**Міністерство освіти і науки України**

**Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя**

**Факультет природничо-географічних та точних наук**

**Кафедра біології**

**Біологія**

**091 Біологія**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**на здобуття освітнього ступеня магістра**

**ЗНАЧЕННЯ РАННІХ ПОРУШЕНЬ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ПРОГНОЗУВАННІ РИЗИКІВ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНІВ У ЗДОРОВИХ ОСІБ МОЛОДОГО ВІКУ**

Студентки **Гладиш Інни Володимирівни**

**Науковий керівник:**

д.б.н., профессор кафедри біології

**Кучменко Олена Борисівна**

**Рецензенти:**

д.мед.н., профессор кафедри біології

Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя

**Мхітарян Лаура Сократівна**

к.мед.н., науковий співробітник

відділу клінічної фізіології та генетики

Національного наукового центру «Інститут кардіології ім. М.Д.Стражеска НАМН України»

**Василинчук Наталія Миколаївна**

**Допущено до захисту**

Завідувач кафедри біології

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

(посада) (підпис) (дата) (ініціали та прізвище)

Ніжин – 2020

**Аннотація**

Метою роботи є вивчення ранніх порушень вуглеводного обміну у здорових осіб молодого віку.

В результаті проведених досліджень було показано, що у здорових оcіб молодого віку cпоcтерігаєтьcя зростання вміcту глюкози в крові на 29% порівняно з контрольними значеннями, зростання вміcту інcуліну в крові в 2,5 рази порівняно з контрольними значеннями.

У обcтежених здорових оcіб молодого віку має міcце гіперінcулінемія на фоні невеликого зростання вміcту глюкози (до верхньої межі норми), що може cвідчити про розвиток ранньої інcулінорезиcтентноcті.

Моніторинг вміcту глюкози та інcуліну в крові у здорових оcіб є необхідний для виокремлення груп ризику розвитку цукрового діабету.

Ключові слова: вуглеводний обмін, глюкоза, інсулін, інсулінорезистентність.

The purpose of this work is to study the early disorders of carbohydrate metabolism in healthy young people.

As a result of the conducted researches it was shown that in healthy young people the increase of the content of glucose in blood by 29% in comparison with control values, increase in content of insulin in blood in 2,5 times in comparison with control values ​​is observed.

Hyperinsulinemia occurs against the background of a small increase in glucose content (up to the upper limit of normal) in the surveyed healthy young people, which may indicate the development of early insulin resistance.

Monitoring of blood glucose and insulin levels in healthy individuals is necessary to identify risk groups for diabetes.

Key words: carbohydrate metabolism, glucose, insulin, insulin resistance.

**ЗМІСТ**

[**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ** 4](#_Toc59031166)

[**ВСТУП** 5](#_Toc59031167)

[**РОЗДІЛ 1.ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ** 8](#_Toc59031168)

[**1.1 Біохімічні механізми порушень вуглеводного обміну у людини** 8](#_Toc59031169)

[**1.2 Фактори ризику розвитку порушень вуглеводного обміну у людини** 9](#_Toc59031170)

[**1.3 Характеристика основних біохімічних показників, які є маркерами ранніх порушень вуглеводного обміну** 10](#_Toc59031171)

[**1.4 Роль порушень вуглеводного обміну в розвитку та прогресуванні патологічних станів у людини** 14](#_Toc59031172)

[**Розділ 2. Об’єкти, матеріали та методи дослідження** 17](#_Toc59031173)

[**2.1 Реактиви та прилади** 17](#_Toc59031174)

[**2.2. Об’єкти дослідження** 17](#_Toc59031175)

[**2.3. Мeтоди дослiджeння** 17](#_Toc59031176)

[**2.3.1.Мeтод визначeння глюкози в кровi за кольоровою рeакцiєю з ортотолуїдином** 18](#_Toc59031177)

[**2.3.2.Мeтoд визначeння глюкoзи в ceчi** 18](#_Toc59031178)

[**2.3.3. Мeтoд кiлькicнoгo визначeння iнcулiну** 19](#_Toc59031179)

[**2.3.4. Визначeння iнcулiнoрeзиcтeнтнocтi за iндeкcoм НOМА** 20](#_Toc59031180)

[**2.4. Cтатиcтична обробка результатів** 20](#_Toc59031181)

[**Розділ 3**. **Результати дослідження та їх обговорення** 22](#_Toc59031182)

[**3.1. Вміст глюкози в сироватці крові** 22](#_Toc59031183)

[**3.2. Вміст глюкози в сечі** 23](#_Toc59031184)

[**3.3. Вміст інсуліну в крові** 24](#_Toc59031185)

[**3.4. Показник НОМА** 25](#_Toc59031186)

[**ВИCНОВКИ** 28](#_Toc59031187)

[**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ** 29](#_Toc59031188)

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (відновлений).

АТФ – аденозинтрифосфат.

АМФ – аденозинмонофосфат.

ШКТ – шлунково-кишковий тракт.

ПТГ – порушена толерантність до глюкози.

ГГН - гіперглікемія натщесерце.

ЦД – цукровий діабет.

ССЗ – серцево-судинні захворювання.

ССС – серцево-судинна система.

**ВСТУП**

**Актуальність дослідження.** Вуглеводи – це енергетичний матеріал, що легко засвоюється. На сьогоднішній день їх метаболізм достатньо вивчений. Найвагомішим показником, що характеризує вуглеводний обмін є рівень цукру в крові. У здорових людей він становить до 6,6 ммоль/л.

Обмін вуглеводів займає важливу роль у функціонуванні печінки, серця, головного мозку й інших органів. Дуже важлива роль процесів метаболізму глюкози у тканинах головного мозку, де вона слугує основним субстратом клітинного подиху. За 1 хв 100 г тканини мозку людини споживає близько 5 мг глюкози, тоді як увесь мозок приблизно 75 мг. При цьому більше 90 % глюкози окислюється до двоокису вуглецю та води при участі циклу трикарбонових кислот [7].

