



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **31300** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 33/50
A61B 10/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ РОЗВИТКУ ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ У ХВОРОГО НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

1

(21) а200713988
(22) 13.12.2007
(24) 10.04.2008
(46) 10.04.2008, Бюл.№ 7, 2008 р.
(72) НІКІТИН ЄВГЕН ВАСИЛЬОВИЧ, UA, СЕРВЕЦЬКИЙ КОСТЯНТИН ЛЕОНІДОВИЧ, UA, ЧАБАН ТЕТЯНА ВОЛОДИМИРІВНА, UA
(73) ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, UA

2

(57) Спосіб визначення стану розвитку цирозу печінки у хворого на хронічний гепатит С шляхом імунологічного дослідження продукції трансформуючого фактора росту в сироватці крові, який **відрізняється** тим, що досліджують вміст цитокіну TGF- β_1 у сироватці крові хворого і, при зниженні його значення від норми, а саме, нижче (1276,31 \pm 108,541) пг/мл, судять про перехід активного фіброзу в цироз печінки.

Корисна модель відноситься до області медицини, а саме до інфектології, і може бути використана для визначення стану розвитку цирозу печінки у хворого на хронічний гепатит С.

У печінці здорової людини процес формування тканини збалансований взаємодіями між рядом цитокінів і клітинами-продуцентами компонентів ЕЦМ. Порушення цього балансу клінічно проявляється формуванням фіброзу печінки з виходом у цироз.

Центральним компонентом системи росту гепатоцитів, формування фіброзу і контролю апоптозу є TGF- β_1 накопичення якого в ураженій печінці дозалежно інгібує регенерацію гепатоцитів і проліферацію недиференційованих гепатобластів, індукує міграцію клітин Іто у зону ураження і їх проліферацію, блокує запальну реакцію, прискорює синтез колагену, фібронектину, ламініну, тенесцину, ентектину та протеогліканів. Чим вища кількість TGF- β , тим вища швидкість прогресування хронічного гепатиту в цироз печінки. Найбільш близьким до запропонованого рішення є розробка [1], в якій вивчається значення є TGF- β_1 при вірусному гепатиті С. В роботі виявлялися основні клітини-продуценти є TGF- β у хворих на хронічний вірусний гепатит С. Визначення є TGF- β виконувалося імунопероксидазним методом в біоптатах печінки хворих. Досліджувалися парафінові зрізи з демаскіровкою антигенів у СВЧ пічці.

Однак, вказаний спосіб є інвазивним, потребує біопсії печінки (хірургічне втручання), крім того він

є складним у виконанні і малоінформативним через те, що не визначає чітко, де закінчується фіброз, і де починається цироз печінки.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалення способу визначення стану розвитку цирозу печінки у хворого на хронічний гепатит С шляхом імунологічного дослідження продукції трансформуючого фактора росту в сироватці крові, а саме вмісту цитокіну є TGF- β_1 що дозволить з високим ступенем вірогідності судити про перехід активного фіброзу в цироз печінки.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно корисної моделі, досліджують вміст цитокіну TGF- β_1 у сироватці крові хворого і при зниженні його значення від норми, а саме нижче (1276,31 \pm 108,541) пг/мл, судять про перехід активного фіброзу в цироз печінки.

Спосіб виконується наступним чином.

З метою кількісного вивчення трансформуючого фактора росту (TGF- β_1), використовували проточну лазерну цитометрію із застосуванням парамагнітних часток. Метод ґрунтується на поетапному зв'язуванні молекули певного цитокіну з двома типами моноклональних антитіл. Для проведення дослідження використовували проточний лазерний цитофлюорометр FACS Calibur™ System (виробник Becton Dickinson) та тест-системи виробника.

Результати визначення вмісту TGF- β_1 в сироватці крові хворих га ХГС представлено в таблиці. Слід відмітити наявність чіткої залежності продукції TGF- β_1 від ступеня активності гепатиту (табли-

(13) **U**(11) **31300**(19) **UA**

ця 1). Однак, динаміка цього показника в групах обстежених була різною. Так, при проведенні статистичної обробки результатів пацієнтів I, II та III груп спостереження зафіксовано поступове (відповідно в 1,8; 2,1 та 2,4 рази) підвищення кількості цього цитокіну в порівнянні з фізіологічними даними ($p < 0,05$). При цьому максимальні цифри встановлені у пацієнтів із помірною активністю гепатиту за умов активації АлАТ в 3-10 разів.

У хворих на ХГС із вираженою активністю гепатиту (середнє значення активності АлАТ дорівнювалося $7,86 \pm 1,225$ ммоль/г-л) відбувалося суттєве зменшення продукції TGF- β_1 . Середня величина цього показника складала лише $844,68 \pm 59,019$ пг/мл, що було в 1,5 рази менше, ніж у пацієнтів здорових ($p < 0,05$).

