



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **106428**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/68 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 10583**

(22) Дата подання заявки: **30.10.2015**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.04.2016**

(46) Публікація відомостей **25.04.2016, Бюл.№ 8**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

Алтуніна Наталія Валеріївна (UA)

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ,
бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЦИНКУ В КРОВІ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2-ГО ТИПУ, ЩО ПЕРЕНЕСЛИ ІНФАРКТ МІОКАРДА

(57) Реферат:

Спосіб визначення вмісту цинку в крові хворих на цукровий діабет 2-го типу, що перенесли інфаркт міокарда, що включає дослідження крові. Додатково визначають рівень цинку в сироватці венозної крові методом атомно-абсорбційної спектроскопії, концентрацію С-реактивного білка методом турбідиметрії, рівні прозапальних цитокінів ІЛ-6 та ФНП-α імуноферментним методом, одержані результати порівнюють з контролем і при зміні показників визначають вміст цинку в крові хворих на цукровий діабет 2-го типу, що перенесли інфаркт міокарда.

UA 106428 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до терапії, і може використовуватись для покращення результатів лікування.

Цинк - важливий та незамінний для життєдіяльності людини мікроелемент, який за поширеністю в організмі серед металів поступається лише залізу. На відміну від заліза, срібла та міді, він не має окисдантних властивостей, що покращує його надходження та засвоєння клітинами. Цинк є структурним компонентом біологічних мембран, клітинних рецепторів, протеїнів, входить до складу понад 200 ензиматичних систем, є незамінним для більш як 300 різних клітинних процесів, включаючи синтез ДНК та білків, активність ферментів та міжклітинну взаємодію [7]. Зважаючи на прогнозований ріст захворюваності на цукровий діабет [3] та високу розповсюдженість і смертність від серцево-судинної патології [2], цікавим є факт, що дефіцит цинку в теперішній час розглядається як потенційний фактор ризику розвитку цих станів [4].

Катіони цинку приймають активну участь в метаболізмі інсуліну, вони необхідні для формування осматично стабільних гексамерів гормону в гранулах β -клітин [5], регулюють взаємодію інсуліну з транспортними білками крові [1], проявляють антиоксидантну дію, також здатні частково блокувати гени, що кодують прозапальні цитокіни, такі як ІЛ-6 та ІЛ-8 [12]. Відповідно, зміна концентрації цинку може бути однією з причин порушення біологічної функції і транспорту інсуліну до чутливих клітин, порушення оксидантного захисту та збільшення активності маркерів судинного запалення, що є основою виникнення і прогресування не лише цукрового діабету 2 - типу, а й ішемічної хвороби серця.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб оцінки впливу периндоприлу в комплексній терапії хворих ішемією хворобою серця (8), який виступає як прототип. Однак цей спосіб має недоліки - він має низьку інформативність, потребує тривалого виконання та незручний при виконанні.

В основу корисної моделі поставлена задача розробці способу, який передбачає вивчення концентрації цинку у крові хворих на цукровий діабет 2-го типу, що перенесли інфаркт міокарда в порівнянні з такими ж пацієнтами без інфаркту в анамнезі та з недіабетичними постінфарктними хворими, що вказує на більш активну участь цинку у порушенні процесів вуглеводного обміну.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає дослідження крові, згідно корисної моделі, додатково визначають рівень цинку в сироватці венозної крові методом атомно-абсорбційної спектроскопії, концентрацію С-реактивного білка методом турбідиметрії, рівні прозапальних цитокінів ІЛ-6 та ФНП- α імуноферментним методом, одержані результати порівнюють з контролем і при зміні показників визначають вміст цинку в крові хворих на цукровий діабет 2-го типу, що перенесли інфаркт міокарда.

