



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **80977** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61B 5/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2013 01168</b>	(72) Винахідник(и): <b>Боднар Петро Миколайович (UA), Янковський Дмитро Станіславович (UA), Михальчишин Галина Петрівна (UA), Берегова Тетяна Володимирівна (UA), Фалалєєва Тетяна Михайлівна (UA), Димент Галина Семенівна (UA), Кобиляк Назарій Миколайович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>31.01.2013</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.06.2013</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.06.2013, Бюл.№ 11</b>	(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)</b>

## (54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ХРОНІЧНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ТИПУ 2 З НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ

### (57) Реферат:

Спосіб корекції хронічної системної запальної відповіді у хворих на цукровий діабет типу 2 з неалкогольною жирковою хворобою печінки передбачає застосування гепатопротектора, сорбента та пробіотики. В плазмі крові визначають концентрацію прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8,  $\gamma$ -ІНФ, після чого як пробіотик призначають Симбітер ацидофільний концентрований.

UA 80977 U



Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема до терапії, точніше до ендокринології та гастроентерології, і може використовуватись в комплексній терапії неалкогольної жирової хвороби печінки у хворих на цукровий діабет типу 2.

5 Miele et. al. вперше продемонстрував наявність у хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки синдрому надлишкового бактеріального росту за результатами глюкозного дихального тесту та підвищеної проникності кишкової стінки при дослідженні <sup>51</sup>Cr- [1].

Роль стимуляції Tol/-подібних рецепторів (TLRs) та пов'язане з нею підвищення секреції цитокінів, розглядається деякими дослідниками як ключовий патогенетичний механізм розвитку неалкогольного стеатогепатиту. Встановлено, що в інсулінчутливих тканинах експресуються  
10 більшість відомих на сьогодні TLRs, серед яких найбільше значення мають TLR-4. В результаті взаємодії TLR-4 клітин Купфера з ендотоксинами (ліпополісахарид бактеріальної стінки) виділяються прозапальні медіатори, які ведуть до пошкодження гепатоцитів та розвитку фіброзу. Цитокіни також сприяють порушенню жирового обміну і накопиченню ліпідів в печінкових клітинах. В експерименті встановлена ключова роль TLR-4 у розвитку  
15 неалкогольного стеатогепатиту. Виявилось, що руйнування клітин Купфера запобігає розвитку експериментального неалкогольного. Те ж саме спостерігається у тварин з генетичним дефектом TLR-4 [2].

Canì et al. продемонстрував, що після 4 тижнів вигодовування мишей дієтою з високим вмістом жиру у них фенотипово спостерігалось ожиріння та інсулінорезистентність, які  
20 супроводжувались зміною складу мікрофлори кишечника (зниження біфідобактерій і еубактерій) та 3-и разовим збільшенням циркулюючого рівня ЛПС, яке вчені назвали «метаболічною ендотоксемією», оскільки плазмова концентрація ліпополісахариду була набагато нижчою від тієї, яка характерна для септичного шоку. При «метаболічній ендотоксемії», відтвореній шляхом підшкірної інфузії невеликих доз ліпополісахариду, у експериментальних тварин спостерігались  
25 такі ж метаболічні зміни, які характерні для вигодовування дієтою з високим вмістом жирів. В той час як CD14 - нокаутовані миші були резистентними як до впливу дієти так і інфузії ліпополісахариду, і у них спостерігалась підвищена чутливість до інсуліну, навіть коли їх вигодовували стандартним кормом [3]. Зміни у складі кишкової мікрофлори, індуковані антибіотикотерапією призводять до зниження «метаболічної ендотоксемії» і кількості  
30 ліпополісахариду в сліпій кишці, що позитивно корелювало зі зниженням маси тіла у мишей лінії ob/ob та тих, яких вигодовували дієтою з високим вмістом жиру [4].