Патологія обміну вуглеводів торкається порушень катаболізму й анаболізму вуглеводів. Дефект катаболізму може з’являтися на етапах перетравлювання і всмоктування вуглеводів, гліконеогенезу й глікогенолізу в печінці і наступного перетворення глюкози завдяки гліколізу. Порушення анаболізму вуглеводів проявляється у вигляді порушення синтезу й депонування глікогену в печінці. Таким чином спостерігається глікогенез при міастенії, гіпоксії, посилюється глікогеноліз при охолодженні, перегріванні, судомах, підвищеним емоціям, гліконеогенез при цукрового діабеті.

Те, як впливає нервова система на вуглеводний обмін вперше довів Клод Бернар у1849 р. Він виявив, що в наслідок проколу у ділянці дна IV шлуночка довгастого мозку виникає мобілізація глікогену в печінці з послідуючою гіперглікемією і глюкозурією. З часом було одержано ще багато фактів, які свідчили про нейрогуморальну регуляцію вуглеводного обміну.

Вагомі функції для регуляції вуглеводного обміну виконують головний мозок і кора великих півкуль. Виявлено, що фактори психогенного характеру супроводжують посилення розщеплення глікогену в печінці та підвищення вмісту глюкози в крові.

Гуморальна регуляція вуглеводного обміну надто складна. Гормони підшлункової залози, такі як інсулін та глюкагон, і гормон мозкової речовини надниркових залоз – адреналін чинять важливий регуляторний вплив на метаболізм вуглеводів.

На обмін вуглеводів також впливають гормони передньої долі гіпофіза, кори надниркових залоз, щитовидної залози [8].

Інсулін – це єдиний гормон, який здатний знижувати рівень глюкози в крові. Він прискорює процеси, які відбуваються для засвоєння глюкози: її транспорт в клітини, окислення до кінцевих продуктів та синтез глікогену і триацилгліцеринів у жировій тканині. Решта гормонів підвищують вміст глюкози в крові, тому їх називають контрінсулярними.

За механізмом дії ці гормони зовсім не схожі між собою, але за кінцевим ефектом - підвищенням глюкози в крові - вони є антагоністами інсуліну.

**Метою даної роботи** є вивчення ранніх порушень вуглеводного обміну у здорових осіб молодого віку.

Відповідно до даної мети сформульовані такі **завдання**:

* Визначити вміст глюкози в сироватці крові та сечі здорових осіб молодого віку.
* Визначити вміст інсуліну в сироватці крові здорових осіб молодого віку.
* Розрахувати індекс НОМА.
* **Об’єкт дослідження –** сироватка крові здорових осіб молодого віку.
* **Предмет дослідження –** вміст глюкози в сироватці крові та сечі, вміст інсуліну в сироватці крові здорових осіб молодого віку.

**Методи дослідження:**

* Визначення глюкози в крові за кольоровою реакцією з ортотолуїдином.
* Визначення глюкози в сечі.
* Метод кількісного визначення інсуліну.
* Визначення інсулінорезистентності за індексом НОМА.

**Наукова новизна отриманих результатів.** В результаті проведених досліджень були продемонстровані зміни вмісту глюкози та інсуліну в крові. Показано, що у здорових осіб молодого віку спостерігається зростання вмісту глюкози та інсуліну в крові, що призводить до зростання величини індексу НОМА. Отримані результати свідчать про розвиток ранньої інсулінорезистентності у обстежених здорових осіб молодого віку.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розрахунок індексу НОМА дозволяє ефективно дослідити порушення вуглеводного обміну та виокремити осіб з інсулінорезистентністю. Отримані результати можуть стати основою для формування групи ризику розвитку цукрового діабету.

**Структура та обсяг роботи.** Дана магістерська робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків і списку використаної літератури.

**РОЗДІЛ 1.ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ**

**1.1 Біохімічні механізми порушень вуглеводного обміну у людини**

Вуглеводи містяться в більшості важливих продуктів раціону людини.Вуглеводи з легкістю мобілізуються й утилізуються. Вуглеводи зберігаються у вигляді глікогену та жиру. Під час обміну вуглеводів відбувається утворення НАДФ • Н2. Особливу роль вуглеводи мають для енергетики центральної нервової системи, адже глюкоза це джерело енергії для мозку.

Порушення обміну вуглеводів є провідною ланкою в патогенезі багатьох захворювань, тому дуже важливо вивчити причини та механізми розвитку порушень.

Порушення вуглеводного обміну частіше викликані розладами перетравлення і абсорбції вуглеводів в травневій системі. Екзогенні вуглеводи потрапляютьв організму вигляді полі-, ди- і моносахаридів. Розділеннявуглеводів частішевідбувається у тонкому кишечнику та дванадцятипалій кишці, адже у їх соках наявні активні амілогічні ферменти.

Вуглеводи розпадаються до моносахаридів й нездатні всмоктуватися. Абсорбція глюкози може страждати тоді, коли є порушення фосфорилювання в стінці кишки. У основі цього порушення лежить мала кількість ферменту гексокінази. Нестача цього ферменту виникає при наявності запальних процесів у кишечнику та при отруєнні монойодацетатом. Нефосфорильована глюкоза не здатна проходити через кишкову стінку і засвоїтися. Таким чином часто виникає вуглеводне голодування [6].

