



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 56051

(13) A

(51) 7 A61B5/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНОГО ПАНКРЕАТИТУ

1

2

(21) 2002097558

(22) 19 09 2002

(24) 15 04 2003

(46) 15 04 2003, Бюл. № 4, 2003 р.

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

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

(57) Спосіб діагностики хронічного панкреатиту,

що включає визначення хімотрипсину в калі, який відрізняється тим, що одночасно проводять комп'ютерну томографію, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини, визначають рівень фекальної еластази-1 імуноферментним методом з використанням двох моноклональних антитіл до людської еластази і при наявності структурних змін в паренхімі залози, вірсунговій протоці, змін розмірів, наявності кальцифікатів, кіст або псевдокіст і при рівні фекальної еластази-1, нижчому ніж 200мкг/г калу, діагностують хронічний панкреатит

Винахід, що заявляється, стосується медицини, а саме клінічної гастроентерології та призначений для діагностики хронічного панкреатиту - затяжного прогресивного захворювання, яке призводить до значного погіршення якості життя та нерідко і до інвалідизації.

Діагностика хронічного панкреатиту на ранніх стадіях, коли з метою корекції стану достатньо лише призначення дієти, відмови від шкідливих звичок, уявляється надзвичайно важливим та складним завданням.

Відома багаточисельність традиційних лабораторних та інструментальних способів діагностики хронічного панкреатиту, які не володіють достатньою чутливістю та специфічністю, особливо на ранніх стадіях захворювання.

"Золотим стандартом" функціональної діагностики хронічного панкреатиту є секретин-панкреозиміновий тест. Пацієнту під рентгенконтролем вводять двохканальний зонд, один кінець якого знаходиться в шлунку для постійного аспірування шлункового вмісту, а другий - в порожнині дванадцятипалої кишки. В дуоденальному вмісті визначають активність ферментів і бікарбонатів до та після стимуляції підшлункової залози внутрішньовенним введенням секретину та панкреозиміну. Найосновніші недоліки цього методу заключаються в тому, що він не є стандартизованим, дуже дорогий, трудомісткий тривалий тест, надзвичайно неприємний для пацієнта, тому використовується лише в спеціалізованих клініках і панкреатологічних центрах (1).

Існують традиційні інструментальні методи діагностики морфологічних змін підшлункової залози: ультразвукове дослідження (УЗД), комп'ютерна томографія (КТ), ендоскопічна ретроградна холангіопанкреатографія (ЕРХПГ). Всі ці методи володіють рядом суттєвих недоліків. Так, УЗД, являючись недорогим та зручним методом, володіє чутливістю не більше 80%, оскільки морфологічні та структурні зміни головки, тіла та хвоста підшлункової залози не завжди чітко корелюють з клінічними та функціональними ознаками хронічного панкреатиту, особливо на ранніх стадіях захворювання. Має значення також суб'єктивний фактор, тобто багато залежить від кваліфікації лікаря, який проводить дослідження. Комп'ютерна томографія є високочутливим методом діагностики, однак через складну та дорогу процедуру не всім пацієнтам доступна і не може бути використана в якості скринінгового дослідження. Ендоскопічна ретроградна холангіопанкреатографія є "золотим стандартом" в діагностиці біліарних панкреатитів, які складають приблизно 20% всіх хронічних панкреатитів (5). Метод дуже складний, потребує спеціального ендоскопічного обладнання та пов'язаний з додатковим рентген-опроміненням. Крім того, сама процедура може стати причиною атаки гострого панкреатиту, чи загострення хронічного у 1 - 3% випадків, стати причиною смерті - в 0,8% випадків (2).

Відомий спосіб діагностики захворювань підшлункової залози - це ендоскопічна ультрасонографія, метод, який дозволяє проводити скануван-

(13) A

(11) 56051

(19) UA

ня органу не через передню черевну стінку, а через стінку шлунку та дванадцятипалої кишки, що дозволяє детально вивчити структуру тканини підшлункової залози, стан протокової системи, провести диференційну діагностику хронічного панкреатиту з новоутвореннями органу, провести оцінку розмірів біляпанкреатичних лімфатичних вузлів. Традиційно ендоскопічну ультрасонографію панкреатобілярної області виконують ехоендоскопом з радіальним направленням ультразвукового сканування. Ендосонаографічне обстеження підшлункової залози проводиться з декількох стандартних положень апарату в різній послідовності, що залежить від характеру захворювання та локалізації патологічних змін. Інформативність ендоскопічної ультрасонографії з метою виявлення морфологічних, структурних змін підшлункової залози перевищує можливості ядерно-магнітного резонансу та ендоскопічної ретроградної холангіо-панкреатографії, особливо якщо під час ендоскопічної ультрасонографії внутрішньовенно вводять рентгенконтрастну речовину - альбунекс. Але недоліком такого методу є те, що проведення процедури може посилити клініку панкреатиту (5, 6, 7).

