



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 51558

(13) A

(51) 6 G01N33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ ЗОВНІШНЬОСЕКРЕТОРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

1

2

(21) 2002065067

(22) 19 06 2002

(24) 15 11 2002

(46) 15 11 2002, Бюл. №11, 2002 р.

(72) Передерій В'ячеслав Григорович, Ткач Сергій Михайлович, Чичула Юлія Володимирівна, Гдаль Володимир Аркадійович, Морозова Земфіра Валеріанівна, Парунян Луїза Маїсовна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб оцінки ступеня зовнішньосекреторної

недостатності підшлункової залози, що включає визначення об'єму та активності ферментів, концентрацію та дебіт гідрокарбонатів дуоденального вмісту, який відрізняється тим, що в калі хворого визначають рівень фекальної еластази-1 імунферментним методом з використанням двох моноклональних антитіл до людської еластази і при рівні її від 100 до 200 мкг/г калу діагностують легкий, від 50 до 99 мкг/г - середній, а менше 50 мкг/г - важкий ступінь зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози

Винахід, що заявляється, стосується медицини, а саме клінічної гастроентерології. Призначений для оцінки ступеню зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози (ЗСНПЗ), яка, як відомо, найчастіше виникає на фоні хронічного панкреатиту (ХП), однак не рідко виникає і при відсутності ХП - при кистозному фіброзі (3), пухлинах підшлункової залози (ПЗ), після радикальних оперативних втручань до шлунку та ПЗ, при гастриномі, захворюваннях тонкого кишечника. За даними літератури (6), ЗСНПЗ різного ступеню прояву визначається більше, ніж у 50% хворих цукровим діабетом, незалежно, I чи II типу.

Підшлункова залоза володіє великим запасом функціональної міцності, тому клінічно встановити її зовнішньосекреторну недостатність на ранніх стадіях, коли немає яскравих її проявів у вигляді діареї та стеатореї, існуючими на сьогоднішній день в Україні діагностичними методами, практично неможливо. В свою чергу, стеаторея, креаторея, поліфекалія та втрата ваги хворого зазвичай проявляються, коли не функціонує вже приблизно 90% маси ПЗ (5), коли таку важку ЗСНПЗ дуже важко та дуже дорого компенсувати за рахунок великої кількості ферментних препаратів. Тому діагностика початкових стадій ЗСНПЗ з визначенням її ступеню, застосовуючи нові спеціальні лабораторні та інструментальні методи з наступним своєчасним лікуванням - це надзвичайно актуальна проблема для великої кількості хворих, як гастроентерологічного, ендокринологічного, так і інших профілів медицини.

Відомий спосіб діагностики зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози - це ендоскопічна ретроградна холангіопанкреатографія з канюляцією панкреатичного протоку тefлоновим катетером через ендоскоп з метою введення рентгенконтрастної речовини для візуальної оцінки морфологічного стану ПЗ, виявлення кальцинатів ПЗ, отримання чистого панкреатичного соку з одночасним проведенням цитологічного дослідження. Після забору базальної секреції проводять стимуляцію функції ПЗ в такий же спосіб, як і для отримання дуоденального вмісту при секретин-холецистокінін-панкреозиміновому тесті. Порції соку збирають з 10-хвилинними проміжками на протязі 30 хвилин з наступним визначенням в ньому активності ферментів та дебіт бікарбонатів. Під час проведення тесту існує ризик розвитку ускладнень. Велике значення має рівень кваліфікації лікаря (2).

Найближчим аналогом - прототипом традиційно, хоча й необґрунтоване, вважається секретин-холецистокінін-панкреозиміновий тест, так званий "золотий стандарт" (1,4), який дозволяє визначати активність ферментів та дебіт бікарбонатів в дуоденальному вмісті, який аспірують через двоканальний зонд, один кінець якого вводять в порожнину шлунку, другий - в порожнину дванадцятипалої кишки під рентгенконтролем. Шлунковий вміст аспірують окремо з метою запобігання зниження активності та інактивації ферментів та нейтралізації бікарбонатів під впливом соляної кислоти. Аспирацію дуоденального вмісту проводять в окремих

