



УКРАЇНА

(19) UA (11) 67246 (13) U
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

1

2

(21) u201108692

(22) 11.07.2011

(24) 10.02.2012

(46) 10.02.2012, Бюл.№ 3, 2012 р.

(72) ЧУЙКОВ МАКСИМ ЛЕОНІДОВИЧ, МАЛИЙ
ВАСИЛЬ ПАНТЕЛЕЙОВИЧ, НАРТОВ ПАВЛО ВІК-
ТОРОВИЧ(73) ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯ-
ДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ (ХМАПО)(57) Спосіб діагностики фіброзу печінки у хворих
на хронічний гепатит С, який здійснюють шляхом
аналізу біохімічних показників сироватки крові, з
визначенням інтегрального показника, який **відрі-**
зняється тим, що в сироватці крові визначають
загальний білірубін, аланін-амінотрансферазу
(АЛТ), аспартат-амінотрансферазу (АСТ), гамаглу-

таміл-транс-пептидазу (ГГТП), лужну фосфатазу
(ЛФ) та білкові фракції крові і здійснюють підраху-
нок параметрів запропонованого Морфотесту за
формулою:

Морфотест = (A+B+C+D+E):5, де

A = Білірубін хворого: максимальний показник но-
рми лабораторії;B = ГГТП хворого: максимальний показник норми
лабораторії;C = ЛФ хворого: максимальний показник норми
лабораторії;

D = АСТ хворого; АЛТ хворого;

E = Гамаглобуліни хворого; Альбуміни хворого, і
при значенні морфотесту в межах від 0,89 (при
F=0-I) до 1,46 (при F=3) діагностують фіброз печін-
ки, при значенні від 1,10 до 2,54 - цироз печінки.

Корисна модель належить до медицини, а са-
ме до неінвазивної діагностики фіброзу печінки у
хворих на хронічний гепатит С (ХГС).

Актуальність проблеми раннього виявлення та
своєчасного лікування HCV-інфекції визначається
тим, що без противірусної терапії хвороба досить
швидко призводить до втрати працездатності па-
цієнтів та розвитку у них цирозу або раку печінки
[Возианова Ж.И. Вирусные гепатиты в структуре
хронической патологии печени // Сучасні інфекції.-
2007. - №4. - С.4-9]. Проте істотного прогресу в
лікуванні противірусними препаратами хворих на
ХГС з цирозом печінки та при латентному перебігу
HCV-інфекції не досягнуто [Stephen L. et al. The
Natural History of hepatitis C virus (HCV) Infection //
International Journal of Medical Sciences.-2006. -
Vol.3(2). -P.47-52]. Більш того, близько 10 % пацієн-
тів змушені достроково призупинити розпочату
противірусну терапію у зв'язку з розвитком тяжких
побічних ефектів [Детярьова І., Осьодло Г., Скри-
пник І. Оптимізація лікування в гепатології / Ліки
України, 2005. - № 6. - С. 57; Yao G.B., Xu D.S., Lan
P. Efficacy and safety of Bicyclol in treatment of 2200
chronic viral hepatitis // Clin.J.New Drug Clin.Rem.-
2005. - Vol. 24. - P. 421-425].

У зв'язку з цим, експерти Американської Асо-
ціації з питань вивчення захворювань печінки
(AASLD) у 2004 році запропонували призначати

противірусні препарати при ХГС лише пацієнтам з
максимальним ризиком прогресування цирозу (фі-
броз F=2-3 за класифікацією METAVIR). Отже,
єдиним аргументом, який дозволяє прийняти вірне
рішення щодо доцільності призначення противіру-
сних препаратів при ХГС, є наявність у хворого
значного фіброзу печінки.