Обстежено 73 хворих (44 чоловіки та 29 жінок, середній вік хворих $-62,69 \pm 0,91$ р.), з яких 26 - пацієнти з цукровим діабетом 2-го типу, які перенесли інфаркт міокарда (основна група), 23 хворих з перенесеним інфарктом міокарда без супутнього цукрового діабету (I група порівняння) та 24 пацієнти з цукровим діабетом 2-го типу без інфаркту міокарда в анамнезі (II група порівняння). На момент обстеження пацієнти отримували медикаментозну терапію згідно із сучасними рекомендаціями щодо лікування цукрового діабету та ішемічної хвороби серця.

Всім хворим, включеним в дослідження, проводили визначення рівня цинку в сироватці венозної крові методом атомно-абсорбційної спектроскопії на атомно-абсорбційному спектрометрі NOVA 300 (AnalytikJena, Німеччина). Концентрацію С-реактивного білка у сироватці крові визначали методом турбідиметрії, підрахунок лейкоцитів проводили в автоматичному гемоаналізаторі. Рівні прозапальних цитокінів ІЛ-6 та ФНП- α вимірювали у сироватці крові імуноферментним методом із використанням наборів реагентів виробництва "Вектор-Бест". Забір крові у пацієнтів здійснювався натщесерце (останній прийом їжі >10 годин до забору крові).

Нормативні значення концентрації цинку в крові отримані при обстеженні 20 практично здорових осіб, зіставних за віком та статтю (11 чоловіків та 9 жінок, середній вік хворих $-59,07 \pm 1,39$ р.), що склали контрольну групу.

Результати досліджень оброблені за допомогою методів варіаційної статистики. Достовірність відмінностей при порівнянні середніх значень визначали за допомогою t-критерію Стюдента (p) з поправкою Бонфероні. Значення досліджуваних показників представлені у вигляді $M \pm m$, де M - середня арифметична величина, m - стандартна помилка. Для виявлення кореляційних залежностей застосували лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона (r).

При аналізі отриманих даних в основній групі хворих порівняно з контрольною групою практично здорових осіб виявлено достовірне зменшення концентрації цинку крові ($p < 0,001$) у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, що перенесли інфаркт міокарда. При цьому, рівень цинку у цих хворих виявився достовірно нижчим в порівнянні з постінфарктними хворими без

цукрового діабету ($p < 0,05$), а порівняно з пацієнтами з цукровим діабетом 2-го типу без інфаркту міокарда в анамнезі не мав достовірних відмінностей.

При співставленні отриманих результатів в групах порівняння виявлено достовірне зниження концентрації цинку крові порівняно з особами контрольної групи як у хворих з постінфарктним кардіосклерозом без цукрового діабету ($p < 0,05$), так і у діабетичних пацієнтів без інфаркту міокарда в анамнезі ($p < 0,001$).

Порівнюючи дані пацієнтів з I та II груп порівняння, виявлено тенденцію до зниження концентрації цинку у діабетичних хворих ($p < 0,2$).

Отже, отримані в дослідженні дані свідчать про зниження рівня цинку в усіх досліджуваних групах хворих порівняно з контрольною групою практично здорових осіб. При цьому, більш суттєве зниження цинку спостерігається у діабетичних пацієнтів.

Існуюча на сьогодні достатньо велика експериментальна база даних [10, 11] щодо ролі іонів цинку в регуляції вуглеводного обміну, підтверджує важливість цього катіону для діабетичних хворих, а його нестача може бути патофізіологічною основою як розвитку, так і прогресування та формування ускладнень цукрового. Так, в 24-річному обсерваційному проспективному дослідженні було встановлено, що у здорових осіб, які мають недостатнє надходження з їжею іонізованого цинку збільшується ризик захворюваності на цукровий діабет 2-го типу. В іншому восьмирічному обсерваційному дослідженні встановлено, що знижений рівень цинку є незалежним фактором розвитку смерті від ішемічної хвороби серця та фатального і не фатального інфаркту у хворих на цукрового діабету 2-го типу.

