



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114108** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61B 10/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2016 09846	(72) Винахідник(и):	Велігоцький Олексій Миколайович (UA), Чеботарьов Олександр Сергійович (UA), Арутюнов Сергій Едуардович (UA)
(22) Дата подання заявки:	26.09.2016	(73) Власник(и):	ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ, вул. Амосова, 58, м. Харків, 61176 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	27.02.2017		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	27.02.2017, Бюл.№ 4		

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПАНКРЕАТИТУ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування розвитку післяопераційного панкреатиту здійснюють шляхом дослідження біологічного матеріалу. Проводять імуногістохімічне дослідження проліферативної активності тканин підшлункової залози, визначають експресію ядерного антигену KI67. При наявності в зразках тканин ПЗ кількості KI67-позитивних клітин 20 % і вище прогнозують позитивну динаміку як при гострому, так і при хронічному панкреатиті, а при оперативних втручаннях на ПЗ - уникнення розвитку післяопераційного панкреатиту. При концентрації KI67-позитивних клітин нижче 20 % в зоні гострого деструктивного запалення ПЗ прогнозують подальше прогресування панкреонекрозу, в т. ч. і після хірургічних втручань з приводу гострого деструктивного панкреатиту. Концентрація KI67-позитивних клітин нижче 20 % в зоні хронічного запалення ПЗ свідчить про подальше прогресуванні фіброзу ПЗ, в т. ч. і після операцій на ПЗ.

UA 114108 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до хірургії підшлункової залози (ПЗ), і може бути використана для визначення перебігу панкреатиту при оперативних втручаннях на підшлунковій залозі.

Відомий спосіб прогнозування гострого панкреатиту, в тому числі післяопераційного (В.В. Бойко, И.А. Криворучко та співавт. Острый панкреатит. Патофизиология и лечение. - Харьков: Торнадо, 2002. - С. 84-85). Він включає оцінку рівня інтерлейкіну-8 та при підвищенні його вище норми (2,8 пкг/мл) констатують високу імовірність розвитку панкреатиту.

Недолік зазначеного способу полягає у невисокій точності прогнозування панкреатиту у зв'язку з тим, що високий рівень інтерлейкіну-8 є загальним показником наявності запального процесу у черевній порожнині, та підвищення даного показника може повідомляти про дисфункцію інших органів та систем.

Найбільш близьким та вибраним за найближчий аналог є спосіб прогнозування гострого післяопераційного панкреатиту, відповідно до якого здійснюють післяопераційну оцінку показника амілази крові та розрахунок імовірності виникнення панкреатиту. У способі проводять також оцінку продуктів обміну (креатинін крові, сечовина крові). Розрахунок імовірності виникнення післяопераційного панкреатиту проводять по формулі (Ю.С. Полушина, О.В. Пашенко та інш. "Прогнозирование и профилактика острого послеоперационного панкреатита"// Анестезиология и реаниматология. - № 2. - 1999. - С. 58-60).

Описаний спосіб дозволяє оцінити можливість виникнення післяопераційного панкреатиту за рахунок рівня амілази, однак ця оцінка достатньо складна та трудомістка за рахунок того, що потребує великої кількості лабораторних та інструментальних даних.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу прогнозування розвитку післяопераційного панкреатиту, в якому за рахунок зміни досліджуваного показника, досягається визначення проліферативної активності в тканині підшлункової залози, що в свою чергу дозволяє уникнути розвитку післяопераційного панкреатиту та ряду інших ускладнень.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі прогнозування розвитку післяопераційного панкреатиту, який здійснюють шляхом дослідження біологічного матеріалу, згідно з корисною моделлю, проводять імуногістохімічне дослідження проліферативної активності тканин підшлункової залози, визначають експресію ядерного антигену KI67, при наявності в зразках тканин ПЗ кількості KI67-позитивних клітин 20 % і вище прогнозують позитивну динаміку як при гострому, так і при хронічному панкреатиті, а при оперативних втручаннях на ПЗ - уникнення розвитку післяопераційного панкреатиту, при концентрації KI67-позитивних клітин нижче 20 % в зоні гострого деструктивного запалення ПЗ прогнозують подальше прогресування панкреонекрозу, в т. ч. і після хірургічних втручань з приводу гострого деструктивного панкреатиту; концентрація KI67-позитивних клітин нижче 20 % в зоні хронічного запалення ПЗ свідчить про подальше прогресування фіброзу ПЗ, в т. ч. і після операцій на ПЗ.

Ядерний антиген KI67 вперше описаний у 1983 р. Gerdes. Цей антиген є специфічним маркером проліферації, димерна молекула якого асоційована з хромосомами, бере активну участь у мітозі. Експресія антигену KI67 дозволяє виділити клітини, що знаходяться в активній фазі клітинного циклу.