"Золотим стандартом" при визначенні морфо-
логічних змін у печінці, є біопсія. Проте останнім
часом, як підкреслювалося в ході III Паризької
конференції, численні протипоказання та усклад-
нення біопсії істотно обмежують проведення цієї
процедури у більшості пацієнтів. Крім того, висока
мінливість вибірки пункційного матеріалу при біоп-
сії не віддзеркалює реальну гістологічну картину
печінки, яку можна одержати лише при досліджен-
ні всього органа в цілому. З цієї причини серед
клініцистів та науковців все частіше висловлюють-
ся припущення, що біопсію печінки не слід вважа-
ти обов'язковим методом дослідження при ХГС.

Як альтернатива біопсії в медичній практиці
для одномоментного визначення стадії фіброзу
печінки в останні роки все частіше використовую-
ються неінвазивні методи. Серед них, як найближ-
чий аналог корисної моделі є ФіброТест, який най-
більш адаптований до морфологічних шкал
[Poynard T. et al. Overview of diagnostic value of
biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest,

(13) U

(11) 67246

(19) UA

HCVFibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. -Comparative Hepatology.- 2004. - Vol. 3. - P. 8.; Зайцев И.А. 4-я Парижская конференция по вирусным гепатитам (17-18 января 2011). Гепатит С. Впечатления участника // Новости медицины и фармации.-2011. - № 4(354). - С. 22-23].

Суть останнього полягає в тому, що в сироватці крові хворого визначають глікопротеїди (альфа-2-макроглобулін, гаптоглобін, аполіпопротеїн А-1), які після пошкодження гепатоцитів приймають участь в запальних процесах та утворенні міофібробластами печінки позаклітинного матриксу (фіброзу).

Проте й ФіброТест має свої недоліки. За визнанням самих засновників методу він не дає надійної інформації стосовно прогресу фіброзу. Точність його значно зростає при визначенні поняття - "нема фіброзу", або "є фіброз". Крім того, метод досить дорогий, виконується в спеціальних діагностичних центрах, математичні формули підрахунку параметрів проводяться в референс-лабораторії (Франція), результати електронною поштою видаються через тиждень, що поряд з високою собівартістю протівірусної терапії суттєво обмежує його використання в більшості лікувальних закладів України. Все це змушує науковців і практичних лікарів шукати нові шляхи і можливості визначення фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу визначення фіброзу печінки у хворих на ХГС, в якому за рахунок використання додаткових показників, досягається можливість точного та об'єктивного визначення захворювання, що дозволить швидко і без додаткових фінансових витрат провести дослідження в лабораторії будь-якого медичного закладу.

Поставлена задача вирішується в способі визначення фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С, який здійснюють шляхом аналізу біохімічних показників сироватки крові, з визначенням інтегрального показника, згідно з корисною моделлю, в сироватці крові визначають загальний білірубін, аланін-аміотрансферазу (АЛТ), аспартат-аміотрансферазу (АСТ), гамаглутаміл-транс-пептидазу (ГГТП), лужну фосфатазу (ЛФ) та білкові фракції крові і здійснюють підрахунок параметрів запропонованого тесту (Морфотесту) за формулою:

Морфотест = (A+B+C+D+E): 5, де

A = Білірубін хворого: максимальний показник норми лабораторії;

B = ГГТП хворого: максимальний показник норми лабораторії;

C = ЛФ хворого: максимальний показник норми лабораторії;

D=АСТ хворого; АЛТ хворого;

E = Гамаглобуліни хворого: Альбуміни хворого, і при значенні в межах від 0,89 (при F=0-1) до 1,46 (при F=3) діагностують фіброз печінки, при значенні від 1,10 до 2,54 - цироз печінки.