(13) A

(11) 51558

(19) UA

посуд, який повинен знаходитись в прохолодному місці для запобігання самопереварювання ферментів. Спочатку проводять забір базальної порції дуоденального секрету, а потім внутрішньовенно повільно вводять секретин в дозі 1 од на кг ваги хворого. Дуоденальний вміст збирають в три 20-хвилинні порції. Потім таким же чином аспірують дуоденальний секрет, стимульований холецистокінін-панкреозиміном (з розрахунку 1 од на кг ваги). Для оцінки результатів враховують об'єм отриманого дуоденального вмісту, активність ферментів, концентрацію та дебіт гідрокарбонатів. Результати тесту залежать від стану екзокринної функції ПЗ, застосовуваного стимулятора, його дози, методики дослідження. Перед проведенням тесту обов'язково визначають показання та протипоказання, щоб запобігти можливим ускладненням та загостренню ХП, включаючи летальний кінець. Відносно методичних недоліків, значення має аспірація всього дуоденального вмісту, тому що при втраті хоча б частини його, визначається зниження дебіту ферментів. Контроль об'єму аспірату здійснюють за допомогою речовин-індикаторів, які не всмоктуються слизовою оболонкою, що ще більше затрудняє проведення адекватного аналізу. Під час проведення стимуляції екзокринної функції ПЗ відбувається скорочення жовчного міхура у відповідь на стимуляцію тих же медіаторів, що може впливати на точність результатів.

Основні недоліки методу полягають в тому, що клінічне застосування його значно обмежене з урахуванням інвазивності, рентгенконтролю за місцем знаходження оливи зонду, відсутності міжнародної стандартизації та низької відтворюваності результатів у межах однієї клініки, технологічної складності для персоналу та обтяжливості для пацієнта маніпуляції, високої собівартості. Такі методи проводяться лише в декількох лабораторіях світу з науково-дослідною метою в обмежених кількостях і не можуть бути рекомендованими як скринінгові рутинні методи. Великий відсоток хибних результатів.

Задача винаходу, що заявляється - визначення ступеню зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози у хворих хронічним панкреатитом різного ступеню важкості за рахунок підвищення чутливості та специфічності визначення рівня фекальної еластази-1, ферменту, який володіє високою стабільністю при транзиті по шлунково-кишковому каналі, що може забезпечити безпечне, нешкідливе для хворого дослідження, допоможе уникнути загострення хронічного процесу, необхідності проведення додаткових інвазивних обстежень, може використовуватися у людей різних вікових груп, в тому числі і у дітей.

Технічний результат дозволяє отримати високочутливу та специфічну діагностику функціонального стану ПЗ.

Спосіб, що заявляється, дозволяє визначити рівень ферменту еластази-1 у випорожненнях імунферментним методом.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі діагностики функціонального стану ПЗ, що включає визначення об'єму та активності ферментів, концентрацію та дебіт гідрокарбонатів дуоденального вмісту, отриманого

інвазивним шляхом, згідно винаходу, в калі хворого визначають рівень фекальної еластази-1 імунферментним методом з використанням двох моноклональних антитіл до людської еластази. При рівні фекальної еластази-1, нижчим, ніж 200мкг/г калу (при нормі 200мкг/г і вище), рівень 100 - 200мкг/г свідчить про легкий, 50 - 99мкг/г - про середній та < 50мкг/г - про важкий ступінь зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози.

Спосіб здійснюється наступним чином. У хворого ретельно проводять збір анамнезу, визначаючи направлення діагностичного пошуку та показання до проведення тесту. Якщо хворий приймає замісну ферментну терапію, це не впливає на результати аналізу. Для того, щоб провести дослідження калу, необхідності в дотриманні специфічної дієти немає.

Хворому в домашніх умовах рекомендують взяти 1 столову ложку випорожнень в спеціальний одноразовий пластиковий контейнер, на якому зазначають прізвище, ім'я та вік хворого. Контейнер із зразком калу необхідно представити в лабораторію на протязі 24 - 48 годин, де він може зберігатися в морозильній камері (при t -20°C до 1 року, при t +4 - 8°C - до трьох діб), аналіз може проводитися одночасно 98 зразків калу.