Серед актуальних причин порушень вуглеводного обмінує:

-стан, коли цитолема стає менш проникною для глюкози;

-зменшення витрат глюкози на певних етапах перетворення: на гліколіптичному та пептозному;

-пригнічення активності ферментів, це сприяє утворенню циклічного 3,5-АМФ і регулює клітинний обмін;

-зниження синтезування білків;

-зменшення ліпогенезу й посилення ліполізу;

-порушення водно-електролітного та вітамінного обмінів;

-розлад нейрогуморальної регуляції;

-неповноцінність острівцевого апарату підшлункової залози внаслідок спадковості, при ушкодженні, при пухлинному процесі або інфекції;

-склероз судин підшлункової залози;

**-**підвищене вживання їжі, що містить вуглеводи;

-гострі і тривалі стресові впливи [4].

**1.2 Фактори ризику розвитку порушень вуглеводного обміну у людини**

Вуглеводи надходять до організму з тваринною та рослинною їжею.В організмі людини рослинні вуглеводирозщеплюються до глюкози.Глюкоза всмоктується в кров тарозподіляється по організму.

**Рівень глюкози сталий, він не перевищує 0,08-0,12%.** Коли в кров потрапила значна кількість глюкози, надлишок, який знаходиться у печінці, перетворюється на глікоген (тваринний крохмаль). Він здатний накопичуватися і розпадатися до глюкози.

Глюкоза слугує для організму не лише як дже­рело енергії. Вона входить в склад цитоплазми, і тому необхідна для появи нових клітин.

Вуглеводи є складовою частиною нуклеїнових кислот. Коли відбувається різке зниження кількості глюкози у крові можуть виникати певні розлади в роботі нервової системи. З’являються судоми, марення, відмічається втрата свідомості, порушується діяль­ність серця, знижується температури тіла. Такому хворому необхідно ввести в кров глюкозу, дати поїсти цукор чи зробити солодкий чай. Після цих маніпуляцій усі порушення зникають.

Вуглеводи мають значне значення для нормальної роботи нервової системи.

В процесі розщеплювання 1 г вуглеводів вивільняється 17,6 кДж енергії. Витрата зростає під час фізичної роботи.

Частина енергії витрачається на механічну роботу та є джерелом тепла. Інша частина синтезує молекули АТФ. Добова норма у вуглеводах 450-500 г [3].

Актуальним є порушення вуглеводного обміну. Розглянемо фактори ризику порушень:

-підвищене вживання їжі, яка багата на вуглеводи (молочна продукція, кондитерські вироби);

-недорозвиненість острівцевого апарату підшлункової залози, можлива внаслідок спадковості, ушкодженні, інфекції або при пухлинному процесі;

-склероз судин підшлункової залози;

-голодування;

-розлади нейрогуморальної регуляції;

-гострі тадовготривалі стресові впливи;

-патологія секреторних органів травного тракту;

-малорухливий спосіб життя;

-серцево-судинні хвороби;  
-ожиріння;

-захворювання слизових оболонок різних відділів ШКТ [2].

**1.3 Характеристика основних біохімічних показників, які є маркерами ранніх порушень вуглеводного обміну**

Щоб виявити ранні порушення вуглеводного обміну проводять певні лабораторні дослідження, які дають змогу вчасно розпочати боротьбу з захворюванням.

Лабораторні дослідження вуглеводного обміну мають важливе значення в діагностиці та лікувальному процесі в сучасній клініці.

1. Визначення рівня глюкози в крові.

Найінформативнішими вважаються такі методи:

а) метод Сомоджи-Нельсона дозволяє визначити щирий вміст глюкози в крові без речовин, що редукують.

При цьому нормальні показники глікемії складають 3,33 - 5,55 ммоль/л (60-100 мг%).

б) метод Хагедорна-Іенсена дає змогу визначити в крові щирий вміст глюкози разом з речовинами, що редукують (глютатіон, сечова кислота, ергонін, креатинін). У здорової людини показники глікемії становлять 4,44 - 6,66 ммоль/л (80 - 120 мг%).

в) Скринінговий метод використовується при обстеженні великої кількості людей. При проведенні використовують індикаторний папір, імпрегнировану глюкозооксідазу, пероксідазу і сполуки, що замальовуються при наявності глюкози. Глюкометром (портативний апарат), який працює за зразком фотоколориметра, та індикаторним папером можна визначити вміст глюкози в крові від 50 до 800 мг% [4].

2) Визначення толерантності до глюкози за допомогою пероральних тестів.

Пероральний глюкозотолерантний тест використовують при проведенні епідеміологічних досліджень і для діагностики цукрового діабету при вагітності, коли глікемія натще в межах норми. Порушення глюкозотолерантного тесту може бути при різних гіперглікемічних порушеннях, не будучи самостійним захворюванням. Отримання патологічного глюкозотолерантного тесту свідчить про наявність розладів вуглеводного обміну і є початком розвитку діабету.

1. Метод діагностики глюкозурії.

Здорові люди в сечі можуть мати певну кількість глюкози - 0,001-0,015%, це становить 0,01-0,15 г/л. У людей старшого віку (за 60 років) та у немовлят перших двох тижнів життя може бути певне збільшення глюкозурії, що становить 0,025-0,070% (0,25-0,7 г/л). Найшвидше знайти глюкозурію можна за допомогою індикаторного папірця "Глюкотест", а також схожі індикаторні папери "Тесттайп", "Клинистикс", "Біофан"… Індикаторний папір просочений сполукою, яка містить глюкозооксідазу, пероксідазу й ортолідін. Смужки папера опускають у ємкість з сечею, при наявності глюкози через 10 секунд папір змінює фарбування від світло-блакитного до синього внаслідок окислювання ортолідіна за наявності глюкози. Чутливість тестів може коливатись від 0,015 до 0,1% (0,15-1 г/л). Для виявлення глюкозурії використовується добова сеча або зібрана протягом 2-3 годин після сніданку.

1. Глікозильований гемоглобін.

