



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **66346** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
A61B 8/00ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТОЗУ**

1

2

(21) u201109510

(22) 29.07.2011

(24) 26.12.2011

(46) 26.12.2011, Бюл. № 24, 2011 р.

(72) БОДНАР ПЕТРО МИКОЛАЙОВИЧ, ДИННИК
ОЛЕГ БОРИСОВИЧ, МИХАЛЬЧИШИН ГАЛИНА
ПЕТРІВНА, БЕРЕГОВА ТЕТЯНА
ВОЛОДИМИРІВНА, КОБИЛЯК НАЗАРІЙ МИКО-
ЛАЙОВИЧ, КУХАРСЬКИЙ ВІТАЛІЙ МИРОНОВИЧ,
ПРИБИТЬКО ІРИНА ЮРІЇВНА(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ(57) Спосіб діагностики неалкогольного стеатогепатозу, що включає проведення ультразвукового дослідження, який **відрізняється** тим, що проводять ультразвукову еластографію хвиль зсуву печінки (ShearWave™ Elastography - SWE), визначають жорсткість печінкової паренхіми і при збільшенні показників жорсткості діагностують неалкогольний стеатогепатоз.

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, зокрема до терапії, точніше до ендокринології та гастроентерології, і може використовуватись для покращення діагностики неалкогольного стеатогепатозу і виявлення його на ранніх етапах.

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є неспецифічним, інтегральним і багатofакторним ураженням печінки при цукровому діабеті типу 2, ожирінні, інсулінорезистентності, метаболічному синдромі (МС), дисліпідемії та атеросклерозі. Вона проявляється стадійно: стеатозом печінки, стеатогепатитом, фіброзом та стеатогенним цирозом. У хворих з ожирінням НАЖХП зустрічається у 30-100 %, діабеті типу 2 10-75 %, при гіперліпідемії 20-92 %, а також у 10-24 % здорових людей [1].

Короткостроковий прогноз при НАЖХП сприятливий. Довгостроковий прогноз залежить від гістологічних даних у момент дослідження. У 12-40 % хворих з простим стеатозом протягом 8-13 років розвивається НАСГ з раннім фіброзом. Серед цих пацієнтів приблизно у 25 % протягом такого ж періоду часу розвиваються цироз печінки або печінкова декомпенсація (15 %), або прециротичні зміни (10 %) [2]. У 7 % хворих з компенсованим цирозом печінки внаслідок НАЖХП протягом 10 років розвивається гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК), причому близько 50 % з них або потребують трансплантації печінки, або вмирають внаслідок печінкових ускладнень [3]. Ризик розвитку гепатоцелюлярної карциноми при цирозі внаслідок НАЖБП такий же як при алкогольному цирозі або цирозі внаслідок вірусного гепатиту С [4]. Цим можна частково пояснити дані, які недавно з'явилися про

частоту асоціації ГЦК з підвищеним ІМТ або ЦД 2 типу [5].

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб діагностики НАЖХП за допомогою ультразвукової еластографії печінки (УЕП) за допомогою апарата FibroScan (EchoSens, Франція) [6]. Печінка досліджується через міжреберні проміжки. Спосіб заснований на законі Гука, який визначає реакцію пружного матеріалу на стиснення. Датчик складається зі змонтованих по одній осі приймального УЗ п'єзоелемента і генератора низькочастотних коливань. У ході дослідження використовується пульс-ехо ультразвукова методика, щоб відстежити поширення створюваних механічних коливань на підлеглу тканину органа та оцінити їх швидкість. Остання залежить від щільності тканини: чим більше щільність тканини, тим швидше поширюється хвиля. Таким чином визначається щільність (еластичність) тканини печінки, яка виражається в кілопаскалях (кПа).

Оскільки ділянка печінки, яка досліджується при ультразвуковій еластографії, являє собою циліндр розміром 1×4 см (приблизно 1/100 всієї паренхіми печінки), глибиною 25-65 мм від поверхні шкіри і обмежується краєм правої частки печінки, існує ризик отримати похибку вибірки. При вираженому абдомінальному ожирінні (індекс маси тіла більше 28 кг/м²) ймовірність технічної помилки ультразвукової еластографії збільшується в 9 разів [7].