Пропонований нами спосіб визначення проліферативної активності в тканині ПЗ здійснюють наступним чином. Зразки тканини ПЗ, отримані шляхом інтраопераційної біопсії, фіксують у 10 %-му розчині нейтрального формаліну, обезводнюють у спиртах зростаючої концентрації, проводять через хлороформ, хлороформ-парафін і заливають у парафін. Виготовляють зрізи товщиною 4-6 мкм на санному мікротомі і фарбують гематоксилін-еозином та за Ван-Гизон.

Для кількісної оцінки активності процесів репаративної регенерації використовують імуногістохімічний аналіз індексу проліферації при дослідженні експресії антигену KI67. Дослідження проводять за методом L. A. Sternberger (1979) із застосуванням панелі моно- та поліклональних антитіл до білка KI67 виробництва "Thermo Scientific" (UK) з подальшим фарбуванням гематоксиліном Майєра.

За результатами імуногістохімічного дослідження роблять висновок про ступінь проліферативної активності в тканині ПЗ: а) при наявності в зразках тканин ПЗ кількості KI67-позитивних клітин 20 % і вище вважають, що рівень проліферації в зоні запалення досить високий для регресу запального процесу в тканині ПЗ, що дає можливість прогнозувати позитивну динаміку як при гострому, так і при хронічному панкреатиті, а при оперативних втручаннях на ПЗ - уникати розвитку післяопераційного панкреатиту; б) концентрація KI67-позитивних клітин нижче 20 % в зоні гострого деструктивного запалення ПЗ свідчить про подальше прогресування панкреонекрозу, в т. ч. і після хірургічних втручань з приводу гострого деструктивного панкреатиту; в) концентрація KI-67-позитивних клітин нижче 20 % в зоні

хронічного запалення ПЗ свідчить про подальше прогресування фіброзу ПЗ, в т. ч. і після операцій на ПЗ.

Клінічний приклад. Хворий В., 56 р., перебував на стаціонарному лікуванні в х/в № 1 МГКЛСНМП з діагнозом Са головки підшлункової залози Т3N1M1, механічна жовтяниця. Госпіталізований зі скаргами на болі в правому підребер'ї, жовтушність шкірних покривів. Хворіє протягом 10 діб. Дані клініко-біохімічних методів дослідження: Клінічний аналіз крові: Hb-136 г/л, Еритроц.- $4,24 \cdot 10^{12}$, Кольор. пок. - 1,0, Лейкоц. - $10,7 \cdot 10^9$, пал. - 4 %, сегм. - 67 %, еоз. - 1 %, лімф. - 23 %, мон. - 5 %. Біохімічний аналіз крові: Білірубін - 227,0 мкмоль/л, прямий - 162,2 мкмоль/л, непрямий - 64,8 мкмоль/л, білок - 64 г/л, сечовина - 5,46 мкмоль/л, креатинін - 0,062 мкмоль/л, АСТ-49 МО/л (N=5-40 МО/л), АЛТ - 68 МО/л (N=5-40 МЕ/л), амілаза - 36 МО/л (N < 90 МО/л). Дані інструментальних методів дослідження: УЗД ОЧП: Печінка збільшена, структура однорідна, внутрішньопечінкові протоки розширені, холедох до 1,27 см. Голівка підшлункової залози збільшена до 4 см з нерівним контуром і ознаками кровотоку, вільної рідини в черевній порожнині немає. Дуоденоскопія: ДПК деформована за рахунок здавлення ззовні, прохідність не порушена. ВСДК розташований низько ЕРХПГ: Контрастована вірсунгова протока 6-7 мм з обривом в проекції голівки, в області тіла і хвоста протока розширена. Спіральна комп'ютерна томографія (з контрастуванням тріомбрастом 76 % - 50 мл): Печінка - структура однорідна. В області голівки підшлункової залози визначається об'ємне утворення, розмірами до 41,5 мм, з неправильними контурами, панкреатична протока розширена до 4,4 мм, тіло підшлункової залози - 22 мм, хвіст - 19,8 мм. Селезінка - структура однорідна.

Хворому виконано оперативне втручання в обсязі: Панкреатодуоденальна резекція. З протоколу операції: В області голівки підшлункової залози визначається цупке горбисте утворення до 4-4,3 см в діаметрі, яке не проросло ворітну вену, холедох і черевний стовбур. Регіонарні лімфовузли збільшені, гіперплазовані. Жовчний міхур 12×5 см, холедох розширений до 2 см в діаметрі. Випадок визнано резектабельним. Виконана панкреатодуоденальна резекція з перетином підшлункової залози на рівні перешийка.

