



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **104065**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 06678**

(22) Дата подання заявки: **06.07.2015**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.01.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.01.2016, Бюл.№ 1**

(72) Винахідник(и):

**Степанов Юрій Миронович (UA),
Ягмур Вікторія Борисівна (UA),
Кудрявцева Валентина Євгеніївна (UA),
Діденко Володимир Ізотович (UA),
Ошмянська Наталія Юріївна (UA),
Орловський Деніс Володимирович (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ",
пр. Правди, 96, м. Дніпропетровськ, 49074
(UA)**

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ АКТИВНОСТІ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ, АСОЦІЙОВАНОГО З ВІРУСОМ С

(57) Реферат:

Спосіб діагностики активності хронічного гепатиту полягає у тому, що спочатку досліджують імунні показники про- та протизапальних цитокінів, а потім обчислюють параметри активності з наступною оцінкою показників активності хронічного гепатиту.

UA 104065 U

UA 104065 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до гастроентерології, і може бути використана безпосередньо для виявлення ступеня активності гепатиту у хворих на хронічний гепатит, асоційований з вірусом С з мінімальним ступенем активності трансаміназ.

Проблеми, що спричинені існуванням вірусу гепатиту С, залишаються актуальними як в медичному, так і соціальному сенсі. Більш, ніж у 185 мільйонів гостра інфекція переходить у хронічну, є прогнози, що у кожного третього може розвинутих цироз, або навіть рак печінки. Щорічно від термінальних захворювань, що спричинені вірусами гепатитів, вмирають біля 2 млн. хворих, кожний п'ятий випадок трансплантації печінки є наслідком вірусного чинника її ураження.

Чисельними дослідженнями доведено, що у хворих на хронічні вірусні гепатити активність трансаміназ часто не корелює з гістологічною активністю запалення. Крім цього відомо, що для прогнозу захворювання має значення не запалення, а ступінь фіброзу. Незважаючи на мінімальне гістологічне ураження печінки у певної частки пацієнтів спостерігається активний та прогресуючий перебіг захворювання. Так, існують дані про те, що від 5 до 30 % пацієнтів з нормальним рівнем АЛТ мають виражений фіброз за класифікацією Metavir. Ступінь останнього залежить від рівноваги процесів фіброгенезу та фібринолізу, що не можна розпізнати за рівнем трансаміназ та за іншими клінічними параметрами.

Біопсія печінки традиційно є "золотим стандартом" для визначення активності запалення та ідентифікації ступеня фіброзу у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки, у тому числі і асоційовані з вірусом гепатиту С. Для оцінки гістологічної активності користуються шкалою Metavir.

Але попри велику діагностичну цінність морфологічного дослідження печінки, недоліками біопсії є чисельні ризики, які обумовлені її інвазивністю. До них належать кровотеча, ризик інфікування, випадковий прокол сусідніх органів, біль після процедури. Це обмежує використання цього методу як скринінгу та динамічного спостереження. Точність оцінки обмежена деформацією зразків, досвідом морфолога. На заваді стає також небезпека кровотеч при наявності коагулопатії, що може бути присутня у хворих на патологію печінки.

Прогресування фіброзу пов'язане зі зниженням відносної кількості CD8+T-лімфоцитів та підвищенням CD19+B-клітин. Ці дані свідчать, що окремі імунологічні тести можуть бути використані для розробки неінвазивної діагностики гістологічної активності гепатиту.

Таким чином, для виявлення та оцінки активності запалення при хронічному гепатиті, асоційованому з вірусом С, бажано використовувати неінвазивні або малоінвазивні методи.

Відомий спосіб гістологічної оцінки стадії гістологічної активності гепатиту за шкалою METAVIR (Bedossa P. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group /P. Bedossa, T. Poynard //Hepatology, 1996 -№ 24(2) -Р. 289-293), в якому за допомогою мікроскопічного дослідження біоптатів печінки визначається активність хронічного гепатиту за шкалою від 0 до 3. Біоптати, отримані методикою наскрізьшкірної пункційної біопсії печінки або під час операційного втручання, підлягають обробці за стандартними гістологічними методиками, після чого за допомогою світлової мікроскопії визначається ступінь активності гепатиту в залежності від розповсюдженості та локалізації клітин запалення в межах печінкової дольки (незначне, помірне, виражене), наявності вираженого перипортального запалення, руйнування пограничної пластинки та поширеності некротичних змін гепатоцитів. Цей спосіб вибрано за прототип.