Набір ELISA являє собою мікротитровальну плашку з 98-ма ячейками, покритими моноклональним антитілом, яке розпізнає тільки людську еластазу, не взаємодіє з еластазами тваринного походження (містяться в замісних ферментних препаратах). Використовують певний стандартний набір реактивів. Результати оцінюють імунферментним аналізатором "ELISA" значення фекальної еластази-1 більше 200мкг/г калу - розцінюємо як норму, 100 - 200мкг/г - легкий ступінь, 50 - 99мкг/г - середній та <50мкг/г - важкий ступінь ЗСНПЗ.

Запропонованим способом обстежено 150 хворих, з яких у 72 чоловік (40 жінок та 32 чоловік) був діагностований ХП на основі анамнезу (вживання алкоголю, наявність гепатобіліарної патології), характерної клінічної картини (рецидивуючий характер болю з іррадіацією в спину, прояви синдрому мальабсорбції), даних копрологичного та УЗ-досліджень. Хворі були розділені на три групи. В першу групу увійшло 25 хворих з легкою формою ХП, в другу - 32 хворих з ХП середньої важкості, в третю - 15 хворих з важким перебігом ХП. У осіб контрольної групи (10 практично здорових осіб) рівень фекальної еластази був вищим 200мкг/г. За даними фекальної еластази-1 легкий ступінь ЗСНПЗ (рівень фекальної еластази-1 визначився як 100 - 200мкг/г калу) виявлено у 24 хворих (у 23 хворих з легкою формою ХП та у 1 хворого ХП середньої важкості), середній ступінь ЗСНПЗ (рівень фекальної еластази-1 визначився як 50 - 99мкг/г калу) виявлено у 28 осіб (у 27 хворих ХП середньої важкості та у 1 хворого ХП важкого ступеню), важкий ступінь ЗСНПЗ (рівень фекальної еластази-1 визначився як <50мкг/г калу) виявлено у 20 хворих (у 14 хворих ХП важкого ступеню, у 4 хворих ХП середньої важкості та у 2 хворих ХП легкого ступеню).

Таблиця

Результати визначення рівня фекальної еластази-1 у хворих
хронічним панкреатитом з визначенням ступеня ЗСНПЗ

ДІАГНОЗ	Рівень фекальної еластази - 1 , мкг/г		
	Легкий ступінь ЗСНПЗ 100 - 200	Середній ступінь ЗСНПЗ 50 - 99	Важкий ступінь ЗСНПЗ <50
Хр панкреатит Легка форма 25 хворих	23		2
Середньої важкості 32 хворих	1	27	4
Важка форма, 15 хворих		1	14

Проведені дослідження дозволяють зробити висновок, що визначення рівня фекальної еластази-1 - це високоінформативний метод виявлення різних ступенів зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози

Спосіб був випробуваний на кафедрі факультетської терапії №1 Національного медичного університету і рекомендований для практичного використання

ЛІТЕРАТУРА

1 Богер М М Методы исследования поджелудочной железы //Новосибирск, Наука -1982 -240 с
2 Васильев Ю В Эндоскопическая панкреатохолангиография в диагностике поражений поджелудочной железы, вне- и внутрипеченочных желчных протоков//Рос журн гастроэнт , гепатол , колопро-

ктол - 1999 - №3 - с 18-23

3 Гастроэнтерологические аспекты в современном представлении о муковисцидозе //Л А Желенина, А В Орлов, В В Никитина и др // Рос журн гастроэнт , гепатол , колопроктол - 1993 - №3 - 83-87

4 Bank S , Chow KW Diagnostic tests in chronic pancreatitis // Gastroenterologist - 1994 - V 2 - p 224-232

5 Freedman S D New concept in understanding the pathophysiology of chronic pancreatitis // Int J Pancreatol - 1998 - V 24 - p 1-8

6 Hardt P D , Kloer H U Diabetes mellitus and exocrine pancreatic disease Pancreatic Disease Towards the Year 2000 (ed Johnson C D) - Springer Verlag -1998 -p 33-39

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71