Доведеною є роль цинку у антиоксидантному захисті, блокуванні прозапальних цитокінів. Якщо зважити на те, що атеросклероз утворюється та прогресує завдяки запальним та оксидативним процесам, то дефіцит цинку може прискорювати його формування та розвиток [6, 9] незалежно від наявності порушень вуглеводного обміну. Так, у нашому дослідженні зниження вмісту цинку крові було виявлено не лише у діабетичних хворих, але й в групі постінфарктних пацієнтів без цукрового діабету, що знаходить підтвердження і в інших роботах [4]. У хворих без цукрового діабету низький вміст цинку також асоціюється зі збільшенням випадків кардіоваскулярної смертності. Серед населення Північної Індії, де поширені ішемічна хвороба серця, цукровий діабет та порушення толерантності до глюкози велика, кількість мешканців вживає їжу, збіднену цинком, а збільшення в харчовому раціоні цинку асоціюється зі зниженням кардіоваскулярної смертності у недіабетичних хворих. Отже, концентрація цинку може бути одним з прогностичних маркерів серцево-судинної смертності.

Враховуючи існуючі літературні дані щодо впливу цинку на запальний процес, для встановлення можливих взаємозв'язків концентрацій цинку та маркерів запалення (лейкоцити, С-реактивний білок, ІЛ-6, ФНП- α) у обстежених хворих був проведений кореляційний аналіз. Встановлено зворотній кореляційний зв'язок між рівнем С-реактивного білка і цинком ($r = -0,37$, $p < 0,05$) у хворих на цукровий діабет 2-го типу за перенесеним інфарктом міокарда. Також виявлено тенденцію до зворотної залежності між рівнем ІЛ-6 і цинком ($r = -0,32$, $p < 0,1$) та ФНП- α і цинком ($r = -0,33$, $p < 0,1$) у цих пацієнтів. При аналізі в групі постінфарктних недіабетичних хворих виявлено зворотній зв'язок між показниками лейкоцитів ($r = -0,39$, $p < 0,05$) і СРБ ($r = -0,41$, $p < 0,05$) та цинком. Залежність рівня ІЛ-6 від концентрації цинку виявилась недостовірною в цій групі пацієнтів ($r = -0,34$, $p < 0,1$). Дослідження кореляційних взаємозв'язків у діабетиків без інфаркту міокарда в анамнезі дозволило встановити зворотну залежність між показником С-реактивного білка і рівнем цинку ($r = -0,40$, $p < 0,05$) та тенденцію до зв'язку ФНП- α з концентрацією цинку ($r = -0,33$, $p < 0,1$).

Отже, за результатами кореляційного аналізу підтверджена роль цинку у запальних процесах, зокрема тісний взаємозв'язок концентрації цинку з рівнем С-реактивного білка прослідковується в усіх досліджуваних групах хворих. Окрім цього, у постінфарктних пацієнтів без супутнього цукрового діабету цинк впливає на рівень лейкоцитів. Прозапальні цитокіни у обстежених пацієнтів мали лише тенденцію до залежності від цинку.

Таким чином, цинк є мікроелементом, який не лише широко представлений в людському організмі, але й виконує досить багато різноманітних функцій. Дослідження цих функцій ще не завершене, багато механізмів впливу цинку ще не до кінця зрозумілі або невідомі, але накопичені експериментальні та клінічні дослідження дають змогу розглядати цинк як один з ключових катіонів, який може впливати на виникнення та прогресування найбільш значних неепідемічних захворювань сьогодення, таких як цукровий діабет та ішемічної хвороби серця.

Для хворих на цукровий діабет 2-го типу незалежно від наявності в анамнезі інфаркту міокарда характерне зниження концентрації цинку крові.

У пацієнтів з постінфарктним кардіосклерозом без цукрового діабету рівень цинку крові знижений, але вищий, ніж у хворих на цукровий діабет 2-го типу з перенесеним інфарктом міокарда, що вказує на більш активну участь цинку у порушенні процесів вуглеводного обміну.

Встановлено зворотну залежність рівня С-реактивного білка від концентрації цинку в усіх досліджуваних групах хворих, що свідчить про участь цинку і в процесах запалення.