Оцінка гістологічної активності:

1. Фокальні лобулярні некрози (0 = менше одного некро-запального осередку на часточку; 1 = мінімум один некро-запальний осередок на часточку; 2 = кілька некро-запальних осередків на часточку або мостоподібні некрози).

2. Портальне запалення (0 = відсутнє; 1 = агрегати мононуклеарів в деяких портальних трактах; 2 = агрегати мононуклеарів у всіх портальних трактах; 3 = щільні й великі агрегати мононуклеарів у всіх портальних трактах).

3. Ступінчасті некрози (0 = відсутні; 1 = фокальні зміни прикордонної пластинки деяких портальних трактів; 2 = дифузні зміни прикордонної пластинки деяких портальних трактів або фокальні зміни прикордонної пластинки всіх портальних трактів; 3 = дифузні зміни прикордонної пластинки всіх портальних трактів).

4. Мостоподібні некрози (0 = відсутні; 1 = присутні).

Спрощена шкала:

Ступінчасті некрози	Лобулярне запалення	ІГА
0 (немає)	0 (немає або легке)	A0
	1 (помірне)	A1
	2 (виражене)	A2
1 (незначні)	0, 1	A1
	2	A2
2 (помірні)	0, 1	A2
	2	A3
3 (виражені)	0, 1, 2	

Недосконалістю прототипу є інвазивність дослідження та неможливість виконання при наявності коагулопатії.

Недосконалість прототипу вирішуються новим способом діагностики, який дозволяє виявити ступінь гістологічної активності у хворих на хронічний гепатит, асоційований з вірусом С, малоінвазивним методом.

Для розробки нового способу діагностики пацієнтам на хронічний вірусний гепатит С з нормальним рівнем трансаміназ проводилось морфологічне дослідження біоптатів печінки та визначались імунологічні показники та про- і протизапальні цитокіни. За допомогою статистичного кореляційного аналізу були отримані дані про наявність прямої кореляційної залежності ступеня гістологічної активності та показників СД19+В-клітин, ІЛ-6, ІЛ-10 та зворотної залежності з відносним показником СД8+Т-клітин.

В результаті проведення регресійного аналізу була отримана наступна формула:

$$Y = 2,08 + 0,39 \times \text{CD19}^+ \text{В-лімфоцити } (\%) + 0,04 \times \text{ІЛ6 (пг/мл)} + 0,06 \times \text{ІЛ10} - 0,05 \times \text{CD8}^+ \text{Т-лімфоцити } (\%).$$

Отримані параметри трактували наступним чином: показники від 1 до 1,9 відповідали першому ступеню гістологічної активності, від 2,0 до 2,9 - другому ступеню, вище за 3,0 - означали третій ступінь активності.

На кресленні наведений графік порівняння даних гістологічної активності досліджених хворих та даних, що розраховані за регресійною моделлю.

Загальною ознакою прототипу та способу, що заявляється, є визначення ступеня активності гепатиту.

Відмінною ознакою є дослідження наступних імунних показників, про- та протизапальних цитокінів: СД19+В-клітин (%), СД8+Т-клітин (%), ІЛ-6 (пг/мл) та ІЛ-10 (пг/мл) та їх оцінка.

Спосіб було застосовано до 54 хворих в клініці ІГНАМНУ.

Ефективність запропонованого способу ілюструється прикладами.

Приклад 1.

Пацієнтка З., вік 33 роки. Діагноз: хронічний гепатит, асоційований з вірусом С.

Біохімічний аналіз крові: загальний білок - 68, загальний білірубін - 18 мкмоль/л, прямий білірубін - 15 мкмоль/л, АЛТ - 34 од/л, АСТ-27 од/л. За даними біохімічного аналізу активність гепатиту мінімальна.

Дані морфологічного дослідження печінки. В біоптаті фрагменти часточок в трьох стовпчиках. Долькова будова печінки порушена. Порто-портальні повні септи. Фіброзні септи помірно інфільтровані лімфоцитами і плазматичними клітинами, внутрідолькова інфільтрація і ознаки дистрофії гепатоцитів відсутні.

Висновок: Хронічний гепатит з мінімальною гістологічною активністю (A1). Хронічний гепатит з численними фіброзними септами без цирозу (F3).