Гепатоцити є одними з основних продуцентів TGF- β_1 . Тому порушення продукції TGF- β_1 можна розглядати як наслідок порушень, які відбуваються в печінкових клітинах та пов'язані із зростаючим дисбалансом в системі ПОЛ/АОС. Разом із інтенсифікацією реакцій ПОЛ спостерігається прогресуюче зниження активності АОС (таблиця 2), кінцевим вираженням якої є декомпенсація цієї системи. Якщо у переважної більшості хворих на ХГС із мінімальною та слабкою активністю гепатиту (відповідно 56 та 52 пацієнти) функціональний стан АОС розцінювали, як компенсаторний або субкомпенсаторний, то у 38 хворих з помірною та у 52 хворих з вираженою активністю гепатиту отримані дані трактували, як стан декомпенсації АОС (індекс декомпенсації $< 0,15$). Означені негативні процеси призводять до руйнування клітинних біомембран, порушення основних функцій гепатоцитів (в т.ч. здатності до продукції TGF- β_1) та клітинному лізису. Внаслідок таких значних порушень відбувається прогресування хронічного гепатиту, прискорюються процеси фіброзоутворення та розвитку цирозу в печінковій тканині. Тобто, вміст TGF- β_1 може впливати на зміни, які відбуваються в печінкових клітинах та відображати ступінь фіброзоутворення.

Ілюстрацією вище викладеного можуть бути результати розрахунку індексу фіброзу за ДЛШ (таблиця 1). Так, в I групі хворих ознаки слабого фіброзу зареєстровані у 34 осіб, помірного фіброзу та цирозу - у 26 осіб. В цій групі спостереження показник TGF- β_1 дорівнювався $2335,59 \pm 257,463$ пг/мл. В II групі обстежених помірний фіброз та цироз за ДЛШ зафіксований у 29 хворих, в III групі - у 38 хворих. Кількість TGF- β_1

відповідно, складала $2745,6 \pm 248,942$ пг/мл та $3027,13 \pm 330,116$ пг/мл. Розбалансування метаболічних процесів в клітині супроводжувалося подальшою активацією фіброзування печінкових клітин (48 хворих з ознаками помірного фіброзу та цирозу печінки в IV групі спостереження), порушенням основних функцій гепатоцитів і, відповідно, зменшенням продукції TGF- β_1 ($844,68 \pm 59,019$ пг/мл).

Аналізуючи отримані результати, можна припустити, що показник продукції TGF- β_1 відображає активність процесів фіброзоутворення в печінці хворих на ХГС. Помірне підвищення кількості трансформуючого фактору росту супроводжується накопиченням продуктів ПОЛ та функціональною недостатністю АОС в клітинах, в тому числі в гепатоцитах та імунотропних клітинах. Такі зміни призводять до руйнування клітинних біомембран, початку фіброзування в печінці. Але, інтенсивність таких порушень залишається на невисокому рівні. Подальше прогресування означених негативних процесів призводить до поглиблення деструкції клітин внаслідок гіперліпопероксидації. У значної кількості хворих розвивається стан декомпенсації АОС. Ця система стає неспроможною захистити клітини від ушкоджуючої дії надлишкових токсичних перекисів. Відбувається порушення перебігу основних внутрішньоклітинних процесів. Клітини втрачають свою морфологічну структуру та стають нездатними до виконання своїх функцій в т.ч., продукувати необхідну кількість TGF- β_1 (значне зменшення вмісту цього цитокіну зафіксовано у хворих з вираженою активацією показника цитолізу гепатоцитів АлАТ більш, ніж в 10 разів). Кінцевим вираженням означених, порою незворотних, змін є прискорення фіброзоутворення, виникнення цирозу печінки. Зниження кількості TGF- β_1 в сироватці крові хворих на ХГС є несприятливою ознакою, що може свідчити про значні деструктивні зміни в печінковій тканині, активний перебіг фіброзування, аж до цирозу печінки.

Таким чином, в порівнянні з прототипом, заявлене технічне рішення дозволяє з високим ступенем вірогідності визначати перехід активного фіброзу в цироз печінки, що дозволяє своєчасно призначати адекватну терапію, знизити число смертельних виходів.

Література:

1. Сапронов Г.В., Коган Е.А., Турьянов М.Х. и др. Значение TGF- β_1 при вирусном гепатите С // VI Всероссийский съезд инфекционистов. Материалы съезда. С-Петербург, 2003. - С.339.

Таблиця.

Вміст TGF- β_1 та показник індексу фіброзу за ДЛШ у
хворих на ХГС з різним ступенем активності гепатиту ($M \pm m$)

Показники	TGF- β_1 , пг/мл	Індекс фіброзу за ДЛШ, кількість хворих		
		0-3	4-6	7 і більше
Групи спостереження				
Хворі з мінімальною активністю гепатиту (n=60)	2335,59 \pm 257,463	34	25	1
Хворі із слабкою активністю гепатиту (n=60)	2745,6 \pm 248,942	31	27	2
Хворі з помірною активністю гепатиту (n=60)	3027,13 \pm 330,116	22	34	4
Хворі з вираженою активністю гепатиту (n=60)	844,68 \pm 59,019	12	42	6
Практично здорові (n=50)	1276,31 \pm 108,541			