Заявлений спосіб передбачає використання біохімічних тестів сироватки крові хворих на ХГС - загальний білірубін, аланін-аміотрансфераза (АЛТ), аспартат-аміотрансфераза (АСТ), гамаглу-

таміл-транс-пептидаза (ГГТП), лужна фосфатаза (ЛФ) та білкові фракції крові. Білірубін - головний показник пошкодження та функціонального стану печінки; АЛТ - найбільш чутливий показник цитолізу гепатоцитів (при хронічному гепатиті з проявами фіброзу може не підвищуватись); АСТ - закономірно підвищується у хворих на хронічний гепатит з проявами фіброзу; ГГТП - найбільш стійкий показник пошкодження гепатоцитів, особливо при появі декомпенсації органа; ЛФ - головний показник внутрішньопечінкового холестазу, що закономірно підвищується при формуванні цирозу печінки; альбуміни - чутливий показник дифузних пошкоджень печінки, особливо при цирозі; гамаглобуліни - відзеркалюють мезенхімно-запальні процеси в організмі, які притаманні й фіброзу печінки.

Безумовно, жоден з названих тестів окремо не може бути надійним свідком фіброзу. Однак з часом розвитку в портальних трактах мезенхімно-запальних процесів, що формують фіброз і цироз у хворих на ХГС, ці біохімічні показники сироватки крові зазнають істотних змін, відзеркалюючи структурні пошкодження в печінці.

Поставлена задача вирішується наступним чином. Проведено аналіз та математичні підрахунки показників біохімічних тестів сироватки крові хворих на ХГС, які зазвичай використовуються для діагностики хронічних гепатитів. Показники ці свідчать про пошкодження печінки, що активує патофізіологічні процеси фіброгенезу, і за даними загально визнаної міжнародної класифікації METAVIR закономірно підвищуються у хворих з фіброзом в стадії F=2-3.

Авторами проведено обстеження 200 хворих на ХГС у віці 20-64 років (102 чоловіків і 98 жінок). Діагноз ХГС встановлений на підставі виявлення в крові пацієнтів РНК HCV як мінімум протягом 6 місяців і позитивних анти-HCVcor/NS_{3,4,5}. У всіх хворих в сироватці крові визначалися: концентрація білірубину (в мкМ/л); активність ферментів АЛТ, АСТ, ГГТП, ЛФ (в ОД/л або мМ/л); білкові фракції (в %). Для аналізу результатів досліджень застосовували методи описової статистики з використанням пакету програм Excel (дані наведені у вигляді M±m). Вірогідність розбіжності абсолютних величин оцінювали за допомогою парного t-критерію Ст'юдента. Значущим вважали відмінності при p<0,05-0,001.

При використанні способу слід дотримуватися наступного:

Морфотест не слід використовувати у хворих на гострий вірусний гепатит, гострих запальних хворобах, у пацієнтів з ознаками гемолізу та механічного холестазу.

Для правильного виконання Морфотесту слід визначати всі запропоновані біохімічні тести. Показники АЛТ і АСТ повинні бути в єдиному вимірі (ОД/л або мМ/л). Відношення гамма-глобулінів та альбумінів вичисляються у відсотковому вимірі. Хворий повинен здавати кров натщесерце.

У разі невідповідності результатів Морфотесту та інших методів визначення фіброзу необхідно провести ретельний перегляд встановленого діагнозу і повторити тест. Причиною можуть бути помилкові результати як Морфотесту, так і біопсії

(при якій існує 33 % варіабельності для однієї стадії фіброзу) та інших неінвазивних тестів.

Виділено три групи хворих з максимально документованими біохімічними показниками крові. В першій групі було 140 хворих на ХГС у фазі загострення без клінічних ознак фіброзу/цирозу. Другу групу склали 30 хворих з фіброзом печінки: 17-підтверджено методом ФіброТест або Фіброскан і 13-методом УЗД або КТ (підвищення ехогенності паренхіми печінки до 12-14 градацій, гіпертрофія лівої та хвостової долі, периваскулярна інфільтрація та деформація стовбура і гілок v.Portae, спленомегалія). До третьої групи увійшли 30 хворих з цирозом печінки (клас А і В за Чайлд-Пью). До реєстру не були включені хворі з супутньою запальною патологією, ознаками гемолізу і холестазу. Результати досліджень наведені в таблиці.

