недовгий проміжок часу (15хв.) утворитися стільки модифікованих часток ЛНЩ не встигло. Імовірно, що гепарин вивільнив до кровообігу вже давно сформовані і навіть модифіковані частки ЛНЩ, що осіли на ендотелію судин.

Даний чутливий гепариновий тест дав змогу встановити наявність інсулінорезистентного стану у 16 пацієнтів з артеріальною гіпертензією, хоча за показниками вуглеводного і ліпідного обмінів в догепариновій сироватці крові (стандартне біохімічне обстеження) він не виявлявся, та у 20 хворих на цукровий діабет 2 типу, у яких тест з гепарином підтвердив існуючий діагноз - інсулінорезистентна патологія.



Мал.