Найближчим аналогом - прототипом можна вважати визначення хімотрипсину в калі. Метод застосовується з метою встановлення зниження екзокринної функції підшлункової залози при хронічному панкреатиті. За три дні перед дослідженням хворому відмінюють всі ферментні препарати. Принцип методу базується на тому, що хімотрипсин розщеплює N-ацетил-L-тирозиловий ефір з утворенням кислих продуктів, які потім відтитровуються лужним розчином. Для дослідження необхідно всього 1г калу. В лабораторії в колбу з 1г калу додають фізіологічний розчин, суміш гомогенізують та фільтрують. В іншу колбу вносять 1мл гомогенізату, 2,5мл субстрату (етиловий ефір N-ацетил-L-тирозили) та буферний розчин. В цій суміші проводять титрування лужним розчином в присутності фенолфталєну. Якщо на титрування пішло 100мкл розчину ідкого натру, активність хімотрипсину становить 100од/г. В нормі цей показник становить 51 - 101од/г калу (1, 3).

При хронічному панкреатиті зі зниженим синтезом ферментів, при набрякових формах і порушенні відтоку панкреатичного секрету визначення зниженої активності хімотрипсину. Точність результатів залежить від довготривалості пасажу харчового жмуту по кишечнику та багатьох інших причин. При помірно вираженому хронічному панкреатиті можливе отримання хибнопозитивних результатів у 34% випадків. Недостатком методу є отримання знижених результатів не тільки при органічній, а й при функціональній патології підшлункової залози, що робить метод не точним, орієнтовним, тому не знайшов широкого використання в клінічній практиці, рекомендується лише як пошуковий, орієнтовний тест (1, 3).

Задача способу, що заявляється, вирішується комплексним застосуванням визначення рівня панкреатичної еластази-1 в калі за допомогою імуноферментного аналізу та застосування інструментальних методів дослідження. Використання способу забезпечує безпечне, нешкідливе для хворого дослідження, допомагає уникнути за-

гострення хронічного процесу, необхідності проведення додаткових інвазивних обстежень, може використовуватися у людей різних вікових груп, в тому числі у дітей та вагітних.

Панкреатична еластаза-1 - фермент, який синтезується підшлунковою залозою. В порівнянні із загальноновизначеними лабораторними параметрами діагностики хронічного панкреатиту, такими, як активність фекального хімотрипсину, аналіз копрограми, які не є специфічними лише для підшлункової залози, еластаза-1 має значні переваги. Вона абсолютно специфічна для підшлункової залози і залишається стабільною при проходженні по шлунково-кишковому тракту. Визначення еластази-1 співвідноситься із "золотим стандартом" - інвазивним секретин - панкреозиміновим та секретин-церулеїновим тестами. Проте, на відміну від них, завдяки відносній дешевизні та неінвазивності, може застосовуватись в кожній клініці і використовуватись як скринінгове дослідження. Індивідуальні особливості концентрації еластази-1 не виражені, а замісна терапія не впливає на концентрацію еластази-1. Моноклональні антитіла, які використовуються в тесті, не взаємодіють з еластазами тваринного походження, які містяться в ензимзамісних препаратах. Тобто, якщо хворий приймає замісну ферментну терапію з метою корекції процесів травлення, відмінити її немає сенсу.

Технічний результат дозволяє отримати високочутливу та специфічну діагностику хронічного панкреатиту.

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

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі діагностики хронічного панкреатиту, що включає визначення хімотрипсину в калі, згідно винаходу одночасно проводять комп'ютерну томографію, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини та визначають рівень фекальної еластази-1 імуноферментним методом з використанням двох моноклональних антитіл до людської еластази. При наявності структурних змін в паренхімі залози, вірсунговій протоці, змін розмірів, наявності кальцифікатів, кіст або псевдокіст та при рівні фекальної еластази-1, нижчим, ніж 200мкг/г калу діагностують хронічний панкреатит.