Взята біопсія тіла підшлункової залози. Виявлена кількість KI67-позитивних клітин менше 20 %, що дозволило очікувати розвиток панкреатиту кукси і підтікання панкреатосеаноанастомозу в післяопераційному періоді. Повторна операція: санація та зміцнення анастомозу. Враховуючи, що після першої операції проводилася протипанкреатична терапія, як і очікувалося, концентрація KI67-позитивних клітин у зоні гострого деструктивного запалення ПЗ була більше 20 %. В післяопераційному періоді настало розрішення панкреатиту.

Клінічний приклад. Хворий К., 45 р., перебував на стаціонарному лікуванні в х/о № 1 ХМКЛСНМП з діагнозом геморагічний панкреонекроз. Госпіталізований зі скаргами на болі в епігастрії, правому та лівому підребер'ї, нудоту, блювоту. Хворіє протягом 2-х діб. Дані клініко-біохімічних методів дослідження: Клінічний аналіз крові: Hb-136 г/л, Еритроц.- $4,24 \cdot 10^{12}$, Кольор. пок. - 1,0, Лейкоц. - $16,7 \cdot 10^9$, пал. - 8 %, сегм. - 61 %, еоз. - 1 %, лімф. - 26 %, мон. - 4 %. Біохімічний аналіз крові: Білірубін - 19,0 мкмоль/л, прямий - 10,4 мкмоль/л, непрямий - 8,6 мкмоль/л, білок - 61 г/л, сечовина - 7,46 мкмоль/л, креатинін - 0,062 мкмоль/л, АСТ-49 МО/л (N=5-40 МО/л), АЛТ - 68 МО/л (N=5-40 МО/л), амілаза - 268 МО/л (N<90 МО/л). Дані інструментальних методів дослідження: УЗД ОЧП: Печінка збільшена, структура однорідна, внутрішньопечінкові протоки не розширені, холедох до 0,7 см. Голівка підшлункової залози збільшена до 3,4 см, тіло - 2,2 см, хвіст - 2,6 см, з розмитим контуром, в парапанкреатичній клітковині вільна рідина, вільна рідина в малому тазу. Спіральна комп'ютерна томографія (з контрастуванням тріомбрастом 76 % - 50 мл): Печінка збільшена, структура однорідна. Головка, тіло і хвіст підшлункової залози збільшені в розмірах, без чітких контурів, з наявністю вільної рідини в парапанкреатичній клітковині і формуванням параколичного колектора.

Оперативне втручання в обсязі: Лапаротомія, розтин, санація і дренивання сальникової сумки, дренивання черевної порожнини. Інтраопераційно взята біопсія тіла підшлункової залози: концентрація KI-67-позитивних клітин виявилася нижче 20 % в зоні гострого деструктивного запалення, що дозволило припустити подальше прогресування панкреонекрозу. Післяопераційний період протікав з негативною динамікою і ускладнився арозивною кровотечею та гнійними ускладненнями, з приводу чого виконувалися повторні операції. На повторній операції так само була взята біопсія ділянки підшлункової залози: кількості KI-67-позитивних клітин виявилася вище 20 %, що дало можливість прогнозувати позитивну динаміку і уникнути розвитку післяопераційного панкреатиту.

Таким чином, розроблена методика визначення проліферативної активності в тканині ПЗ шляхом експресії антигену KI-67 дозволяє виділити клітини, що знаходяться в активній фазі

клітинного циклу, що в свою чергу дозволяє уникнути розвитку післяопераційного панкреатиту та ряду інших ускладнень.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб прогнозування розвитку післяопераційного панкреатиту, який здійснюють шляхом дослідження біологічного матеріалу, який **відрізняється** тим, що проводять імуногістохімічне дослідження проліферативної активності тканин підшлункової залози, визначають експресію ядерного антигену KI67, при наявності в зразках тканин ПЗ кількості KI67-позитивних клітин 20 %
- 10 і вище прогнозують позитивну динаміку як при гострому, так і при хронічному панкреатиті, а при оперативних втручаннях на ПЗ - уникнення розвитку післяопераційного панкреатиту, при концентрації KI67-позитивних клітин нижче 20 % в зоні гострого деструктивного запалення ПЗ прогнозують подальше прогресування панкреонекрозу, в т. ч. і після хірургічних втручань з приводу гострого деструктивного панкреатиту; концентрація KI67-позитивних клітин нижче 20 %
- 15 в зоні хронічного запалення ПЗ свідчить про подальше прогресуванні фіброзу ПЗ, в т. ч. і після операцій на ПЗ.

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

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