

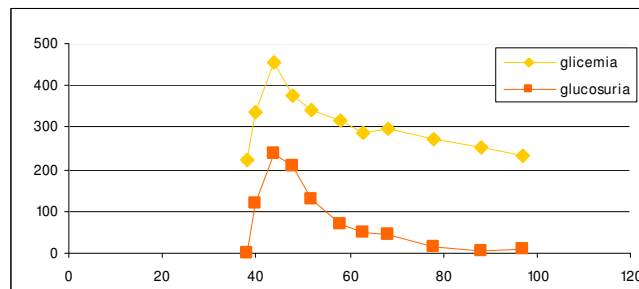


CLAMP EUGLICÉMICO HIPERINSULINÉMICO

El desarrollo de esta técnica permite obtener una serie de parámetros relevantes para los modelos matemáticos de homeostasis del sistema glucosa-insulina.

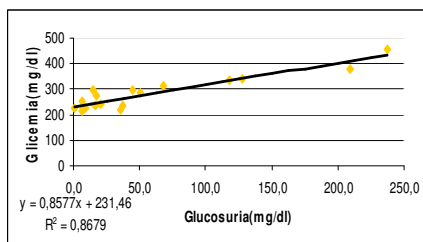
Primera parte

- 1) 12h de ayuno.
- 2) Obtener muestra de sangre basal (2 capilares) para determinar glucemia e insulinemia
- 3) Anestesia
- 4) Colocar vía de hidratación rectal (por goteo con solución fisiológica, 1-3gotas/10seg)
- 5) Colocar una sonda para recolección de orina
- 6) Sacar muestra de sangre basal (1 capilar) y medir con accucheck. (esta muestra de sangre basal está influenciada por la anestesia, xilacina).
- 7) Luego de recolectar 1 ó 2 ependorf de orina inyectar por vía intravenosa un bolo de glucosa (400mg/kg pc = 0,08ml/100gpc de 50% de glucosa, solución heparinizada).
- 8) Sacar muestras de sangre (1 capilar) a los 2, 5, 10, 20 y 30min. Entre los 5 y 10min comenzar a medir glicemia con accucheck para ajustar los tiempos de toma de muestra. Mientras tanto seguir recolectando orina y registrar el intervalo de tiempo de cada ependorf.



De esta primera parte se pueden obtener los siguientes parámetros:

- **Concentración de glucosa umbral (ke_2)**



$$ke_2 = 231.46 \text{ mg/dl}$$



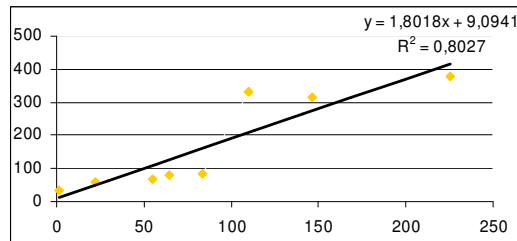
- **Excreción urinaria de glucosa**

Con las muestras de orina tomadas en distintos intervalos de tiempo se pueden obtener valores de excreción urinaria de glucosa.

- **Velocidad de filtración glomerular (ke1)**

$$E = ke_1 (G_p - ke_2)$$

$$Ke_1 = 1.802$$



- **Sensibilidad a insulina**
- **Efectividad de insulina**

Segunda parte

- 1) Colocar un Butterfly con conector en Y por la vena de la cola para infundir:
 - a. Glucosa (ampolla al 25%, infundir a la velocidad más baja e ir subiendo según sea necesario para ajustar al rango de glicemia basal)
 - b. Insulina (0.688mU/min/100g pc = 3,44µl/min/100g pc de Insulina de 200mU/ml)
- 2) Medir glicemia con acuchek hasta lograr que se estabilice en el rango de valores basal. En ese momento tomar una muestra de sangre (1 capilar)
- 3) Modificar le velocidad de infusión de insulina y realizar el procedimiento anterior 2, 3 ó 4 veces.
- 4) La última vez que se realiza obtener 4 ó 5 muestras de sangre (1 capilar) siendo el primero a los 2 min de cambio del flujo de insulina el resto se toma a lo largo del tiempo que haya llevado en los pasos anterior ajustar la glicemia a un nuevo flujo de infusión de insulina.

De esta parte se obtiene:

- **Consumo periférico de glucosa**

El consumo periférico de glucosa se puede estimar a partir del flujo de infusión de glucosa necesario para mantener la glicemia en un nivel basal



- **Consumo de glucosa independiente de insulina (Fcns)**

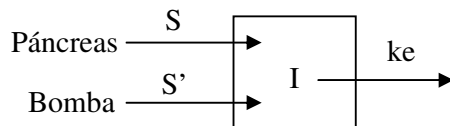
Graficando el flujo de glucosa infundido para mantener constante la glicemia vs el flujo de insulina se podría extrapolar a flujo cero de insulina. Este valor sería una aproximación del consumo de glucosa independiente de insulina.