Аналіз середніх біохімічних показників крові у хворих першої групи засвідчив лише підвищення

активності АЛТ і тенденцію до підвищення активності АСТ в порівнянні з нормальними показниками в їх максимальному значенні, що вказувало на зростання альтеративних процесів у печінці при загостренні хвороби. Інші біохімічні тести крові суттєво не мінялись. В другій групі хворих зареєстровано статистичне ($p<0,001$) підвищення активності всіх ферментів крові у порівнянні з першою групою і тенденція до підвищення концентрації білірубину та гамаглобулінів. У хворих з цирозом печінки поряд з подальшим зростанням активності АЛТ, АСТ, ЛФ ($p<0,001$) та ГГТП ($p<0,05$) в крові статистично ($p<0,001$) підвищувались концентрація білірубину і гамма-глобулінів та зменшувалась концентрація альбумінів. Середні показники альфа-1,2 і бетаглобулінів суттєво не змінювались і статистично не відрізнялися в усіх групах обстежених хворих.

Таблиця

Показники пошкодження печінки у хворих на ХГС, одержаних за заявленим способом ($M\pm m$)

Групи хворих	Морфотест	Біохімічні і показники сироватки крові у хворих на ХГС						
		Білірубин (мкМ/л)	АЛТ (ОД/л)	АСТ (ОД/л)	ЛФ (ОД/л)	ГГТП (ОД/л)	Альбуміни (%)	Гамаглобуліни (%)
Перша група (n=140)	0,66±0,02	18±0,9	68±5,8	43±3,9	106±5,1	38±2,3	59±0,4	19±0,5
p	<0,001	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05
Друга група (n=30)	1,16±0,08	20±1,6	83±12,3	66±8,9	133±13,1	115±8,1	58±1,2	21±0,8
p	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,001	<0,001
Третя група (n=30)	1,65±0,64	47±12,7	106±8,9	98±7,7	218±19,4	124±9,2	45±1,8	32±1,8

Примітка: p - вірогідність розбіжності між середніми показниками сироватки крові в групах хворих;

Виявлені закономірні зміни середніх біохімічних показників крові в трьох групах хворих на ХГС, вказували на зростаюче їх погіршення у відповідності з розвитком фіброзу і цирозу печінки. Це дало підстави провести математичний розрахунок отриманих результатів і встановити в кожній групі обстежених інтегральний показник, який ми позначили як Морфотест (в назві підкреслено не морфологічний характер проведених досліджень, а лабораторно-орієнтований тест фіброзу печінки). Останній в числовому вимірі є алгоритм відношень біохімічних показників крові хворого до показників норми в їх максимальному значенні або між собою.

Обчислені таким чином середні значення Морфотесту (1,16±0,08) у хворих на ХГС з фіброзом статистично ($P<0,001$) перевищували його у хворих першої групи (0,66±0,02) і були нижче ($P<0,05$) середніх показників Морфотесту (1,65±0,74) у хворих з цирозом печінки.

Спосіб апробовано в клініці у 47 хворих на ХГС з документовано підтвердженим фіброзом (ФіброТест/Фіброскан) та цирозом печінки.

У 16 прихильних до терапії хворих на ХГС Морфотест визначали до і після комбінованої терапії Пегінтроном у поєднанні з Ребетолом протягом 24-48 тижнів в залежності від генотипу вірусу

гепатиту С. Після проведеного курсу лікування при досягненні повної первинної ремісії (згідно з критеріями EUROHEP) у 10 пацієнтів без ознак фіброзу печінки показники Морфотесту мали тенденцію до зменшення. У 4-х хворих з початковим фіброзом (F=1-2) спостерігалась регресія Морфотесту на 0,41-0,55 порядку, а у 2-х пацієнтів із значним фіброзом (F=3) показники Морфотесту залишалися на рівні вихідних величин.

Корисна модель ілюструється прикладом.

