



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118417** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61B 10/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2017 01252	(72) Винахідник(и):	Жалдак Дар'я Олександрівна (UA), Мелеховець Оксана Костянтинівна (UA), Орловський Віктор Феліксович (UA)
(22) Дата подання заявки:	10.02.2017	(73) Власник(и):	СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.08.2017		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.08.2017, Бюл.№ 15		

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ФІБРОЗНИХ ЗМІН В ПЕЧІНЦІ У ХВОРИХ З НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування фіброзних змін в печінці у хворих з неалкогольною жирковою хворобою печінки шляхом визначення ризиків прогнозування фіброзу печінки на підставі дослідження її функціонального стану та з урахуванням поліморфізму генів. Додатково хворому призначають тест "ФіброМакс" з визначенням показників: α 2-макроглобулін, гаптоглобін, аполіпопротеїн А1, гамма-глутамілтрансспептидаза (ГГТП), загальний білірубін. При урахуванні поліморфізму генів визначають поліморфні варіанти -204A>C (rs 3808607) гена CYP7A1. При генотипах AA та CC прогнозують у хворого появу фіброзних змін в печінці (протягом 3-х років). При гомозиготному варіанті AA гена CYP7A1 стверджують о ризиках прогресування фіброзу печінки (у відсотках): для ступеня F0-F1 - 14,7 %, для ступеня F1 - 17,3 %, для ступеня F1-F2 - 7,3 %, для ступеня F2 - 2 %. При гомозиготному варіанті CC гена CYP7A1 стверджують о ризиках прогресування фіброзу печінки (у відсотках): для ступеня F0-F1 - 13,3 %, для ступеня F1 - 13,3 %, для ступеня F1-F2 - 20 %, для ступеня F2 - 23,3 %, для ступеня F3 - 3,3 %.

UA 118417 U

Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема терапії, гастроентерології та сімейної медицини та може бути використана для визначення ризиків прогресування фіброзу печінки.

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) за останнє десятиліття привернула до себе увагу значної кількості як науковців, так і практикуючих лікарів. З одного боку це пов'язано з накопиченням великої кількості досліджень про патогенетичні механізми розвитку захворювання, а з іншого - збільшенням випадків діагностування захворювання як самостійної нозологічної одиниці або як супутнього. НАЖХП охоплює спектр патологій печінки: жирову дистрофію, жирову дистрофію із запаленням та ушкодженням гепатоцитів - стеатогепатит та фіброз із можливістю прогресії до цирозу і навіть за результатами деяких досліджень - до гепатоцелюлярної карциноми [1]. Дисліпідемія виявляється у 20-80 % хворих з НАЖХП. Поліморфізм -204A>C (rs 3808607) в промоторній зоні гена CYP7A1 впливає на активність холестерин - 7 - альфа - гідролази, що призводить до порушення метаболізму холестерину та жовчних кислот та спричиняє розвиток дисліпідемій [2].

Найближчим аналогом до корисної моделі є спосіб прогнозування НАЖХП у хворих на артеріальну гіпертензію і ожиріння з урахуванням поліморфізму генів (Яринич Ю.М., Сидорчук Л.П., деклараційний патент UA 90194 U від 12.05.2014), при якому прогнозування НАЖХП проводиться на підставі дисліпідемії, гіперглікемії, гіперінсулінемії, гіпоадипонектинемії та структурно-функціональних змін у печінці з додатковим визначенням Pro12Ala поліморфізму гена PPAR-γ, I/D поліморфізму гена ACE та плазмового рівня лептину.

Недоліком найближчого аналога є недостатня ефективність прогнозування, так як не враховується ступінь фіброзу печінки та потребує значних фінансових затрат на проведення всіх досліджень.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб прогнозування фіброзних змін в печінці у хворих з НАЖХП шляхом визначення ризиків прогресування фіброзу печінки з використанням тесту "ФіброМакс" та з урахуванням поліморфних варіантів -204A>C (rs 3808607) гену CYP7A1, що дасть можливість попередити генетично детермінованого розвитку дисліпідемій, які є предикторами розвитку НАЖХП.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб прогнозування фіброзних змін в печінці шляхом визначення ризиків прогнозування фіброзу печінки на підставі дослідження її функціонального стану та з урахуванням поліморфізму, згідно з корисною моделлю, додатково хворому призначають тест "ФіброМакс" з визначенням показників: α2-макроглобулін, гаптоглобін, аполіпопротеїн А1, гамма-глутамілтранспептидаза (ГГТП), загальний білірубін, а при урахуванні поліморфізму генів визначають поліморфні варіанти -204A>C (rs 3808607) гена CYP7A1 і при генотипах AA та CC прогнозують у хворого появу фіброзних змін в печінці (протягом 3-х років), а саме при гомозиготному варіанті AA гена CYP7A1 стверджують о ризиках прогресування фіброзу печінки (у відсотках): для ступеня F0-F1-14,7 %, для ступеня F1-17,3 %, для ступеня F1-F2-7,3 %, для ступеня F2-2 %, тоді як, при гомозиготному варіанті CC гена CYP7A1 стверджують о ризиках прогресування фіброзу печінки (у відсотках): для ступеня F0-F1-13,3 %, для ступеня F1-13,3 %, для ступеня F1-F2-20 %, для ступеня F2-23,3 %, для ступеня F3-3,3 %.