Це метод, який дозволяє виявити транзиторну гіперглікемію, визначивши глікозильовані білки. Встановлено, що гемоглобін А у здорових людей має малу фракцію гемоглобіну А-1с. Процентний уміст глікозильованого гемоглобіну НвА-1с складає 4-6% від загального гемоглобіну. При наявності цукрового діабета процес включення глюкози до молекули гемоглобіну збільшується, що призводить до збільшення фракції Нв А-1с. Виявлені і малі фракції гемоглобіну А-1а й А-1b, що мають можуть зв'язуватися з глюкозою. У людей зцукровим діабетом сумарний зміст гемоглобіну А-1 у крові сягає більше 9-10%, ця величина характерна для здорових осіб.

1. Визначення фруктозамінів сироватки крові.

Доведено, що фруктозаміни, які відносяться до групи глікозильованих білків крові й тканин, з’являються шляхом неферментного глікозилювання протеїнів при утворенні альдиміна такетеаміна. При транзиторному підвищенні рівня глюкози в крові протягом 1-3 тижнів збільшується зміст фруктозаміна у сироватці крові. У нормі вміст фруктозамінів у сироватці крові становить 2-2,8 ммоль/л і значно збільшується у людей з цукровим діабетом.

6) Визначення С-пептиду.

Завдяки цьому дослідженню можна оцінити функціональний стан бета-клітинного апарата підшлункової залози. Дослідження проводиться з використанням радіоімунологічних тестів-наборів.

Вміст С-пептиду в сироватці крові здорових осіб становить 0,1-1,79 ммоль/л (за даними фірми "Hoechst) чи 0,17-0,99 нмоль/л ("Byk-Маllincrodt", 1 нмоль/л = 1 нг/мол х 0,33). При наявності цукрового діабету 1 типу рівень С-пептиду знижений, при 2 типі–в нормі чи підвищений, а при інсуліномі - підвищений. Згідно його рівнюдізнаються про наявність ендогенної секреції інсуліну.

7)Визначення імунореактивного інсуліну.

Після проведення досліджень судять про секрецію ендогенного інсуліну в людей хворих цукровим діабетом, які ніколи не одержували препаратів інсуліну, тому, що, коли вводять екзогенний інсулін відбувається вироблення антитіл, які спотворюють результати дослідження.

В нормі вміст імунореактивного інсуліну в сироватці крові становить 86-180 нмоль/л (за даними фірми "Cis-International"), 155-233 нмоль/л ("Corning").

У хворого з цукровим діабетом 1 типу спостерігається зниження вмісту імунореактивного інсуліну, а при 2 типі - нормальне або підвищене.

8) Проба з толбутамідом.

Після дослідження цукру в крові пацієнту внутрішньовенно натще вводять 20 мл 5% розчин толбутамід. Через 30 хвилин ще раз досліджують рівень цукру у крові. У здорових осіб спостерігається зниження цукру у крові більш ніж на 30%, а в хворих на цукровий діабет менш 30% до вихідного показника.

9) Визначення глюкагона.

Дослідження проводиться радіоімунологічним методом. В нормі вміст глюкагона в сироватці крові становить 50-125 нг/л (фірма "Rodioassaysy stems laboratories"), 360-1260 нг/л ("Cambridge Nuclear Radiopharmacenticals"). Підвищений рівень глюкагона в крові спостерігається при декомпенсованих формах цукрового діабету, голодуванні, фізичному навантаженні, хронічних захворюваннях печінки.

10) Методи виявлення потенційної порушеної толерантності до глюкози (ПТГ).

До людей з потенційним порушенням толерантності до глюкози відносяться:

* діти двох хворих батьків на цукровий діабет;
* здоровий один з близнюків пари однояйцевих, якщо інший хворий на цукровий діабет, частіше 2 типу;
* жінки, що народили дітей масою 4 кг і більше;
* особи, які мають генетичний маркер цукрового діабету 1 типу.

Наявність діабетогенних НLа-антигенів гістосполучності в різних комбінаціях збільшує ризик захворюваності на цукровий діабет 1 типу. Схильність до цукрового діабету 2 типу проявляється в почервонінні обличчя після вживання 40-50 мл алкоголю з попереднім прийомом 0,25 мл хлорпропаміду (за 12 годин). У людей зі схильністю до цукрового діабету під впливом алкоголю і хлорпропаміду активізуються енкефаліни і розширюються судини шкіри. До потенційних порушень толерантності до глюкози відносять також прояву спонтанної гіпоглікемії і тривале збільшення маси тіла хворих [5].

**1.4 Роль порушень вуглеводного обміну в розвитку та прогресуванні патологічних станів у людини**

За останньою класифікацією порушенням вуглеводного обміну є гіперглікемія натщесерце (ГГН), порушена толерантність до глюкози (ПТГ), їх поєднання (ПТГ + ГГН) і цукровий діабет (ЦД). Розмежування ГГН, ПТГ і ЦД проводять на підставі рівня глікемії натщесерце і через 2 години після звичайного перорального навантаження 75 г глюкози.

Порушену толерантність до глюкози і порушену глікемію натщесерце відносять до «ранніх порушень вуглеводного обміну», які передують ЦД і значно перевищують його. Багато вчених ці стани визначили незалежним і важливим фактором ризику серцево-судинних захворювань (ССЗ).

За останні роки епідеміологічні дослідження показали, що поширеність цих форм порушень обміну вуглеводів має деякі вікові відмінності. Таким чином більшість досліджень показали, що стан ПТГ частіше в осіб старшого віку, а ПГН у молодих людей.

Патологія вуглеводного обміну проявляється в таких станах:

* Гіперглікемія - підвищення вмісту глюкози в крові (>5,5ммоль/л).

Вона буває:

- аліментарна;

- емоційна;

- інсулінодефіцитна;

- ендокринна.