Обмежена анатомічна зона печінки, що доступна для дослідження, та відсутність візуальної навігації розповсюдження акустичного променя, що зондує печінку, є суттєвими вадами способу ультразвукової еластографії печінки за допомогою апарата FibroScan.

(13) **U**
(11) **66346**
(19) **UA**

Задача, яка вирішується способом, що заявляється, полягає у створенні способу діагностики на експериментальній моделі неалкогольного стеатогепатозу за допомогою нового методу ультразвукової еластографії хвилі зсуву (ShearWave™ Elastography-SWE).

Технічний результат від впровадження способу, що заявляється, полягає у підвищенні точності діагностики неалкогольного стеатогепатозу на ранніх його стадіях.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який передбачає проведення ультразвукового дослідження, згідно з корисною моделлю, додатково проводять ультразвукову еластографію хвиль зсуву печінки (ShearWave™ Elastography-SWE), визначають жорсткість печінкової паренхіми при збільшенні показників жорсткості діагностують неалкогольний стеатогепатоз.

Відмінними особливостями способу є:

1. Спосіб УЕП провадиться сумісно з рутинним УЗ дослідженням у реальному масштабі часу, що дозволяє виконувати візуальну навігацію зони інтересу еластографії будь-яких сегментів печінки.

2. ЕГ хвилі зсуву як фізичний принцип не потребує додаткового фізичного (акустичного чи вібраційного) впливу на досліджувані тканини.

3. Відсутність компресії зразка печінки дозволяє виконувати УЕП щурів як *in vivo*, так і *in vitro* у акустично узгодженому спеціальному пристрої - фантомі.

4. УЕП надає інформацію з зони інтересу як у якісному вигляді (одномірне кольорове картування за каліброваною шкалою), так і кількісному вигляді (значення жорсткості тканин у кілопаскалях каліброваної шкали).

Спосіб здійснюється наступним чином.

Моделювання експериментального неалкогольного стеатогепатозу. Експеримент проводився на статевозрілих щурах - самках, вагою 180-200г (20 щурів), яких утримували у віварії за стандартних умов розміщення та санітарно-гігієнічних умов. Експеримент відповідав вимогам Закону України №3447-1 від 21.02.06р. "Про захист тварин від жорстокого поводження". Експериментальні тварини були розділені на 2 групи:

I група - контрольні тварини (8 щурів);

II група - неалкогольний стеатогепатоз (12 щурів).

Протягом першого тижня всім щурам (20 тварин) давали стандартну їжу "Purina rodent chow" (жир - 20,6 %, білок - 32,4 %, вуглеводи - 47 %) і воду *ad libitum*. Потім тварини рандомізовано були розділені на 2 групи. Тваринам контрольної (I) групи протягом 7 тижнів давали стандартну їжу і воду *ad libitum*. Тварини II групи протягом 7 тижнів перебували на змішаній дієті, що складається зі стандартної їжі (47 %), солодкого згущеного молока (44 %), рослинної олії (8 %) і рослинного крохмалю (1 %) (жир - 29,6 %, білок - 14,8 %, вуглеводи - 55,6 %) (дієта # 3 11024) і воду *ad libitum*. При про-

веденні експерименту щодня спостерігали за загальним станом тварин, споживання корму та води, один раз в тиждень визначали масу.

На 8 тижні після початку експерименту у тварин проводився забір крові для біохімічних, біофізичних, імунологічних досліджень. Потім тварин умертвляли під ефірним наркозом. Зважували масу вісцерального жиру.

Для визначення ступеня стеатозу було проведено морфологічне дослідження печінки. Для цього тканина печінки фіксувалась в 10 % розчині нейтрального формаліну, після чого проводилась через батарею спиртів з наступним зануренням в парафін за загальноприйнятою методикою. Основні гістологічні зміни досліджувались при забарвленні гематоксилін-еозином, для виявлення колагену парафінові зрізи забарвлювали за ван Гізоном.

