



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **108566** (13) **C2**  
(51) МПК (2015.01)  
**A61B 10/00**  
**G01N 33/48** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

(21) Номер заявки: **а 2014 00042**  
(22) Дата подання заявки: **08.01.2014**  
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **12.05.2015**  
(41) Публікація відомостей про заявку: **25.03.2014, Бюл.№ 6**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **12.05.2015, Бюл.№ 9**

(72) Винахідник(и):  
**Петров Віктор Олександрович (UA),**  
**Бойко Надія Володимирівна (UA)**  
(73) Власник(и):  
**ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ**  
**ЗАКЛАД "УЖГОРОДСЬКИЙ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ",**  
вул. Підгірна, 46, м. Ужгород, 88000 (UA)  
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:  
Hakansson Asa. Gut Microbiota and Inflammation / Asa Hakansson, Goran Molin // Nutrients. – 201. - №3 (6). – p. 637–682.  
O. Ola Thomas. Protection of non-obese diabetic mice from autoimmune diabetes by Escherichia coli heat-labile enterotoxin B subunit / Thomas O. Ola, Neil A. Williams // Immunology. – 2006. - №117(2). – p. 262–270.  
H. Naruse. Intracellular bacteria recognition contributes to maximal interleukin (IL)-12 production by IL-10-deficient macrophages / H. Naruse, T. Hisamatsu, Y. Yamauchi, J. E. Chang, K. Matsuoka, M. T. Kitazume, K. Arai, S. Ando, T. Kanai, N. Kamada, T. Hibi // Clin. Exp. Immunol. – 2011. - № 164(1). – p. 137–144.

**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ОЖИРІННЯ, ДІАБЕТУ АБО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ НА РАННІХ СТАДІЯХ**

**(57) Реферат:**

Винахід належить до медицини, зокрема до терапії, і може бути використаний для визначення ризику розвитку метаболічного синдрому та ожиріння на ранніх стадіях, де як ранні маркери ризику розвитку вказаних станів використовують показники рівнів IL-10, IL-12, секреторного IgA в копрофільтраті та сироватці крові, загального IgA в сироватці, кількості кишкової палички з нормальною ферментацією і біфідобактерій та ентерококів в кишковій мікробіоті.

UA 108566 C2



Винахід належить до медицини, зокрема до терапії, і може бути використаний для визначення ризику розвитку ожиріння та метаболічного синдрому на ранніх стадіях.

Відомий спосіб діагностики метаболічного синдрому при наявності сукупності клініко-лабораторних показників, зокрема ожиріння - окружність талії більше 88 см у жінок та більше 104 см у чоловіків, артеріальної гіпертензії підвищення рівня тригліцеридів, зниження рівня (повна назва і скорочена) ХС ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ), ХС ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ) [1, 2, 3] - прототипи.

Але така діагностика стосується тих хворих, у яких яскраво виражена клінічна картина з класичними ознаками метаболічного синдрому, тобто на пізніх стадіях захворювання [1, 5, 6, 7].

Актуальною проблемою є розпізнавання та діагностика цього синдрому на ранніх стадіях його розвитку, точніше виявлення ризиків розвитку метаболічного синдрому та ожиріння в майбутньому.

Задачею винаходу було знайти і розробити сукупність тестів, які дадуть можливість прогнозувати ризик виникнення метаболічного синдрому задовго до його виражених клінічних проявів.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі діагностики ожиріння, діабету або метаболічного синдрому на ранніх стадіях, який включає обстеження з визначенням обхвату талії, індексу маси тіла, рівня артеріального тиску, рівня тригліцеридів, ХС ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), ХС ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), рівня цукру натщесерце, толерантності до глюкози, додатково визначають рівень інтерлейкіну 10, інтерлейкіну 12, секреторного імуноглобуліну А в копрофільтраті та сироватці крові, загального імуноглобуліну А - в сироватці крові, а також кількість кишкової палички з нормальною ферментацією, біфідобактерій та ентерококів в кишковій мікробіоті класичним бактеріологічним аналізом.

Запропонований спосіб дасть можливість виявити і спрогнозувати ризики розвитку метаболічного синдрому та ожиріння задовго до виражених клінічних проявів.