Інші типи TLRs також можуть брати участь у патогенезі захворювань, асоційованих з ожирінням. Так у TLR9 -/- дефіцитних мишей спостерігався протекторний ефект від розвитку запальних змін в печінці [5]. Важлива роль кишечника як «органа з вираженою метаболічною активністю» була переконливо продемонстрована в недавньому дослідженні, де в  
35 експериментальних мишей з нокаутованим геном TLR5 -/- розвивалися всі кластери метаболічного синдрому, включаючи гіперфагію, ожиріння, IP, цукрового діабету 2 типу та стеатогепатоз. Окрім цього, в даних тварин спостерігалось порушення композиції мікрофлори кишечника. Транспозиція мікробіоти від TLR5 -/- дефіцитних мишей тваринам дикого типу  
40 призводило до розвитку метаболічного синдрому [6].

Роль кишкової мікрофлори в патогенезі НАЖХП підтверджена також в ряді експериментальних досліджень. При пероральному введенні мишам лінії Lep ob/ob неоміцину в експериментальних тварин спостерігається зменшення виділення етанолу під час дихального тесту, що обумовлено пригніченням мікрофлори кишечника [7]. Введення тваринам з  
45 експериментальним неалкогольним стеатогепатитом лактулози призводило до зниження лабораторних показників системної запальної відповіді [8]. Виходячи з цих даних, антибіотики і пребіотики, модифікуючи ріст та розмноження анаеробних грам-негативних бактерій, здатні зменшувати ендотоксемію та пов'язані з нею пошкодження печінки.

При аналізі джерел патентної та фахової літератури, як прототип вибраний спосіб  
50 профілактики та лікування гіперендотоксинемії за допомогою гепатопротектора, сорбента та пробіотика [9].

Заявлений спосіб, відрізняється від прототипу тим, що для корекції хронічної системної запальної відповіді, обумовленої гіперпродукцією прозапальних цитокінів, у хворих з неалкогольну жирову хворобу та цукровий діабет типу 2 окрім традиційних пероральних  
55 цукрознижувальних препаратів, назначають мультипробіотик «Симбітер ацидофільний концентрований», який містить концентровану біомасу 14 штамів пробіотичних бактерій родів Bifidobacterium, Lactobacillus, Lactococcus, Propionibacterium, по 1 пакетику (маса 10 г) 1 раз на добу під час або після їжі впродовж 30 діб.

Задача корисної моделі полягає в підвищенні ефективності лікування неалкогольної жирової хвороби печінки у хворих на цукровий діабет типу 2 за рахунок зменшення проявів хронічної системної запальної відповіді.

Технічний результат від впровадження способу, що заявляється сприяє підвищенню ефективності лікування хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки, за рахунок зменшення абсорбції ендотоксину в кров та відповідно зниженню концентрації прозапальних цитокінів, які провокують прогресування захворювання.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який передбачає застосування гепатопротектора, сорбента та пробіотика, згідно з корисною моделлю, в плазмі крові визначають концентрацію прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8,  $\gamma$ -ІФН, після чого як пробіотик призначають Симбітер по 1 пакетику (маса 10 г) 1 раз на добу під час або після їжі впродовж 30 діб.

Для вирішення поставленої задачі було обстежено 72 хворих на цукровий діабет 2 типу. У відповідності до проведеного курсу терапії всі пацієнти розподілені нами на 2 групи. Основну групу склали 45 пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки та цукрового діабету 2 типу середній вік хворих склав  $53,6 \pm 10,1$ , тривалість цукрового діабету -  $6,6 \pm 5,1$ . Хворі основної групи отримували пероральні цукрознижувальні засоби та мультипробіотик «Симбітер». В групу порівняння увійшли 27 хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки та цукрового діабету 2 типу, які отримували лише цукрознижувальну терапію. Середній вік хворих даної групи склав  $59,6 \pm 10,7$ , тривалість ЦД -  $6,7 \pm 7,1$ . Додатково в кожній групі ми виділяли хворих з нормальним та підвищеним рівнем трансаміназ.

Концентрацію прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8,  $\gamma$ -ІФН визначали імуноферментним методом з використанням комерційних тест-систем «Протеїновий контур» (Росія).

Статистичний аналіз виконували за допомогою стандартного пакету програм SPSS версії 20.0 та Microsoft Excel. Кількісні зміни представлені у вигляді середньої величини та стандартного відхилення середньої величини ( $M \pm SD$ ), якісні у вигляді %. Для оцінки відмінності кількісних показників використовували t-критерій Ст'юдента. Відмінності між групами вважали статистично достовірними при  $p < 0,05$ .