Отримані гістологічні препарати вивчалися на мікроскопі "Olympus BX-41" з наступною морфометрією за допомогою програми Olympus DP-Soft (version3:1).

Ультразвукове дослідження печінки щурів проводилось на апараті Ultima PA (Фірма "Радмир" ДП АТ НДІРІ, Харків, Україна) *in vivo* контактним датчиком лінійного формату на частотах 7-10МГц на глибині 10-30мм.

Акустично узгоджений спеціальний пристрій для УЕП печінки щурів *in vitro* - фантом.

Фантом для УЕП щурів *in vitro* являє собою ванну, що заповнена імерсійною рідиною - фізіологічним розчином. Ванна має дно, що вкрите шаром матеріалу, який не створює відлуння. Відлуння (реверберації) можуть вносити шум у виміри УЕП печінки щурів. Розмір ванни фантому 5×5см і глибиною 15см. На глибині 5см від поверхні імерсійної рідини занурювали зразок печінки щура на спеціальній сітчастій площадці, яка була акустично прозора, не створювала акустичного шуму, але дозволяла утримувати досліджуваний зразок на певній відстані від УЗ датчика. Це запобігало деформації зразка натисненням УЗ датчика. Візуально вибирали для дослідження при еластографії в зони інтересу в правій та лівій частках печінки. Уникали включення в зону інтересу порталних трактів, капсули та зони воріт. Фіксували дані в архіві цифрових зображень УЗ сканера Ultima PA для подальшої обробки у форматі DICOM.

Статистичну обробку виконано за допомогою t-критерію Стюдента.

При еластографії хвилі зсуву (ЕХЗ) правої і лівої часток 8 здорових щурів патологічних змін не виявлено (Фіг.1). При ЕХЗ правої і лівої часток печінки експериментальної групи з 12 щурів виявлено підвищення показників жорсткості печінки (табл., Фіг.2). Морфологічно в експериментальній групі виявлена дрібнокраплинна жирова інфільтрація гепатоцитів паренхіми печінки, без ознак запальних та фібротичних змін (Фіг.3-6). Цей факт свідчить про чутливість методу ЕХЗ для виявлення чистого стеатозу у печінці щурів.

Таблиця

Показники ультразвукової еластографії хвилі
зсуву в контрольній та експериментальній групах тварин

	Контрольна група (n=8), кПа	Експериментальна група (n=12), кПа
Права частка печінки	4,52±0,97	6,94±1,9*
Ліва частка печінки	3,89±1,13	6,21±1,02.*

Подібні дослідження виконані нами вперше.

Зазначені факти свідчать, що даний спосіб може бути використаний як неінвазивні маркери діагностики неалкогольного стеатогепатозу.

Джерела інформації:

1. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease // N. Engl. J. Med.-2002. - Vol. 346. - P.1221-1231.

2. Ekstedt M., Franzen L.E., Mathiesen U.L., Thorelius L., Holmqvist M., Bodemar G., et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. Hepatology 2006;44:865-873.

3. Day C.P. Natural history of NAFLD: remarkably benign in the absence of cirrhosis. Gastroenterology 2005;129:375-378.

4. Sanyal A.J., Banas C, Sargeant C, Luketic V.A., Sterling R.K., Stravitz R.T., et al. Similarities and

differences in outcomes of cirrhosis due to nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C. Hepatology 2006;43:682-689.

5. Nair S., Mason A., Eason J., Loss G., Perillo R. Is obesity an independent risk factor for hepatocellular carcinoma in cirrhosis? Hepatology 2002;36:150-155.

6. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. Ultrasound Med Biol 2003;29:1705-1713.

7. Foucher J, Castéra L, Bernard PH, et al. Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations. Eur J Gastroenterol Hepatol 2006;18:411-412.