- **Resistencia a insulina**

Se puede estimar a partir del cociente entre la velocidad de infusión de glucosa y la insulinemia promedio alcanzada a un dado flujo de insulina y glucosa

Tercera parte

- 1) Detener la bomba de infusión
 - 2) Tomar una muestra de sangre (1 capilar) cada 5min durante media hora.
- Durante el clamp euglicémico e hiperinsulinémico el modelo matemático para la homeostasis de insulina sería:



$$k_s = s + s'$$

$$\frac{dI}{dt} = k_s - k_e I$$

Con los valores de concentración de insulina medidos luego de detener la bomba se puede hacer una gráfica de la [I] vs t y obtener de la pendiente la constante k_e , ya que luego de una infusión de insulina el aporte de insulina pancreático se puede considerar despreciable y si la bomba se detuvo podríamos por una fracción de tiempo estar en presencia solo del proceso de eliminación de insulina.

- **Volumen de distribución de insulina(V_i)**

Según el modelo matemático anterior:

$$k_s = s + s'$$

$$\frac{dI}{dt} = k_s - k_e I$$

$$\int_{I_b}^I \frac{dI}{k_s - k_e I} = \int_0^t dt$$

Método de sustitución

$$k_s - k_e I = z$$

$$dz = -k_e dI \Rightarrow dI = -\frac{dz}{k_e}$$

$$\int_{I_b}^I \frac{dI}{k_s - k_e I} = -\frac{1}{k_e} \int \frac{dz}{z} = -\frac{1}{k_e} \ln z = -\frac{1}{k_e} \ln(k_s - k_e I) \Big|_{I_b}^I$$



$$-\frac{1}{k_e} \ln \left(\frac{k_S - k_e I}{k_S - k_e I_b} \right) = t$$

$$\frac{k_S - k_e I}{k_S - k_e I_b} = e^{-k_e t}$$

$$k_S - k_e I = (k_S - k_e I_b) e^{-k_e t}$$

$$I = \frac{(k_S - k_e I_b) e^{-k_e t} - k_S}{-k_e}$$

$$I = \frac{k_S}{k_e} - \frac{(k_S - k_e I_b) e^{-k_e t}}{k_e}$$

$$[I] = \frac{k_S}{k_e V_i} - \frac{(k_S - k_e I_b) e^{-k_e t}}{k_e V_i}$$

$$I_\infty = \lim_{t \rightarrow \infty} \left(\frac{k_S}{k_e V_i} - \frac{(k_S - k_e I_b) e^{-k_e t}}{k_e V_i} \right)$$

$$I_\infty = \frac{k_S}{k_e V_i} \Rightarrow k_S = I_\infty k_e V_i$$



$$[I]' = -\frac{k_s - k_e I_b}{k_e V_i} e^{-k_e t} (-k_e)$$

$$[I]' = \frac{k_s - k_e I_b}{V_i} e^{-k_e t}$$

$$[I]'_{(0)} = \frac{k_s - k_e I_b}{V_i}$$

$$[I]'_{(0)} = \frac{I_\infty k_e V_i - k_e I_b}{V_i}$$

$$V_i [I]'_{(0)} = I_\infty k_e V_i - k_e I_b$$

$$V_i [I]'_{(0)} - I_\infty k_e V_i = -k_e I_b$$

$$V_i (I_\infty k_e - [I]'_{(0)}) = k_e I_b$$

$$V_i = \frac{k_e I_b}{(I_\infty k_e - [I]'_{(0)})}$$

Midiendo la concentración de insulina a distintos tiempos desde que se comienza la infusión se pueden obtener los valores de $[I]_\infty$, I_b , k_e lo conozco del análisis anterior e $[I]'_{(0)}$ lo puedo aproximar como el cociente incremental tomando una muestra basal y otra a los 2min. Con estos datos se puede calcular V_i .

- **Constante de secreción pancreática de insulina**

Realizando el análisis anterior en los primeros tiempos del experimento donde todavía no se infunde insulina, pero se ha dado una carga de glucosa se puede obtener el valor de la constante de secreción pancreática. Recordemos:

$$k_s = I_\infty k_e V_i$$

$$k_s = s + s'$$

Si $S'=0$ por que no hay infusión $k_s=S$, y su valor puede ser calculado con la ecuación anterior.

Otra posibilidad es determinar k_s a distintos flujos de infusión de insulina y conociendo S' (determinada por la bomba) obtener S para distintas insulinemias. Estos datos se pueden graficar (k_s vs $[I]$) y obtener así la función que ajusta la secreción de insulina pancreática en función de la insulina plasmática. Además extrapolando a $[I]=0$ se puede estimar la S basal.