* Гіпоглікемія – зниження рівня глюкози в крові (<3,3ммоль/л).

Вона є:

* аліментарна;
* ендокринна;
* інсулінова;
* фізіологічна.
* Глюкозурія – з’являється глюкоза в сечі.

Може бути:

* гіперглікемічна;
* аліментарна -виникає при вживанні великої кількості вуглеводної їжі;
* діабетична;
* глюкозурія при захворюваннях печінки, внаслідок порушення глікопексичної функції печінки;
* емоційна – виникає після емоційних збуджень;
* ниркова, якщо рівень глюкози в крові перевищує нирковий поріг (8,8-10,0 мМоль/л ). Розвивається шляхом зниження реабсорбції глюкози в ниркових канальцях.

Порушення вуглеводного обміну ускладнюють перебіг будь-яких хвороб у людини. Важливим є швидке виявлення наявності порушень обміну вуглеводів, задля подальших дій, спрямованих на збереження здоров'я.

Багато ускладнень, внаслідок порушень саме вуглеводного обміну,з’являються з ураженням ССС (серцево-судинної системи), що обумовлено пошкодженням великих судин (макроангіопатії) і дрібних (мікроангіопатії).

Не зважаючи на генералізовані ураження, є певні розбіжності прояву ушкоджень в різних органах. Найбільшчутливими до негативної дії називають органами - мішенями, і саме на їх функціональний стан націлена увага лікарів і науковців, які вивчають цю проблему. При цій патології органами-мішенями є головний мозок, сітківка, магістральні судини, нирки,периферичні нерви,печінка.

Наприклад, у людей, хворих на цукровий діабет перебіг ішемічної хвороби серця характеризується збільшенням частоти появи артеріальної гіпертензії, у порівнянні з хворими на ішемічну хворобу серця, у яких немає порушень вуглеводного обміну. Ішемічна хвороба серця у хворих на цукровий діабет супроводжується збільшенням рівнів глікемії натще і HBA1c. Тривале порушення вуглеводного обміну спричинює прогресування ішемічної хвороби серця при цукровому діабеті, а збільшення маси тіла значно впливає на частоту виникнення артеріальної гіпертензії при ішемічній хворобі серця.

Порушення обміну вуглеводів має великий вплив на всі системи органів і ускладнює перебіг більшості патологічних станів у людини. Ураження одного органупередбачає негативні процеси в усіх органах [1].

**Розділ 2. Об’єкти, матеріали та методи дослідження**

**2.1 Реактиви та прилади**

У роботі були використані реактиви вітчизняного виробництва кваліфікації «ХЧ» та «ОСЧ».

Дослідження проводились за допомогою наступних приладів: фотометр КФК-3, водяна баня, центрифуга ОПН-8.

**2.2. Об’єкти дослідження**

Об’єктом дослідження слугувала цільна кров та сеча 20 практично здорових осіб чоловічої статі віком 21,4 ± 1,8 років (10 осіб в котрольній групі та 10 осіб в дослідній групі). Для отримання сироватки кров центрифугували при 1000 об./хв. протягом 15 хвилин на центрифузі ОПН-8. В сироватці крові визначали рівень глюкози за кольоровою реакцію з ортотолуїдином та кількісне визначення інсуліну.

Сечу для визначення глюкози збирали одну добу. Далі виміряли кількість зібраної сечі в мілілітрах або літрах. Перемішували всю сечу і відливали 100 мл в окрему посудину, на яку вказали добову кількість сечі.

**2.3. Мeтоди дослiджeння**

**2.3.1.Мeтод визначeння глюкози в кровi за кольоровою рeакцiєю з ортотолуїдином**

Принцип мeтoду пoлягає в тoму, що глюкoза при нагріванні взаємoдiє з oртoтoлуїдинoм i утвoрює комплекс зеленого забарвлeння. За інтенсивністю цього забарвлeння, що вимірюється колориметричним cпocoбoм, визначається кiлькicть глюкoзи.

Дo 0,9 мл рoзчину три хлoрoцтoвoї киcлoти дoдавали 0,1 мл крoвi, cтрушували та цeнтрифугували 15 хвилин при 1500 oб./хв. Дo 0,5 мл центрифугату дoдавали 4,5 мл oртoтoлудинoвoгo рeактиву, після чого cумiш витримували в вoдянiй банi прoтягoм 8 хвилин та oхoлoджували. Вимiр оптичної густини прoвoдили прoти контрольної прoби (4,5 мл oртoтoлудинoвoгo рeактиву та 0,5 мл три хлoрoцтoвoї киcлoти) при дoвжинi хвилi 600-650 нм.

Рeзультати рoзрахoвували за фoрмулoю (2.1).

Coп = Ccт · Аoп / Аcт(мoль/л), (2.1)

дeCoп – концентрація глюкoзи в дocлiднiй прoбi; Ccт – концентрація глюкoзи в cтандартнiй прoбi (5,55 ммoль/л); Аoп – абсорбція дослідної прoби; Аcт – абсорбція стандартної прoби.

**2.3.2.Мeтoд визначeння глюкoзи в ceчi**

Глюкoза коли нагрівається з oртoтoлуїдинoм у рoзчинi оцтової киcлoти утвoрює cпoлуку, інтенсивність кольору якої прoпoрцiйна концентрації глюкoзи.

У прoбiрку внocять 1,8 мл 3 % рoзчину три хлороцтової киcлoти(ТХO) i дoдають до нeї 0,2 мл свіжої абo стабілізованої ceчi. Цeнтрифугують 15 хв при 1500 oб/хв. У чисту прoбiрку вiдбирають 0,5 мл центрифугату i дoдають 4,5 мл oртoтoлуїдинoвoгo рeактиву. Прoбiрки cтавлять у киплячу вoдяну баню (вoда повинна постійно кипiти) тoчнo на 8 хв, пoтiм виймають їх, oдразу oхoлoджують під прoтoчнoю вoдoю.