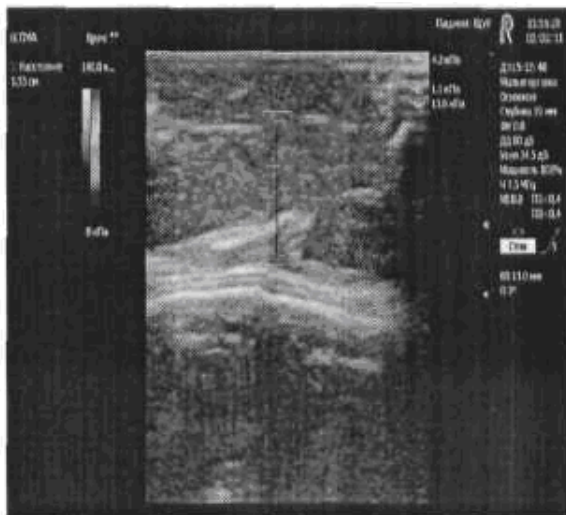
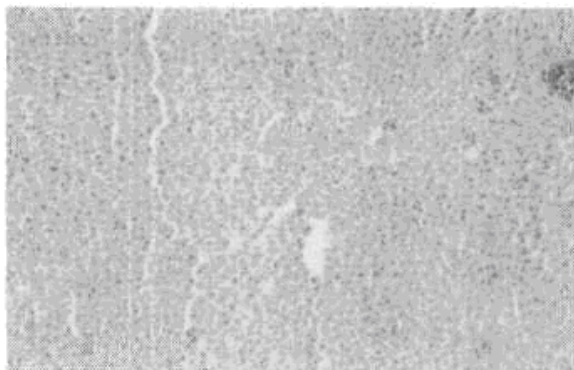


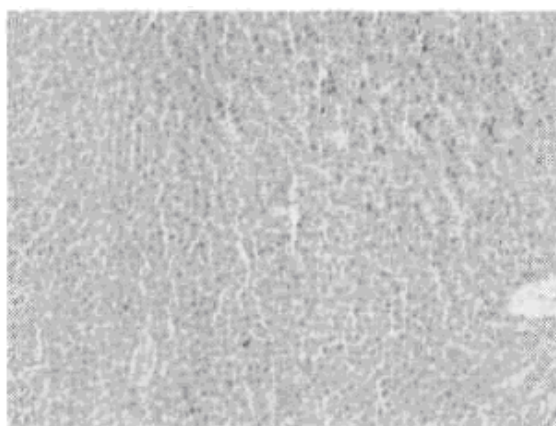
Fig. 1



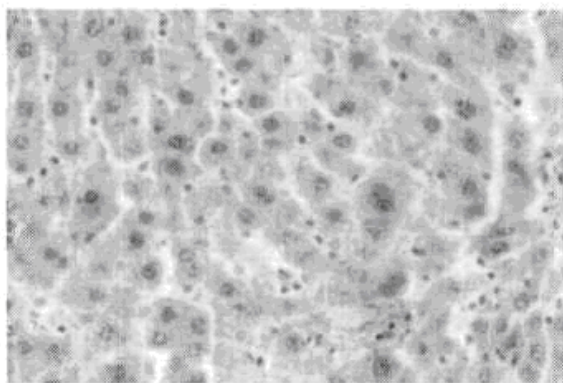
Fig. 2



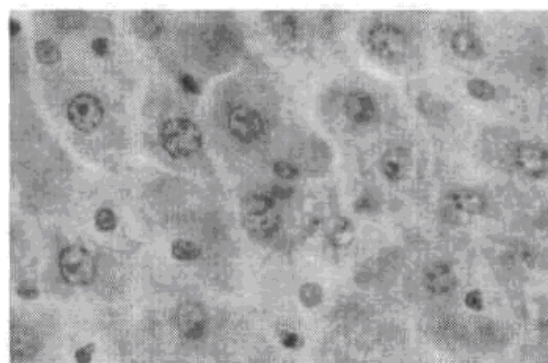
Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5



Фіг. 6