



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46208 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ХРОНІЧНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ НИРКОВОГО АЛОТРАНСПЛАНТАТУ

1

2

(21) u200906739

(22) 26.06.2009

(24) 10.12.2009

(46) 10.12.2009, Бюл.№ 23, 2009 р.

(72) НИКОНЕНКО ТАМАРА МИКОЛАЇВНА, ТРАПІН АНДРІЙ ВЯЧЕСЛАВОВИЧ

(73) ЗАПОРІЗЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯ-ДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

(57) Спосіб визначення ступеня хронічної недостатності ниркового алотрансплантату (ХННАТ), що включає приготування гістологічних зрізів нефробиопатів, їх фарбування за Масоном, мікроскопіч-

не дослідження зрізів та визначення в них морфологічних змін, який **відрізняється** тим, що зрізи при мікроскопічному дослідженні фотографують у випадково вибраних 10 полях зору, за допомогою комп'ютерних програм визначають площу інтерстиціального фіброзу (ІФ) в кожному полі зору та середнє значення для 10 полів зору, причому при площі ІФ до 20 % визначають 1-ий ступінь ХННАТ; при площі ІФ 20-35 % визначають 2-ий ступінь ХННАТ; при площі ІФ більше 35 % визначають 3-ій ступінь ХННАТ.

Корисна модель стосується медицини, а саме, трансплантології, нефрології та патоморфології, і може бути використана для підвищення якості діагностики ступеня хронічної недостатності ниркового алотрансплантату (НАТ).

Існує декілька підходів до діагностики ступеня хронічної недостатності ниркового алотрансплантату (ХННАТ), проте вони недостатньо ефективні, особливо у пізньому післяопераційному періоді, що викликало необхідність у розробці нових способів.

Відомий спосіб діагностики ступеня ХННАТ полягає в визначенні швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ).

Виділяють п'ять стадій хронічної недостатності ниркового алотрансплантату:

1. Ушкодження нирок з нормальною або підвищеною ШКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 м².

2. Ушкодження нирок з легким зниженням ШКФ 60-89 мл/мин/1,73 м².

3. Помірне зниження ШКФ 30-59 мл/мин/1,73 м².

4. Важке зниження ШКФ 15-29 мл/мин/1,73 м².

5. Ниркова недостатність < 15 мл/мин/1,73 м² або діаліз.

(National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification // Am. J. Kidney Dis.- 2002.- V. 39.- P. S1-S000, (suppl 1)).

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що підвищення сироваткового креатиніну та зниження ШКФ є досить пізніми ознаками ХННАТ.

Найбільш близьким за технічною сутністю та результатом, що досягається, є спосіб, який полягає у приготуванні гістологічних зрізів нефробиоптату, їх фарбуванні згідно з рекомендаціями Банфф-класифікації трихроматичним барвником (наприклад, за Масоном), мікроскопічному дослідженні зрізів та напівкількісному визначенні ступеня інтерстиціального фіброзу (ІФ) в залежності від площі ІФ у зрізі (синє забарвлення) (Solez K., Axelsen R.A., Benediktsson H. et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology // Kidney Int. - 1993.- V.44.-P. 414-422). Ступінь ХННАТ визначають в залежності від ступеня ІФ.

Спільними суттєвими ознаками найближчого аналога і корисної моделі, що заявляється, є такі: приготування гістологічних зрізів нефробиоптату, фарбування зрізів згідно з рекомендаціями Банфф-класифікації за Масоном, мікроскопічне дослідження гістологічних зрізів; визначення морфологічних змін;

визначення ступеня ХННАТ в залежності від ступеня ІФ. Цей спосіб визначення ступеня ХННАТ є недостатньо точним, тому що визначення ступе-

(19) UA (11) 46208 (13) U

ня ІФ здійснюється на підставі приблизної оцінки площі ІФ у зрізі:

сі0 - ІФ не більше 5 % площі коркової зони нирки;

сі1 - легкий ІФ (6-25 % площі коркової зони);

сі2 - помірний ІФ (26-50 % площі коркової зони);

сі3 - важкий ІФ (більше 50% площі коркової зони).

Тому цей показник в значній мірі є суб'єктивним, що викликало необхідність у розробці нових способів.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу визначення ступеня ХННАТ шляхом використання системи аналізу зображення для надання шкали оцінки кількісного характеру, що у сукупності сприятиме підвищенню якості визначення ступеня ХННАТ.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який включає приготування гістологічних зрізів нефробіоптату, їх фарбування згідно до рекомендацій Банфф-класифікації за Масоном, мікроскопічне дослідження зрізів та визначення морфологічних змін, новим є те, що зріз фотографують, одержане зображення аналізують за допомогою комп'ютерних програм (наприклад, Adobe Photoshop 8.0 і Image J 1.34s), та визначають площу ІФ в зрізі.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому.

Оцінка результатів фарбування за допомогою системи аналізу зображення у напівавтоматичному режимі дозволяє підрахувати площу ІФ в зрізі. Цей показник дозволяє точно визначити ступінь ХННАТ.

Спосіб здійснюють таким чином.

Готують парафінові зрізи нефробіоптатів завтовшки 3-4 мікрони та помішують їх на предметні стекла (по 4-6 зрізів на скло).

Фарбують 1 скло трихромом за Масоном.

Аналізують один зріз на скло; під мікроскопом при збільшенні $\times 400$ у корковій речовині нирок методом систематичного випадкового відбору відбирають 10 полів зору інтерстиціальної тканини для дослідження. Зображення фотографують за допомогою цифрової фотокамери, потім вводять в комп'ютер для зберігання та наступної обробки. Виділяють фрагмент зображення, пофарбований у синій колір. Визначають відповідний ІФ відсоток площі зображення. Далі визначають середнє значення відсотка ІФ за результатами аналізу 10 полів зору.

При площі ІФ до 20 % визначають 1-ий ступінь ХННАТ; При площі ІФ 20-35 % визначають 2-ий ступінь ХННАТ; При площі ІФ більше 35 % визначають 3-ий ступінь ХННАТ.

Приклад.

У пацієнта С., 52 років, якому 5 місяців тому пересадили нирку, діагностовано порушення функції ниркового алотрансплантату, виконана нефробіопсія.

При визначенні ступеня ІФ за Банфф-класифікацією був встановлений 1-й ступінь. Але при визначенні площі ІФ напівкількісним методом був встановлений 2-й ступінь (30,0%), що більше відповідає ранньому розвитку дисфункції. У даного пацієнта рже на момент пересадки в НАТ виявлялися тяжкі ішемічні пошкодження, а в строк 2 місяці він мав епізод гострого відторгнення. У сукупності ці фактори обумовили ранній розвиток ІФ, що було прогностичне несприятливо. Це дозволило прийняти заходи, спрямовані на подовження життя НАТ.

Впровадження способу визначення ступеня ХННАТ, що пропонується, дозволить підвищити якість діагностики ступеня хронічної недостатності ниркового алотрансплантату. Це сприятиме прогнозуванню долі НАТ, вибору найбільш адекватного методу лікування, відновленню функції алотрансплантату, та його збереженню, що дозволяє запобігти повернення хворого до діалізу або повторної трансплантації.