У всіх хворих з підвищеним рівнем трансаміназ спостерігалось 2-3-х разове збільшення прозапальних цитокінів в плазмі крові в порівнянні із хворими із неалкогольною жировою хворобою печінки та нормальним рівнем трансаміназ ( $p < 0,001$ ).

Проведене дослідження показало, що курс лікування із застосуванням мультипробіотика "Симбітер" з метою нормалізації складу кишкової мікрофлори, надав виражений позитивний вплив на динаміку показників хронічної системної запальної відповіді.

До початку лікування в хворих основної групи з нормальним рівнем трансаміназ рівень ФНП- $\alpha$  склав  $38,63 \pm 8,62$  пг/мл, а з підвищеним  $70,42 \pm 16,32$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). Після застосування пробіотика ми відмітили статистично достовірне зниження концентрації цитокіну на 13,4 % ( $p = 0,003$ ) у хворих з нормальним рівнем печінкових ферментів та на 15,1 % ( $p < 0,001$ ) у пацієнтів з підвищеною їх концентрацією (мал. 1).

Також ми відмітили статистично достовірне зниження концентрації ІЛ-8 в обох підгрупах основної групи хворих після проведеної терапії. В хворих з нормальними трансаміназами рівень цитокіну до лікування склав  $23,61 \pm 5,54$  пг/мл і знизився на 15,2 % ( $p = 0,017$ ), а в пацієнтів з підвищеними спостерігалось його зниження на 19,9 % ( $p = 0,001$ ) при вихідному значенні -  $37,66 \pm 9,56$  пг/мл.

Як видно із фіг.1-5 у хворих основної групи статистично достовірні різниці після проведеного курсу пробіотикотерапії спостерігалась для ІЛ-6, ІЛ-1 $\beta$  та ІФН- $\gamma$  лише у хворих з підвищеним рівнем трансаміназ. Ми відзначили зниження ІЛ-6 на 30,9 % ( $p = 0,001$ ), ІЛ-1 $\beta$  - на 17,9 % ( $p < 0,001$ ) і ІФН- $\gamma$  на 18,7 % ( $p < 0,001$ ). Вихідні показники для даних цитокінів відповідно склали  $27,16 \pm 15,29$ ,  $61,71 \pm 14,05$  та  $260,69 \pm 49,53$  пг/мл.

У хворих основної групи та нормальним рівнем трансаміназ ми спостерігали лише тенденцію до зниження даних прозапальних цитокінів під впливом терапії. Нами відмічено зниження ІЛ-6 з  $9,11 \pm 3,99$  до  $8,71 \pm 3,99$  пг/мл ( $p = 0,501$ ), ІЛ-1 $\beta$  з  $26,71 \pm 7,63$  до  $25,62 \pm 6,38$  пг/мл ( $p = 0,445$ ) та відповідно ІФН- $\gamma$  з  $135,75 \pm 32,97$  до  $129,04 \pm 32,36$  пг/мл ( $p = 0,322$ ).

Вірогідних змін цитокінового статусу в групі порівняння під впливом терапії ми не відмічали.

Мультипробіотик "Симбітер" знижує концентрацію прозапальних цитокінів особливо у хворих з підвищеними рівнями трансаміназ і ми рекомендуємо його для застосування у пацієнтів з різними стадіями НАЖХП та ЦД2 як доповнення до стандартної схеми лікування.

Список використаної літератури

1. Miele L., Valenza V., La Torre G. et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). // *Hepatology*. - 2009. - 49. - P. 1877-1887.

2. Rivera C.A., Adegboyega P., Rooijen N. et al. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. // *J Hepatol*. - 2007. - 47, № 4. - P. 571-579.

3. Cani P.D., Amar J., Iglesias M.A. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. // *Diabetes*. - 2007. - 56. - P. 1761-1772.

4. Cani P.D., Bibiloni R., Knauf C. et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. // *Diabetes*. - 2008. - 57. - P. 1470-1481.

5. Miura K., Kodama Y., Inokuchi S. et al. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1beta in mice. // *Gastroenterology*. - 2010. - 139. - P. 323-334.

6. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA. et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. // *Science*. - 2010. - P. 228-231.

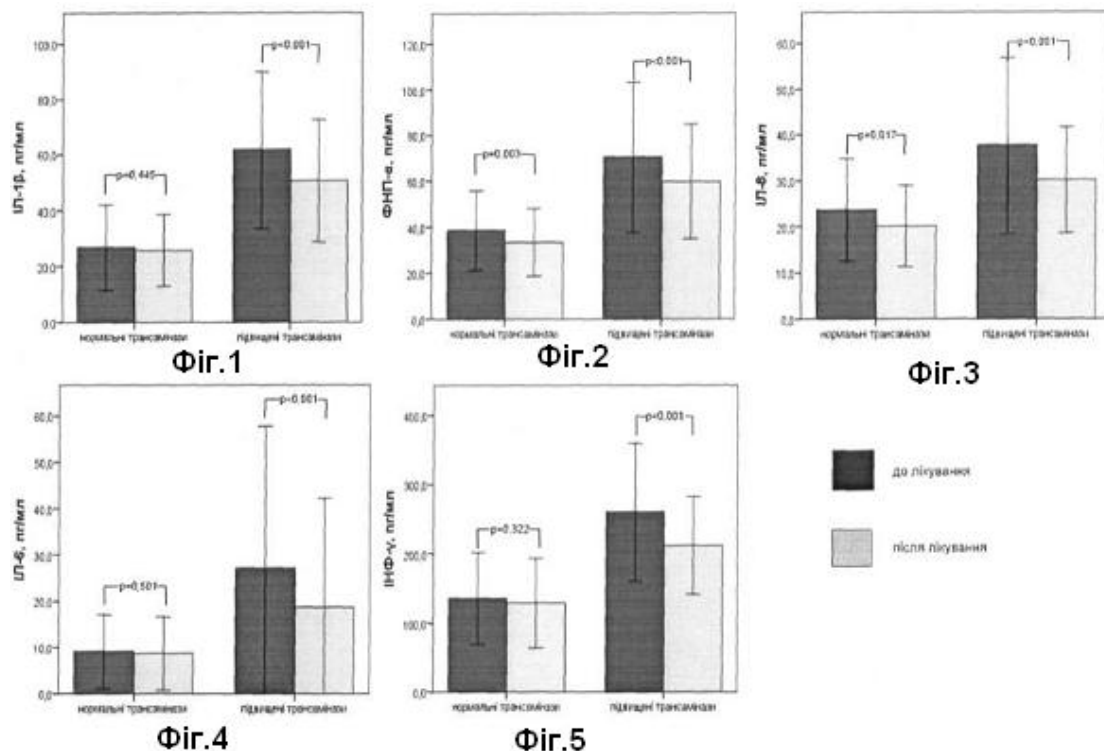
7. Cope K., Risby T., Diehl A.M. Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: implications for fatty liver disease pathogenesis. // *Gastroenterology*. - 2000. - 119. - P.1340-1347.

8. Fan J.G., Xu Z.J., Wang G.L. Effect of lactulose on establishment of a rat nonalcoholic steatohepatitis model. // *World J. Gastroenterol*. - 2005. - 11. - P. 5053-5056.

9. Пат. № RU 99106170 А, МПК А61К 31/00. Способ профилактики и лечения гиперэндотоксинемии / Ю.В. Конев, М.Ю. Яковлев, И.А. Аниховская // заявитель и патентообладатель Российская медицинская академия последилового образования Министерства здравоохранения Российской Федерации. - 99106170/14; заявл. 30.03.1999; опубл. 10.01.2001.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб корекції хронічної системної запальної відповіді у хворих на цукровий діабет типу 2 з неалкогольною жировою хворобою печінки, що передбачає застосування гепатопротектора, сорбента та пробіотика, який **відрізняється** тим, що в плазмі крові визначають концентрацію прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8,  $\gamma$ -ІНФ, після чого як пробіотик призначають Симбітер ацидофільний концентрований, який містить концентровану біомасу 14 штамів пробіотичних бактерій родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium*, по 1 пакету (маса 10 г) 1 раз на добу під час або після їжі впродовж 30 діб.



---

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

---

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

---

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