Перспективи подальших досліджень. На сьогодні далеко не всі аспекти біохімічної дії цинку є з'ясованими, мало робіт присвячено терапевтичному застосуванню препаратів цинку при цукровому діабеті 2-го типу та ішемічною хворобою серця, а в деяких дослідженнях результати мають певні протиріччя, що не дозволяє сформулювати однозначне судження відносно місця цинку в терапії цукрового діабету 2-го типу та ішемічної хвороби серця. Отже, всі ці питання мають стати предметом подальших наукових досліджень.

Джерела інформації::

1. Гарипова М.И., Киреева Н.А., Моругова Т.В. [и др.] Аффинное выделение связывающих инсулин сывороточных гликопротеидов человека и изучение их состава в норме и при сахарном диабете первого типа //Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. - 2007. - Т. 3. - № 1. - с. 27-32.
2. Горбась І.М. Епідеміологічна ситуація щодо серцево-судинних захворювань в Україні: 30-річне моніторування //Практична ангіологія - 2010. - № 9. -10 (38). - С. 6-9.
3. Дедов И.И. Сахарный диабет - опаснейший вызов мировому сообществу //Вестник РАМН. - 2012. - № 1. - С. 7-13.
4. Chhabra N., Kukreja S., Chhabra S., Ramessur K. Is zinc deficiency an independent risk factor in the causation of ischemic heart disease? A case control prospective study to estimate serum zinc levels in patients of ischemic heart disease //www.webmedcentral.com on 13-09-2012.
5. Danscher G. The autometallographic zinc-sulphide method. A new approach involving in vivo creation of nanometer-sized zinc sulphide crystal lattices in zinc-enriched synaptic and secretory vesicles //Histochem J. - 1996. - Vol. 28. - P. 361-373.
6. Jurowski K, Szewczyk B, Nowak G, Piekoszewski W. Biological consequences of zinc deficiency in the pathomechanisms of selected diseases //J Biol Inorg Chem. - 2014 Oct. - 19(7). - P. 1069-1079.
7. Kelleher S.L., McCormick N.H., Velasquez V. [et al.] Zinc in Specialized Secretory Tissues: Roles in the Pancreas, Prostate, and Mammary Gland //Adv Nutr. - 2011. - Vol. 2. - P. 101-111.
8. Lee D-H., Folsom A., Jacobs D. Iron, zinc, and alcohol consumption and mortality from cardiovascular diseases: the Iowa Women's Health Study //Clin Nutr. - 2005. - V. 81. - P. 787-791.
9. Little P.J., Bhattacharya R., Moreyra A.E., Korichneva I.L. Zinc and cardiovascular disease //Nutrition. - 2010. - V. 26. - P. 1050-1057.
10. May J.M., Contoreggi C.S. The mechanism of the insulin-like effects of ionic Zinc //The Journal of Biological Chemistry. 1982, Vol. 257, N 8, P. 4362-4368.
11. Moniz T., Amorim M.J., Ferreira R. [et al.] Investigation of the insulin-like properties of Zinc (II) complexes of 3-hydroxy-4-pyridinones: identification of a compound with glucose lowering effect in STZ-induced type I diabetic animals //Journal of Inorganic Biochemistry. - 2011. - N 105. - P. 1675-1682.
12. Prasad S. Zinc: Role in Immunity, Oxidative Stress and Chronic Inflammation //Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care-2009. - Vol. 12, No. 6. - P. 646-652.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення вмісту цинку в крові хворих на цукровий діабет 2-го типу, що перенесли інфаркт міокарда, що включає дослідження крові, який **відрізняється** тим, що додатково визначають рівень цинку в сироватці венозної крові методом атомно-абсорбційної спектрометрії, концентрацію С-реактивного білка методом турбідиметрії, рівні прозапальних цитокінів ІЛ-6 та ФНП-α імуноферментним методом, одержані результати порівнюють з контролем і при зміні показників визначають вміст цинку в крові хворих на цукровий діабет 2-го типу, що перенесли інфаркт міокарда.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601