Пацієнтка Б. 54 роки, була прийнята в клініку гепатологічного центру м. Харкова в січні 2008 року зі скаргами на тяжкість у ділянці печінки та немотивовану слабкість впродовж останніх трьох років. Діагноз хронічного гепатиту С встановлено в 2006 році. Лікувалась гепатопротекторами. В анамнезі оперативне втручання в 1992 році з приводу кишкової непрохідності. При огляді стан задовільний. Вага 67 кг. Шкіряні покрови та склери звичайного окрасу. З боку легень та серця змін не виявлено. АТ=130/80мм рт.ст. Живіт м'який, помірно болісний в правому підребер'ї. Розміри печінки (за Курловим) 14×13×13 см.

Селезінка пальпаторно не визначається. Ер.=4,4×10¹²/л; Нb=134 г/л; Тр.=170×10⁹/л; Л=4,6×10⁹/л; Еоз.=2; П=4; С=49; Лф=39; М=6; ШОЕ=4 мм/г; Цукор крові=4,5 мм/л; Креати-

нін=0,08 мМ/л; Білір.=36,6 мкМ/л; АЛТ=62 ОД/л; АСТ=60 ОД/л; ГГТП=55 ОД/л; ЩФ=136 ОД/л; ТТГ=1,1 МО/мл; АнТГ=3,7 МО/мл; АМА=0,34 МО/мл; Альбуміни=55,5 %; Гамаглобуліни=19,0 %; РНК HCV=3,2 × 10⁵ МО/мл; Генотип-1в; анти-HCVcore/NS₃₋₄₋₅=1,12/1,98-1,07-1,13; HBsAg=відсут.; анти-ВІЛ=відсут.; УЗД=печінка +1,5см., кут тупий, паренхіма гомогенна, підвищеної ехогенності, середньої зернистості, судинний малюнок збільшений до 2 порядку, v.Portae=1,1см; селезінка=11×5,5см.; ФіброТест=F-1; Морфотест=1,11.

Д-3: Хронічний гепатит С, Генотип-1в, низький рівень реплікації (РНК+++), з мінімальною активністю, фіброз, фаза загострення. Супутня патологія: Хронічний холецистит, дисметаболічна кардіоміопатія. 23.05.08. почата комбінована протівірусна терапія: Пегінтрон 100 мкг/тижд. + Ребетол 1000 мг/доба. В процесі лікування досягнута РВВ. У зв'язку із зменшенням ваги хворої 06.06.08. знижена доза Пегінтрону до 80 мкг і Ребетолу до 800 мг. На 45 тижні лікування у хворої зареєстрована панцитопенія (Ер.=2,7×10¹²/л; Л=2,1×10⁹/л; Тр.=78×10⁹/л). Терапія закінчена 24.04.09. на 48 тижні. Згідно критеріям EUROPEP досягнута пер-

винна вірусологічна, біохімічна та морфологічна ремісія (РНК HCV=відсут.; Білір.=32,3 мкМ/л; АЛТ=16 ОД/л; АСТ=14 ОД/л; ГГТП=9 ОД/л; ЩФ=80 ОД/л; Альбуміни=62 % та Гамаглобуліни=20 %; Морфотест =0,71).

Таким чином, заявлено новий неінвазивний спосіб діагностики фіброзу печінки у хворих на ХГС, який дозволяє своєчасно встановити у хворого наявність або відсутність фіброзу печінки і прийняти вірне рішення про доцільність призначення протівірусних препаратів. Згідно з рекомендаціями експертів AASLD заявлений спосіб в цифровому значенні 1,00-1,50 є достатньо інформативним показником фіброзу печінки в межах F1-F3 відповідно до загальноприйнятої міжнародної класифікації METAVIR. Основною перевагою корисної моделі в порівнянні з аналогом (ФіброТест) є те, що він дозволяє швидко і без додаткових фінансових витрат провести дослідження практично в будь-якій поліклініці або соматичному стаціонарі, не потребує для проведення аналізу досліджень в спеціальних лабораторіях та обов'язкової інтерпретації отриманих результатів в референс лабораторії.