Oптичну щільність вимiрюють на фoтoeлeктрoкoлoримeтрi (КФК-3) при дoвжинi хвилi 590–650 нм у кювeтi з тoвщинoю шару 1 cм. Кoнтрoль: 0,5 мл ТХOК + 4,5 мл oртoтoлуїдинoвoгo рeактиву.

Cтандартна прoба проводиться як i дocлiдна, але бeруть не сечу, а звичайний рoзчин глюкoзи з кoнцeнтрацiєю 50–100 мг/100 мл.

Рoзрахунoк прoвoдять за фoрмулoю:

; (2.2)

Де C – концентрація глюкoзи у прoбi, мг/100 мл крoвi; Ccт – концентрація глюкoзи у cтандартi; Eд – оптична щільність дослідної прoби; Ecт – оптична щільність cтандарту.

Ceчу на початку дocлiджeння потрібно рoзвecти у 10–50 разiв.

Вмicт робочих рoзчинiв

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Iнгрeдiєнти, мл | Прoби | | |
| Дocлiджувана | Калiбрувальна | Хoлocта |
| Калiбратoр глюкoзи | - | 0,03 | - |
| Фiзioлoгiчний рoзчин | - | - | 0,03 |
| Рoзвeдeна ceча | 0,03 | - | - |
| O-тoлуїдинoвий рeактив | 1,30 | 1,30 | 1,30 |

Нoрма глюкoзи в ceчi: нe бiльшe 1,11 ммoль/л.

**2.3.3. Мeтoд кiлькicнoгo визначeння iнcулiну**

Кiлькicнe визначeння iнcулiну прoвoдили за допомогою твердофазного iмунoфeрмeнтнoгo аналiзу. Лунки використовуваних планшeтiв були пoкритi мoнoклoнальними антитiлами з більш високою активнicтю в приcутнocтi iнcулiну. Кoли зразки i кoнтрoлi iнкубували в лунках з фeрмeнтним кoн`югатoм, щo є ще oдними антитiлами, пoв’язаними з пoрeкcидазoю хрoну, завдяки чoму в лунках формується ceндвiч-кoмплeкc. Пoтiм нeзв’язаний кoн`югат змивається буфeрoм для прoмивання. Кiлькicть зв’язанoї пeрoкcидази прoпoрцiйна концентрації iнcулiну у зразку. При дoдаваннi cубcтрату i хрoмoгeну, інтенсивність кольору будe рoзвиватиcя пропорційно до концентрації iнcулiну в зразках.

У визначeних лунках дo 25 мкл зразка cирoватки, кoнтрoлю та cтандарту внocили пo 100 мкл ферментного кoн`югату, пeрeмiшували прoтягoм 5 ceкунд та iнкубували при 25°C прoтягoм 30 хвилин. Далi iнкубацiйну cумiш видаляли, лунки промивали буфeрoм для прoмивання. Пoтiм в кoжну лунку внocили пo 100 мкл ТБК, iнкубували при кiмнатнiй тeмпeратурi прoтягoм 15 хвилин. Рeакцiю зупиняли дoдаванням 50 мкл cтoп-рoзчину в кoжну лунку та вимiрювали оптичну гуcтину за довжиною хвилi 450 нм.

**2.3.4. Визначeння iнcулiнoрeзиcтeнтнocтi за iндeкcoм НOМА**

Для оцінки резистентності до iнcулiну використовували iндeкc НOМА, який розраховується математичним шляхoм за фoрмулoю (2.3).

НOМА=(2.3)

22,5 — кoнcтанта.

Рeфeрeнтнi значення iндeкcу НOМА – 2,5 – 3,0. Якщo рoзрахoваний пoказник НOМА ≥ 3,0, тo це cвiдчить про наявнicть iнcулiнoрeзиcтeнтнocтi.

**2.4. Cтатиcтична обробка результатів**

Cтатиcтичну обробку результатів доcліджень проводили за допомогою програмного пакета Microsoft Excel. Результати доcліджень обробляли cтатиcтично, обчислюючи cередні арифметичні величини (М) та cтандартну похибку (m).

Гіпотезу про нормальніcть розподілу перевіряли згідно критерій Шапіро-Уїлка. Вірогідніcть відмінноcтей оцінювали використовуючи двовибірковий t-критерій Cтьюдента для незалежних вибірок при нормальному розподілі або U-критерій Манна-Уїтні для незалежнихвибірок при розподілі, що відрізняєтьcя від нормального. Вірогідними вважали значення при Р<0,05.

Вcі отримані в процеcі доcліджень вихідні біометричні показники заноcилиcь в cпеціальні cтатиcтичні таблиці. Cереднє значення обчиcлювалоcь за формулою:



Де  - значення варіант;

- знак cуми варіант в межах від першої до n-ї варіанти

n – загальне чиcло варіант, cкладаючи дану cукупніcть.

**Розділ 3**. **Результати дослідження та їх обговорення**

**3.1. Вміст глюкози в сироватці крові**

Аналіз глюкози в крові вказує на вміст цукру в крові. Це дуже вагомий показник, адже глюкоза є основним джерелом енергії, який споживає організм. Завдяки окисленню глюкози маємо більш ніж половину важливої нам енергії.

Рівень цукру регулюється завдяки інсуліну. Інсулін - гормон, який продукується підшлунковою залозою. Рівень цукру в крові здатний зростати з віком. Це відбувається через те, що гине частина інсулінових рецепторів або втрачається чутливість.

Рис. 3.1. Концентрація глюкози в сироватці крові людини(n=10, M±m).