Між запропонованим способом прогнозування ризику розвитку метаболічного синдрому на ранніх етапах та його патогенезом існує чіткий взаємозв'язок. При зниженні рівня секреторного імуноглобуліну А в копрофільтраті при збереженому нормальному рівні секреторного імуноглобуліну А в сироватці крові та інтерлейкіну 12 нижче 6,3 пг/мл, збільшення концентрації загального імуноглобуліну А в сироватці крові вище 4,0 мг/мл, зменшення нормально-ферментуючої кишкової палички до  $10^6$  КУО/г, різкому зростанні кількості ентерококів в складі кишкової мікробіоти до  $10^8$  КУО/г, зменшенні кількості біфідобактерій до  $10^7$  КУО/г прогнозують ризик розвитку метаболічного синдрому та ожиріння.

Харчові продукти, які надходять в раціон людини, повинні бути повноцінними і проходити обробку в органах травлення для одержання таких речовин, які здатні засвоюватися і включатися в метаболізм. Якщо процеси травлення в кишечнику порушуються, виникає порушення в складі кишкової мікробіоти та локального імунного захисту, що в свою чергу веде до порушень в обміні речовин та спричинює розвиток багатьох хвороб, в тому числі і формування метаболічного синдрому в класичному варіанті і розвиток ожиріння.

Тому в першу чергу слід вивчати і шукати порушення в органах шлунково-кишкового тракту та імунної системи.

Показниками нормального фізіологічного обміну речовин є нормальні значення глюкози крові натще, холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів та рівня АТ тиску в крові, також важливим компонентом гомеостазу в організмі є стан кишкової мікробіоти, оскільки кількісне співвідношення між різними представниками забезпечує нормальний процес травлення в кишечнику та забезпечує фізіологічний обмін речовин (табл. 1).

Таблиця 1

Мікробіологічні показники кишкової мікробіоти у здорових осіб

Назва мікроорганізму	НОРМА
	Кількість бактерій (КУО/г)
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$10^8$ - $10^{10}$
<i>Lactobacillus</i> spp.	$10^6$ - $10^7$
<i>Enterococcus</i> spp.	$10^5$ - $10^6$
<i>E. coli</i> (з нормальними ферментативними властивостями)	$10^7$ - $10^8$
<i>E. coli</i> (зі зниженими ферментативними властивостями)	$10^6$ - $10^7$
<i>E. coli</i> (Lac -)	$10^6$ - $10^7$
<i>Proteus</i> spp.	Менше $10^4$

Продовження таблиці 1

Умовно-патогенні м/о	Менше $10^4$
Staphylococcus spp.	Менше $10^4$
Candida spp.	Менше $10^4$
Clostridium spp.	Менше $10^5$

5 Запропонований метод включає: визначення інтерлейкіну 10, інтерлейкіну 12, імуноглобуліну А (секреторний в копрофільтраті та сироватці крові, загальний імуноглобулін А в сироватці), визначення складу кишкової мікробіоти класичним бактеріологічним аналізом (табл. 2 і 3).

Таблиця 2

Імунологічні показники у пацієнтів із діагностованим метаболічним синдромом та ожирінням

№	Показник	Референтні (контрольні) показники	Середнє значення $M \pm m$	Достовірність
1	глікозильований гемоглобін HbA1c	4-6 %	7,366667 $\pm$ 0,6	$r=-0,869$ $p=0,02$
2	обхват талії	сантиметрів	105,8333 $\pm$ 2,4	$r=0,866$ $p=0,02$
3	IgA загальний (сироватковий)	0,8-4,0 мг/мл	31,98167 $\pm$ 2,4	$r=0,894$ $p=0,01$
4	sIgA секреторний в крові	1,69-5,47 мг/л	2,993333 $\pm$ 0,2	$r=0,875$ $p=0,1$
5	sIgA секреторний в копрофільтраті	23,2-63,5 мг/л	9,383333 $\pm$ 0,6	$r=-0,860$ $p=0,02$
6	інтерлейкін 10	3,9-12,5 пг/мл	14,049 $\pm$ 0,3	$r=0,88$ $p=0,01$
7	інтерлейкін 12	6,3-400 пг/мл	2,2505 $\pm$ 0,03	$r=0,853$ $p=0,03$