Дані імунологічного дослідження крові: дСД19а - 0,26 %, ІЛ-6 - 0,2 пг/мл, ІЛ - 10 пг/мл, дСД8 - 20 %.

За даними розрахунків за формулою отримали результат - 1,2, що відповідає першому ступеню гістологічної активності. Отриманий результат співпадає з даними морфологічного дослідження.

Приклад 2.

Пацієнт Д., 54 роки. Діагноз: хронічний гепатит, асоційований з вірусом С.

За даними біохімічного дослідження активність мінімальна: Біохімічний аналіз крові: загальний білок - 78, загальний білірубін - 16 мкмоль/л, прямий білірубін - 5 мкмоль/л, АЛТ - 41 од/л, АСТ-34 од/л.

Дані морфологічного дослідження печінки: в біоптаті фрагменти часточок у двох стовпчиках. Долькова будова печінки частково порушена: спостерігаються окремі порто-портальні і порто-центральної повні септи. Портальні тракти розширені, інфільтровані лімфоцитами і

плазматичними клітинами. Спостерігаються вогнища інфільтрації всередині часточок, поодинокі лімфоїдні фолікули, ознаки цитоплазматичного холестазу.

Висновок: Хронічний гепатит з численними фіброзними септами без цирозу (F3), з помірним ступенем гістологічної активності (A2). Холестаз (цитоплазматична форма).

5 Дані імунологічного дослідження крові: дСД19а - 0,18 %, ІЛ-6 - 18,4 пг/мл, ІЛ - 5,5 пг/мл, дСД8 - 11 %.

За даними розрахунків за формулою отримали результат - 2,7, що відповідає другому ступеню гістологічної активності. Отриманий результат співпадає з даними морфологічного дослідження.

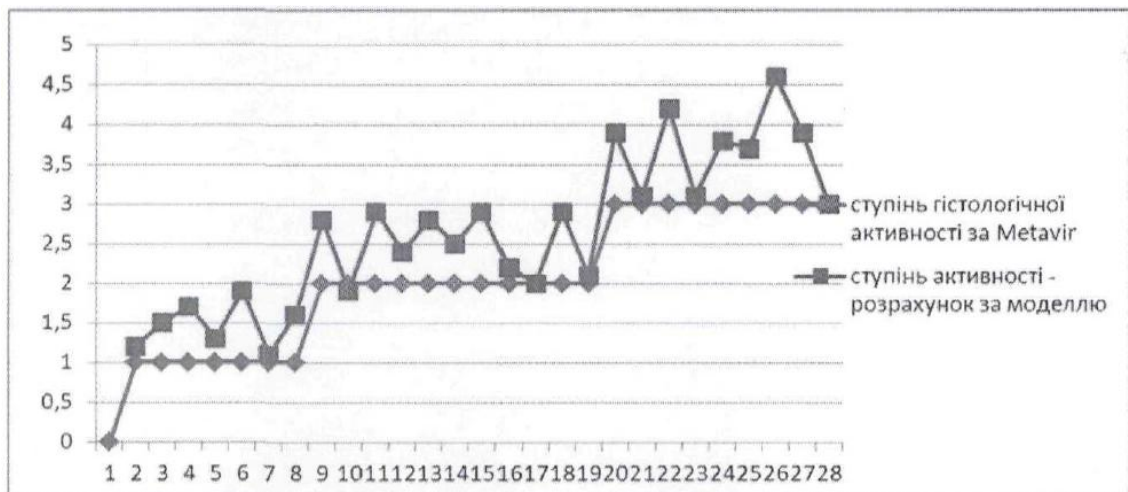
10 Таким чином, спосіб має ряд переваг: малоінвазивний, технічно нескладний, позбавлений ускладнень, швидко здійснюваний.

Технічний результат - підвищення точності діагностики, зниження трудомісткості та періоду отримання інформації за допомогою математичної обробки результатів.

15 Перевагою способу є його безпечність, можливість повторних вимірів для динамічного спостереження, доступність виконання практично в усіх лікувальних закладах.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб діагностики активності хронічного гепатиту, що включає визначення показників активності хронічного гепатиту, який **відрізняється** тим, що спочатку досліджують імунні показники про- та протизапальних цитокінів, а потім обчислюють параметри активності з наступною оцінкою показників активності хронічного гепатиту.



Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601