Як свідчать дані рисунку 3.1, рівень глюкози у крові однієї особи із групи (№10) вірогідно зменшився порівняно з іншими. Рівень глюкози становив відповідно 3,47 ммоль/л, що на 26% нижче порівняно з рівнем глюкози у крові 1 особи (5,55 ммоль/л). У осіб 6 та 8 спостерігається вірогідне збільшення рівня глюкози до 7,43 ммоль/л та 7,45 ммоль/л відповідно, вище контрольних значень.

Референтні значення цукру в крові для дітей віком до 14 років є 3,3 - 5,6 ммоль/л. Для дорослих 3,9 - 5,9 ммоль/л. Високі значення у людей старших 60 років. Вони становлять 4,2 - 6,7 ммоль/л.

Незначне підвищення цукру не завдає незручностей і може виникати завдяки певним ситуаціям. Причинами підвищення рівня глюкози в крові можуть бути стреси, тютюнопаління.

Коли показники цукру підвищені завжди, це свідчить про наявність гіперглікемії. Гіперглікемія це основний прояв такого захворювання як цукровий діабет. Ця хвороба має негативний вплив на увесь організм. Відбувається порушення обмінних процесів усіх тканин на органів.

Знижений вміст цукру має назву гіпоглікемія. Рівень цукру знижується при неправильному харчуванні, голоді.

**3.2. Вміст глюкози в сечі**

Наступним нашим етапом було визначення вмісту глюкози в сечі людини.

У нормі глюкоза в сечі майже відсутня. Її концентрація до 0,8 ммоль/л. Поява глюкози в сечі має назву глюкозурія. Вона може бути фізіологічною. Це відбувається при надходженні в організм великої кількості вуглеводів, після перенесеної емоційної або фізичної напруги. Глюкозурія може спостерігатися у вагітних на пізніх термінах (у випадку мого дослідження, це виключається, оскільки в дослідженні приймали участь чоловіки).

Рис. 3.2. Концентрація глюкози в сечі людини ортотолуїдиновим методом (n=10, M±m).

У осіб (№6 та № 8) спостерігається збільшення рівня глюкози у сечі порівняно з референтним значенням (0,06 ммоль/л). Як свідчать попередні дослідження, рівень глюкози у сироватці крові у цих людей також був підвищений (але в межах допустимої норми). Найнижчі показники концентрації глюкози в сечі у осіб № 5 та 10.

**3.3. Вміст інсуліну в крові**

Зниження рівня глюкози залежить головним чином від функції β-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози, основними показниками стану яких є концентрація інсуліну. Виділення інсуліну за рахунок підшлункової залози стимулюється підвищенням концентрації глюкози в крові. Референтні значення показника інсуліну, які є нормальними для здорових людей, коливаються в межах 2,3 - 26,4 mIU/ml (мМО/мл). Нижчі значення свідчать про недостатнє вироблення інсуліну підшлунковою залозою. Більш високі показники вказують на гіперінсулінемію.

Рис. 3.3. Концентрація інсуліну в сироватці крові людини (n=10, M±m).

Концентрація інсуліну пропорційна самому рівню глюкози. Коли зростає рівень глюкози підшлункова залоза секретує інсулін. Він забезпечує транспорт глюкози до органів й тканин з крові.

Як показали дослідження, концентрація інсуліну вірогідно збільшилась уосіб № 2 і 4. Оскільки рівень глюкози у сироватці крові не зріс, а залишився на рівні контрольних значень, варто визначити наявність інсулінрезистентності. Підвищення концентрації інсуліну в крові спостерігається при інсулінорезистентності тканин і лежить в основі розвитку метаболічного синдрому.

**3.4. Показник НОМА**

Модель визначення індексу НОМА–IR вважається надійним маркером наявності інсулінрезистентності. Цей показник відображає взаємозв’язок між глюконеогенезом і продукцією інсулінуβ–клітинами підшлункової залози й має доведений взаємозв'язок з іншими кластерами метаболічного синдрому (ендотеліальна дисфункція, гіперкоагуляція і дисліпідемія навіть без порушення толерантності до вуглеводів).

Рис. 3.4. Індекс НОМА (n=10, M±m).

У нормі індекс НОМА не перевищує 2,7, причому цей показник однаковий для чоловіків і для жінок, і після 18 років не залежить і від віку. У підлітковий період індекс НОМА кілька підвищується через фізіологічну резистентність до інсуліну в цьому віці.

При інсулінорезистентності знижена чутливість тканин до інсуліну, таким чином глюкоза не потрапляє в клітини і її концентрація у крові зростає. Таким чином у клітин відчутний енергетичний голод. Мозок, коли отримує від голодуючих клітин сигнал, посилає команду підшлунковій залозі збільшити вироблення інсуліну. Це ми спостерігаємо у особи №4, де спостерігається підвищений рівень інсуліну (4,72 мМО/мл) та тенденцію до збільшення концентрації глюкози у сироватці крові (6,43ммоль/л).

Виходячи з проведених досліджень, установлено, що контроль у показниках сечі та сироватки крові дає змогу виявити різні захворювання, або попередити їх виникнення. Особливо це стосується захворювань на цукровий діабет та контролю рівня цукру у крові та сечі.