Спосіб здійснюється наступним чином. Після ретельного збору анамнезу, хворому призначають проведення ультразвукового дослідження, потім комп'ютерної томографії. Хворий в лабораторію здає кал, в якому визначають рівень фекальної еластази-1 імуноферментним методом. Плата ELISA покрита моноклональним антитілом, яке розпізнає лише людську еластазу-1 та іммобілізує на платі. Друге моноклональне антитіло, оброблене біотином, з'єднується з еластазою-1 під час наступної інкубації. Потім кон'югат пероксидази і стрептовідин з'єднуються з біотином. Оксид пероксидази ABTS (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) стає темно-зеленою. Концентрацію окисленої ABTS вимірюють фотометрично.

Нами обстежено 82 пацієнта з синдромом діареї. Всім пацієнтам була проведена комп'ютерна томографія та ультразвукове дослідження органів

черевної порожнини. Результати комп'ютерної томографії та ультразвукового дослідження показали, що у 76 пацієнтів були виявлені зміни, характерні для хронічного панкреатиту. Рівень еластази-1 був знижений до 100мкг/г еластази-1 в г калу у 35 чоловік, від 100 до 50мкг/г калу у 24, нижче 50 у 14 пацієнтів. У 9 обстежених рівень еластази-1 виявився в межах норми. У пацієнтів зі зниженим рівнем еластази-1 нижче 200мкг/г зміни були вираженими в 100% випадків, а з 9 пацієнтів з нормальним рівнем еластази-1 в калі у 3 були виявлені зміни, які відповідають початковим проявам хронічного панкреатиту. Таким чином, в 96% випадків хронічного панкреатиту рівень еластази-1 в калі виявився зниженим.

Конкретні приклади застосування

Приклад №1

Хворий С (історія хвороби №3847) звернувся зі скаргами на практично постійний інтенсивний біль в лівому підребр'ї, що іррадіює в спину, пронос, метеоризм, нудоту, втрату ваги на 12кг за останній рік.

З анамнезу знаходився на стаціонарному лікуванні в реанімаційному та хірургічному відділеннях у зв'язку з гострим панкреатитом, звідки був виписаний в задовільному стані з рекомендаціями згідно дієти та підтримуючого лікування.

Після порушення дієти у пацієнта знову з'явився біль в лівому підребр'ї, що іррадіює в спину, метеоризм, пронос. Був поставлений попередній діагноз Хронічний панкреатит. Рівень еластази-1 в калі склав 11,9мкг/г за даними ультразвукового дослідження та результатів комп'ютерної томографії у нього виявлені ознаки хронічного панкреатиту: збільшення розмірів підшлункової залози, нечіткість контурів, неоднорідність паренхіми, нерівномірне розширення вірсунгова протока, псевдокіста голівки підшлункової залози.

Приклад №2

Хвора К, 51 рік, (історія хвороби №4114) звернулася зі скаргами на періодичний неінтенсивний

нижчий біль в лівому підребр'ї, епігастальний дряпці, часті проноси, що виникають після порушення дієти, нудоту, гіркоту в роті.

З анамнезу протягом 15 років страждає жовчочкам'яною хворобою. У грудні 1996 року було проведено оперативне втручання з приводу холецистектомії.

При обстеженні рівень еластази-1 в калі склав 85,5мкг/г калу. При ультразвуковому дослідженні підшлункова залоза в розмірах не збільшена, однак контур нерівний, на фоні підвищеної ехогенності паренхіми залози відмічаються деякі гіперехогенні включення розміром 0,6 - 0,7мм, які дають акустичну тінь. Висновок комп'ютерної томографії: кальцифікати підшлункової залози. Хворій були дані рекомендації згідно дієти та призначена замінна терапія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Богер М.М. методы исследования поджелудочной железы - Новосибирск: Наука, 1982 - 240с.
2. Васильев Ю.В. Эндоскопическая панкреатохолангиография в диагностике поражений поджелудочной железы, вне- и внутрипеченочных желчных протоков.
3. Дегтярева И.И. Панкреатит - Киев: Здоров'я, 1992 - 168с.
4. Филин В.И., Костюченко А.Л. Неотложная панкреатология - СПб: Питер, 1994 - 416с.
5. Хронический панкреатит, его течение и исходы / А.И. Хазанов, А.П. Васильев и др. // Рос. журн. Гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 1999 - №4 - С. 24 - 30.
6. Эндоскопическая ультрасонография в диагностике болезней поджелудочной железы / Ю.М. Паницhev, С.Ю. Орлов и др. // Рос. журн. Гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 1999 - №3 - С. 6 - 14.
7. Contrast-enhanced endoscopic ultrasonography in pancreatic diseases: A preliminary study / Y. Hirooka, H. Goto, A. Ito et al. // Am. J. Gastroenterol. - 1998 - Vol. 93, №4 - P. 632 - 635.