Таблиця 3

Мікробіологічні показники пацієнтів з діагностованим метаболічним синдромом та ожирінням

Назва мікроорганізму	Метаболічний синдром та ожиріння		
	Достовірність	Середнє значення, КУО/г	Норма (КУО/г)
Bifidobacterium spp.	$r=0,839$ $p=0,03$	$1 \times 10^8$	$10^8-10^{10}$
Lactobacillus spp.	$r=0,99$ $p \leq 0,01$	$7 \times 10^{5-6}$	$10^6-10^7$
Enterococcus spp.	$r=0,832$ $p=0,03$	$1 \times 10^8$	$10^5-10^6$
E. coli (з нормальними ферментативними властивостями)	$r=-0,869$ $p=0,02$	$1 \times 10^5$	$10^7-10^8$
E. coli (зі зниженими ферментативними властивостями)	$r=0$ $p=0$	0	$10^6-10^7$
E. coli (Lac -)	$r=0,852$ $p=0,03$	$1 \times 10^{7-8}$	$10^6-10^7$
Proteus spp.	$r=0$ $p=0$	0	менше $10^4$
Умовно-патогенні м/о	$r=0,866$ $p=0,02$	$1 \times 10^{6-7}$	менше $10^4$
Staphylococcus spp.	$r=0$ $p=0$	0	менше $10^4$

Продовження таблиці 3

Candida spp.	r=0	0	менше 10 <sup>4</sup>
	p=0		
Clostridium spp.	r=0,657	1 × 10 <sup>8</sup>	менше 10 <sup>5</sup>
	p=0,1		

У пацієнтів з діагнозом "метаболічний синдром" встановлена кореляційна залежність між зниженням титрів представників коменсальної мікробіоти кишечника *Bifidobacterium* spp., високими рівнями тригліцеридів ( $p = 0,51$ ), холестерину ( $p=0,852$ ) в сироватці крові, надлишкової маси тіла ( $p = 0,751$ ) та перевищуючі нормальні значення показників обхвату талії, які свідчать про "абдомінальний тип" ожиріння ( $p=0,656$ ). Кількість *Lactobacillus* spp. в кишечнику корелює з вмістом глікозильованого гемоглобіну в крові ( $p = 0,894$ ) і антикорелює з титрами лактозо-позитивних *E. coli* ( $p=-0,896$ ). Високі концентрації глікозильованого гемоглобіну корелювали з різким збільшенням загального IgA в сироватці крові ( $p=0,894$ ), продукцією ФНП-α ( $p=0,643$ ) і зниженням секреції IgA у фільтраті вмісту кишечника ( $p=0,860$ ), що доводить правомочність запальної (імунної) теорії ініціації цукрового діабету (метаболічного синдрому).

Рівні тригліцеридів і холестерину безпосередньо пов'язані зі збільшення числа *Enterococcus* spp. в кишечнику (відповідно  $p=0,83$  і  $p=0,65$ ) і зниженням рівня IL-12 ( $p=0,853$  і  $p=0,636$  відповідно). Підвищені рівні IL-10 спостерігали у пацієнтів з надлишковою масою тіла ( $p=-0,703$ ), високими значеннями глікозильованого гемоглобіну ( $p=-0,764$ ) і холестерину ( $p=-0,577$ ).

У пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями домінуючими представниками кишкової мікробіоти виявилися потенційно патогенні ентеробактерії. Титри *Staphylococcus* spp., *Candida* spp. і лактозо-негативної *E. coli* корелювали з високим вмістом сечової кислоти в сироватці крові ( $p = 0,994$ ,  $p = 0,984$  і  $p = 0,694$  відповідно). Кількість *Proteus* spp. у вмісті кишечника прямо пов'язана з локальною секрецією IgA ( $p=0,903$ ), тоді як наростання титрів *Clostridium* spp. призводило до підвищеної секреції ФНП-α в сироватці крові ( $p = 0,582$ ).

