



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **1018**
(51) **МПК** (2012) **A61K 33/02;**
A61P3/10

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

(21) 1901282

(22) 20190215

(46) 2019, бюл. № 151

(51) Int. Cl (2012) A61K 33/02; A61P3/10

(71) Шарофова М.У. (TJ); Нуралиев Ю.Н. (TJ)

(72) Шарофова М.У. (TJ); Нуралиев Ю.Н. (TJ);

Зубайдова Т.М. (TJ); Ганиев Х.А. (TJ);

Ганиева Н.Р. (TJ)

(73) Шарофова М.У. (TJ); Нуралиев Ю.Н. (TJ)

**(54) СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ
ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НА БЕЛЫХ
КРЫСАХ**

(57) Изобретение относится к области медицины, способов моделирования инсулинорезистентности в экспериментах на лабораторных животных. Оно может быть использовано в экспериментальной фармакологии, эндокринологии, патофизиологии для изучения механизмов развития сахарного диабета 2 типа в динамике, а также отслеживания вовлечения в патологический процесс других метаболических нарушений, для изучения механизмов антидиабетического, метаболизм-корректирующего действия новых лекарственных средств.

Цель изобретения - создание модели предиабета, состояния инсулинорезистентности.

Поставленная цель достигается тем, что для создания модели инсулинорезистентности, в качестве основного средства ежедневно в течение 1-6 месяцев внутривенно с помощью зонда вводят 10% раствор нитрата аммония (NH_4NO_3) из расчёта 100 мг/кг массы 1 раз в сутки и в место питьевой воды дополнительно спаивают 0.5% водный раствор уксусной кислоты, что способствует ускорению развития инсулинорезистентности.

С целью усиления диабетогенного эффекта нитрата аммония опытным животным ежедневно вводили раствор уксусной кислоты, что способствовало снижению реакции инсулин-чувствительных тканей в ответ на воздействие эндогенного инсулина.

Разработка экспериментальной модели инсулинорезистентности позволяет изучить вопросы раннего развития метаболического синдрома, а также раннюю диагностику сахарного диабета 2 типа. Данная экспериментальная модель может лежать в основе разработки фармакологами новых антидиабетических, метаболизм-корректирующих препаратов с целенаправленным терапевтическим действием.

Изобретение относится к области экспериментальной медицины, а именно к способам моделирования инсулинорезистентности на экспериментальных животных. Инсулинорезистентность - это патологическое состояние организма, характеризующееся снижением реакции инсулин-чувствительных тканей на инсулин при его достаточной концентрации в крови. Хроническое течение данного состояния приводит к компенсаторной гиперинсулинемии, сахарному диабету СД 2 типа и развитию ряда сопутствующих заболеваний, патогенез которых связан с метаболическими нарушениями.

Известен способ моделирования СД на половозрелых белых крысах, путём однократного подкожного введения аллоксангидрата, из расчёта 100 мг/кг массы. Механизм диабетогенного действия препаратов аллоксангидрата связан с его губительным воздействием на β -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы и быстрым развитием экспериментального диабета. [1;2].

Однако, этот способ моделирования (СД), не позволяет воспроизвести состояние предиабета, предшествующее (СД) 2 типа, на фоне которого снижается реакция инсулин-чувствительных тканей на эндогенный инсулин, концентрация которого в крови достаточна.

Цель изобретения - создание модели предиабета, состояния инсулинорезистентности.

Поставленная цель достигается тем, что для создания модели инсулинорезистентности, в качестве основного средства ежедневно в течение 1-6 месяцев внутрижелудочно с помощью зонда вводят 10% раствор нитрата аммония (NH_4NO_3) из расчёта 100 мг/кг массы 1 раз в сутки и в место питьевой воды дополнительно спаивают 0.5% водный раствор уксусной кислоты, что способствует ускорению развития инсулинорезистентности.

Необходимость экспериментального развития состояния инсулинорезистентности позволяет:

- изучить динамику развития нарушений толерантности к глюкозе;
- изучить стадии развития скрытых форм дислипидемии;
- разработать эффективные способы ранней диагностики СД 2 типа;

- предупредить развитие метаболических нарушений, состояний и заболеваний, патогенез, которых связан с дисбалансом обмена инсулина;

- разработать методы профилактики и раннего лечения состояния инсулинорезистентности.

Эксперименты проводились на 40 беспородных белых крысах обоего пола со средней массой 160-190 г. Животные были распределены на две группы:

1. Интактные - белые лабораторные крысы, которым в условиях вивария ежедневно в течение 6 месяцев получали дистиллированную воду в качестве питьевой воды.

2. Опытные - животные, которым ежедневно в течение 1-6 месяцев внутрижелудочно вводили 10% нитрат аммония из расчёта 100 мг/кг массы в качестве вспомогательного диабетогенного фактора дополнительно был введен 0.5% водный раствор уксусной кислоты.

Развитие состояния инсулинорезистентности и степень её тяжести определяют:

1. По степени нарушения толерантности к глюкозе, которая определяется через 24 часа после

последнего введения нитрата аммония.

2. По степени тяжести дислипидемии - по повышению уровней атерогенных (холестерина, ЛПОНП, ЛПНП) и понижению уровней антиатерогенных липидов (ЛПВП).

3. По разнице процентного соотношения прироста веса контрольных (интактные) и опытных животных.

Содержание сахара в крови определяют ортотолуидиновым методом. Липиды в сыворотке крови определяют по цветной реакции с сульфофосфонилловым реактивом.