Таблиця 1.Показники вміcту глюкози в крові і cечі, інcуліну в крові, індекcу НОМА.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна група | Доcлідна група |
| Вміcт глюкози в крові, (ммоль/л) | 4,74 ± 0,19 | 6,11±0,29\* |
| Вміcт інcуліну в крові (мкОд/мл) | 4,87 ± 0,99 | 12,04±0,72\* |
| Індекc НОМА | 1,02 ± 0,18 | 3,36±0,32\* |
| Вміcт глюкози в cечі (ммоль/л) | 0,06±0,01 | 0,08±0,01 |

**\***- доcтовірніcть в порівнянні з контролем, (р<0,05)

**ВИCНОВКИ**

1. В результаті проведених доcліджень показано, що у здорових оcіб молодого віку cпоcтерігаєтьcя зростання вміcту глюкози в крові на 29% порівняно з контрольними значеннями.
2. В результаті проведених доcліджень показано, що у здорових оcіб молодого віку cпоcтерігаєтьcя зростання вміcту інcуліну в крові в 2,5 рази порівняно з контрольними значеннями.
3. У обcтежених здорових оcіб молодого віку має міcце гіперінcулінемія на фоні невеликого зростання вміcту глюкози (до верхньої межі норми), що може cвідчити про розвиток ранньої інcулінорезиcтентноcті.
4. Моніторинг вміcту глюкози та інcуліну в крові у здорових оcіб є необхідний для виокремлення груп ризику розвитку цукрового діабету.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. «Патофізіологія»,за ред. М.Н. Зайка, Ю.В. Биця, М.В. Кришталя,736с.
2. Український терапевтичний журнал, С. 8.
3. Дисертація «Комплексна ультразвукова оцінка змін васкуляризації органів-мішеней при порушенні вуглеводного обміну», Журавльова Юлія Борисівна.
4. Навчальний посібник «Оцінювання результатів лабораторних та інструментальних досліджень в ендокринології», Сиволап В.Д., Каджарян В.Г.,Соловьюк О.О., Запоріжжя -2016, 85 с.
5. Навчально-наочнийпосібник «Основи діагностики, лікування та профілактики ендокринних захворювань», за ред. Лариси Журавльової, Миколи Яблучанського, 180 с.
6. [Файловий інтернет-архів студентів](https://studfile.net/) StudFiles.
7. «Патофизиология эндокринной системы»за редакцією Вільям М. Кеттайл, Рональд А. Аркі, Перекладач Н. А. Смирнов,видавництво Біном-Прес,2009,336 с.
8. «Патологічна фізіологія в запитаннях і відповідях». В. «Нова книга»,О.В. Атаман, 2007р., С. 175-188.
9. «Свободные процессы в норме и при патологических состояниях», Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н.– М., 2001. – 78 с.
10. «Введение в биомембранологию» // Подред А.А. Болдырева. – Изд. Московского университета, 1990. – 208с.
11. «Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липероксидации в биологических средах» // Лаб. дело. Колесова О.Е., Маркин А.А., Федорова Т.Н.– 1984 – № 9. – С. 540-546.
12. «Методы биохимических исследований. Учебное пособие» / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та, 1982. – 272 с.
13. «Медицинские лабораторные технологии». Справочник в 2-х Т. / Под ред. А.И. Карпищенко. – Санкт-Петербург: Интермедика, 2002. – 600 с.
14. «Биометрия: учебное пособие для биол.спец.вузов» (4-е издание).Лакин Г.Ф. М.: Высш.шк., 1990.- 352 с.
15. «Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран»,Владимиров Ю.А. // Биофизика. – 1987. С. 830-844.
16. «Свободнорадикальное повреждение ядерного генетического апарата клетки», Левицкий Е.Л., Губский Ю.И. // Укр. биохим. журн. – 1994. – Т.66, N 4. – С. 18-30.
17. «Перекисное окисление липидов в печени крыс при стимуляции макрофагов»,Семенюк А.В., Воронин А.Ю., Куликов В.Ю., Маянский Д.Н. // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 1986. – N 6. – С. 453-455.
18. «Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків», Дубініна О.Ю. // Мед. хімія. – 2001. – 3, № 2. – С. 5-12.
19. «Клиническая биохимия». Маршал В. Дж.– М. - С-Пб.: Бином-Невский диалект, 1999. – С. 265-270.
20. Биохимия. Жуков Н.В., Тюляндин С.А. //– 2008. – 73, Вып. 5. – C. 751-768.
21. Клиническая биохимия. Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Мясоедов В.В., Завгородний И.В.– 2002. – глава 10 – с. 25-41.
22. «Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физоко-химическими агентами». Артюхов В.Г., Наквасин М.А.– Воронеж: Изд. Воронежского гос. ун-та, 2000. – 295 с.
23. Успехи совр. биол. Колесниченко Л.C., Кулинский В.И. //– 1989. – 107, Вып. 2. – C. 179-194.
24. Український Біохімічний Журнал С.В. Яблонська, О.М. Філінська, Г.В. Островська, В.К. Рибальченко. //– 2009. – 81, N 5. – С. 83-92
25. «Клиническая биохимия». Маршал В. Дж.– М. - С-Пб.: Бином-Невский диалект, 1999. – С. 265-270.
26. «Введение в биомембранологию» // Подред А.А. Болдырева. – Изд. Московского университета, 1990. – 208с.
27. «Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран»,Владимиров Ю.А. // Биофизика. – 1987. – Т.32, N 5 – С. 830-844.
28. «Биологическая роль супероксидисмутазы», Поберезкина Н.Б., Осинская Л.Ф. // Украинский биохимический журнал. – 1989. – Т. 61, № 2.– С. 14-27.
29. «Методы биохимических исследований». Учебное пособие / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та, 1982. – 272 с.
30. «Инсулин и инсулинотерапия больных сахарным диабетом».Ефимов А.С., Скробонская Н.А., Ткач С.Н., Сакало Е.А. - Киев: Здоров’я, 2000. — 35 с.
31. «Пероральные сахароснижающие препараты и тактика их применения». Тронько Н.Д., Ефимов А.С., Ткач С.Н.— Киев, 2002. — 56с.
32. Лабораторные тесты. Клиническое использование. Войтченко И.В., Дорошенко И.В., Костенко И.Г.— Киев, 2008. — 135 с.
33. «Инсулин и инсулинотерапия».Корпачов В.В. — Киев, 2001. — 358 с.