У результаті статистичної обробки комплексу діагностичних параметрів, отриманих в клінічному експерименті запропоновані ранні мікробіологічні та імунологічні маркери для виявлення порушень обміну речовин організму, ведуть до виникнення діабету, ожиріння (метаболічного синдрому) і серцево-судинних захворювань людини різної тяжкості.

Якщо за результатами обстеження цей діагноз виставити неможливо, переходять до більш глибокого обстеження пацієнта і визначають рівень IL-10, IL-12, секреторні IgA в копрофільтраті та сироватці крові, загальний IgA в сироватці крові, склад кишкової мікробіоти а саме: ентерококів, біфідобактерій, лактобактерій та кишкової палички з нормальною ферментацією, класичним бактеріологічним аналізом. Після цього порівнюють одержані результати хворого з результатами обстеження контрольної групи.

При виявленні зміни рівня IL-10, IL-12, секреторних IgA в копрофільтраті та сироватці крові, загального IgA в сироватці крові, склад кишкової мікробіоти а саме: ентерококів, біфідобактерій, лактобактерій та кишкової палички з нормальною ферментацією, класичним бактеріологічним аналізом, то діагностують ризик розвитку метаболічного синдрому та ожиріння. Хворого попереджують про імовірність розвитку у нього метаболічного синдрому і дають практичні рекомендації щодо корекції виявлених порушень.

Даним способом було встановлено, що при врахуванні класичних показників немає порушення обміну речовин, однак при проведенні додаткового обстеження встановлено, що є ризик розвитку метаболічного синдрому за показниками бактеріологічного обстеження та імунологічними показниками. Встановлено діагноз: ризик розвитку метаболічного синдрому та ожиріння.

Для перевірки придатності запропонованого способу було обстежено 15 здорових та 30 хворих із класичними проявами ожиріння та метаболічним синдромом, та 5 осіб з відсутністю порушень обміну речовин при проведенні класичних біохімічних тестів та виявленими нами порушеннями в складі кишкової мікробіоти та імунологічних показниках характерними для розвитку метаболічного синдрому та ожиріння. У всіх 5 осіб ризик розвитку метаболічного синдрому встановлено за додатковими тестами.

Винахід може бути рекомендований для використання в лікувальних закладах для ранньої діагностики порушень обміну речовин та ризику розвитку метаболічного синдрому та ожиріння.

Джерела інформації:

1. Широбоков В.П. Мікробна екологія людини / В.П. Широбоков, Д.С. Яновський, Г.С. Димент //Київ: ТОВ "Червона Рута-Турс". - 2009. - 311 с.

2. Сучасні погляди на проблему дисбіозу кишечника та терапевтичні аспекти відновлення еубіозу: Посібник для лікарів / під ред. Г.В. Дзяк, І.І. Грищенко та ін. - К., 2004. - 240 с.

3. Manco M. Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk / M. Manco, L. Putignani, G. F. Bottazzo // *Endocr. Rev.* - 2010. - vol. 31. - № 6. - P. 817-844.

4. Maynard C. L. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system / C. L. Maynard, C. O. Elson; R. D. Hatton; C. T. Weaver // *Nature.* - 2012. - vol. 489. - P. 231-241.

5. Tremaroli V. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism / V. Tremaroli, F. Backhed // *Nature.* - 2012. - vol. 489. - P. 242-249.

6. Weinstock G. M. Genomic approaches to studying the human microbiota / G. M. Weinstock // *Nature.* - 2012. - vol. 489. - P. 250-256.

7. Ковальова О.М. Інтерлейкін-18 та кардіометаболічний ризик / О.М. Ковальова // *Журнал НАМИ України.* - 2012, Т. 18. - № 1. - С. 74-80.

#### ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

Спосіб діагностики ожиріння, діабету або метаболічного синдрому на ранніх стадіях, який **відрізняється** тим, що додатково до базових обстежень визначають рівні IL-10, IL-12, секреторного IgA в копрофільтраті та сироватці крові, загального IgA в сироватці, кількість кишкової палички з нормальною ферментацією, біфідобактерій та ентерококів в кишковій мікробіоті і при виявленні зміни вказаних показників, у порівнянні з нормою, прогнозують ризик розвитку метаболічного синдрому та ожиріння.

---

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

---

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