Пример 1. Нарушение толерантности к глюкозе считается общепризнанным показателем инсулинорезистентности [4,5,6]. О развитии и степени выраженности инсулинорезистентности и гиперинсулинемии судят с помощью **перорального глюкозо-толерантного теста (ПГТТ)**. Натощак измеряют исходный уровень глюкозы в крови, затем интактным (контрольным) и опытным крысам с помощью зонда внутрижелудочно вводят раствор глюкозы из расчёта 3 г/кг массы. Уровень сахара крови измеряют через 30, 60 и 120 мин после введения глюкозы перорально (per os).

Уровень сахара крови белых крыс в

опытной серии на 30-й минуте после орального введения глюкозы в среднем был выше на 38,2%, по сравнению с показателями контрольных белых крыс (табл.1). На 60 мин эта разница составляла 35,8%, а на 120 мин 49,9 % по сравнению с контрольной серией, что свидетельствовало о возникающем нарушении со стороны толерантности к глюкозе, непосредственно связанного со снижением реакции инсулин-чувствительных тканей (табл.1).

Таблица 1 Результаты перорального глюкозо-толерантного теста у контрольных и опытных белых крыс. Среднее по 812 случаев в каждой серии

Примечание: (*)- разница между показателями степени гипергликемии опытной и контрольной серии.

Пример 2. Дислипидемия наряду с нарушением толерантности к глюкозе считается одним из основных показателей инсулинорезистентности.

У животных, получавших в условиях хронического эксперимента 10% нитрат аммония и 0,5% раствор уксусной кислоты, определяют прирост массы тела, уровни общего холестерина, липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и уровень липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови.

Как видно из таблицы 2, ежедневное внутрижелудочное введение нитрата аммония и уксусной кислоты в течение 1-6 месяцев вызывает тяжёлую форму дислипидемии в сыворотке крови у опытных животных. Уровень общего холестерина у опытных крыс повышался на 53.6%, ЛПОНП на 134.4%, ЛПНП на 109.2% и напротив, уровень антиатерогенных липопротеидов - ЛПВП уменьшался на 42.2 % по сравнению с контрольной серией.

Таблица 2

Прирост веса и уровень липидов состава крови у белых крыс с хроническим уратозом. Среднее по 12-18 случаев в каждой серии

Примечание: * - разница в процентах между показателями степени дислипидемии или прироста веса опытной и контрольной серий.

Прирост массы тела опытных крыс в среднем был на 114.3% выше, чем у контрольных (интактных) крыс, что свидетельствует о высокой степени накопления жировой ткани и о возникновении под действием 10% нитрата аммония и 0,5% раствор уксусной кислоты, что вызывает абдоминального-висцерального ожирения. Описанные биохимические и патологические изменения аналогичны нарушениям, возникающим у человека, страдающего инсулинорезистентностью [4,5.6].

Таким образом, предлагаемая модель инсулинорезистентности обеспечивает высокую воспроизводимость и повторимость результатов. Высокая распространённость инсулинорезистентности в мировом масштабе, а также отсутствие экспериментально обоснованных методов его профилактики позволяет считать разработку модели инсулинорезистентности приоритетной проблемой современной эндокринологии.

Формула изобретения

Способ моделирования инсулинорезистентности на белых крысах, заключающийся введением возбудителя инсулинорезистентности отличающийся тем, что на протяжении 1-6 месяцев белым крысам

ежедневно 1 раз в день внутрижелудочно с помощью зонда вводят 10% раствор нитрата аммония из расчёта 100 мг/кг массы, в качестве питьевой воды спаивают 0.5% водный раствор уксусной кислоты.

Таблица 1 Результаты перорального глюкозо-толерантного теста у контрольных и опытных белых крыс. Среднее по 812 случаев в каждой серии

Серия опытов и дозы на кг/массы	Прирост гликемии в ммоль/л и % к исходным показателям после внутрижелудочного введения глюкозы (3г/кг массы), через			
	Исходный уровень, принятый за 100%	30 мин	60 мин	120 мин
Интактные (контроль)	4,5±0,02 100%	5,5±0,1 22,2%	7,6±0,06 68,8%	5,7±0,04 26,7%
Опытные, 10% р-р NH ₄ NO ₃ 100мг/кг + 0.5% р-р уксусной кислоты, 6 мес.	4,3±0,04 100%	6,9±0,2 60,5% 38,2*	8,8±0,3 104,6% 35,8	7,6±0,1 76,6% 49,9

Примечание: (*)- разница между показателями степени гипергликемии опытной и контрольной серии.

Таблица 2

Прирост веса и уровень липидов состава крови у белых крыс с хроническим уратозом. Среднее по 12-18 случаев в каждой серии

Показатели	Серия опытов и дозы на кг массы	
	Интактные (контроль) принятый за 100%	Опытные 10% р-р NH ₄ NO ₃ 100 мг/кг + 0.5% раствор уксусной кислоты, 6 мес.
Прирост веса в %	9.8 ± 0.5	21.0 ± 1.3 (114.3%)*
Общий холестерин ммоль/л	2.8 ± 0.03	4.13 ± 0.1 (53.6%)
ЛПОНП ммоль/л	6.1 ± 0.1	14.3 ± 1.1 (134.4%)
ЛПНП ммоль/л	5.4 ± 0.2	11.3 ± 0.5 (109.2%)
ЛПВП ммоль/л	38.6 ± 2.0	22.3 ± 3.0 (42.2%)

Примечание: * - разница в процентах между показателями степени дислипидемии или прироста веса опытной и контрольной серий.