Використання заявленого способу з усіма суттєвими ознаками, включаючи відмінні, дозволяє оцінити ризики прогресування фіброзу печінки (від F0 до F3 ступеня морфологічних змін) за допомогою тесту "ФіброМакс" з урахуванням індивідуального генотипу поліморфних варіантів гену CYP7A1, асоційованим з розвитком дисліпідемій, причому носіїв "патологічного" генотипу CC гена CYP7A1 можна віднести до груп із високим ризиком прогресування фіброзних змін в печінці, що в свою чергу, дасть можливість призначення своєчасного та адекватного лікування та попередити подальше прогресування захворювання

Запропонований спосіб вирішується наступним чином.

Хворому з НАЖХП призначається тест "ФіброМакс" з визначенням наступних показників: α2-макроглобулін, гаптоглобін, аполіпопротеїн А1, гамма-глутамілтранспептидаза (ГГТП), загальний білірубін, та методом полімеразно ланцюгової реакції (ПЦР) встановлюється поліморфний варіант гена CYP7A1. Тест "ФіброМакс" розраховується за наступною формулою:

$$f = 4.467 \times \log[\alpha 2 \text{ макроглобулін (г/л)}] -$$

$1.357 \times \log[\text{гаптоглобін (г/л)}] + 1.017 \times \log[\text{ГГТП (Од/л)}] + 0.0281 \times [\text{вік (років)}] + 1.737 \times \log[\text{білірубін (ммоль/л)}] - 1.184 \times [\text{аполіпопротеїн А1 (г/л)}] + 0.301 \times \text{стать (ж=0, ч=1)} - 5.540$ з використанням програмного забезпечення (Materialise Ukraine) та у відповідності до системи METAVIR встановлюються наступні ступені фіброзу печінки: F0 - (0,00-0,21), F0-F1 - (0,22-0,27), F1 - (0,28-0,31), F1-F2 - (0,32-0,48), F2 - (0,49-0,58), F3 - (0,59-0,72), F3-F4 - (0,7300,74), F4 - (0,75-1,00). Методом ПЦР визначаються поліморфні варіанти -204A>C (rs 3808607) гена CYP7A1: AA, AC або CC.

При динамічному спостереженні за хворими протягом 3-х років в групі пацієнтів з НАЖХП було встановлено, що для носіїв гомозиготного варіанта AA гена CYP7A1 було характерно достовірно високий рівень загального холестерину (ХС) та ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) ($p < 0,001$), а рівень тригліцеридів (ТГ) та ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) знаходились в межах норми ($p < 0,001$). Ризики прогресування фіброзу печінки розраховувались як відношення кількості хворих, які знаходяться на конкретній стадії розвитку захворювання, до сумарного числа пацієнтів у виборці незалежно від ступеня розвитку морфологічних змін. Тому, для пацієнтів з генотипом AA ризики прогресування фіброзу печінки через 3 роки склали (у відсотках, %): для ступеня F0-F1-14,7 %, для ступеня F1-17,3 %, для ступеня F1-F2-7,3 %, для ступеня F2-2 %. Носії гомозиготного варіанту CC гену CYP7A1 мали високий рівень загального ХС та ТГ (в порівнянні з носіями генотипу AA), рівень ЛПНЩ знаходився в межах норми та не відрізнявся від показників пацієнтів з генотипом AA - $p > 0,05$, а рівень ЛПВЩ був значно знижений. Ризики прогресування фіброзних змін в печінці через 3 роки склали: для ступеня F0-F1-13,3 %, для ступеня F1-13,3 %, для ступеня F1-F2-20 %, для ступеня F2-23,3 %, для ступеня F3-3,3 %.

Приклад конкретного виконання.

Хворий П., 41 роки (а/к 1178965) звернувся до лікаря загальної практики-сімейної медицини КУ "СМКП № 1" для проведення планового щорічного обстеження. Скарги відсутні. Об'єктивно при огляді: підвищеного живлення, зріст 162 см, маса 89 кг, індекс маси тіла (ІМТ) - 34 кг/м². При аналізі результатів біохімічного аналізу крові було виявлено: аланінамінотрансфераза (АЛТ) - 90 Од/л, аспартатамінотрансфераза (АСТ) - 62 Од/л, ГГТП - 157 Од/л, загальний ХС - 7,27 ммоль/л, ТГ - 7,96 ммоль/л, ЛПНЩ - 2,35 ммоль/л. За результатами ультразвукового дослідження органів черевної порожнини - Жировий гепатоз II ступеня, дифузні зміни печінки. Після більш цільового збору анамнезу - спиртних напоїв не вживав, вірусний гепатит В та С заперечував, дієтичного харчування не дотримувався - хворому був встановлений попередній діагноз: Неалкогольна жирова хвороба печінки: жирова дистрофія печінки. Для оцінки фіброзних змін печінки хворому був призначений та розрахований тест "ФіброМакс": $\alpha 2$ -макроглобулін - 1,8 г/л, гаптоглобін - 1,67 г/л, аполіпопротеїн А1-1,49 г/л, ГГТ - 157 Од/л, загальний білірубін - 17,6 ммоль/л. Згідно з формулою був встановлений ступінь фіброзу печінки F0-F1-0,237. За допомогою ПЦР був виявлений гомозиготний генотип CC гена CYP7A1. На підставі додаткових методів обстеження хворому був встановлений діагноз: Неалкогольна жирова хвороба печінки, ступінь фіброзу F1-F2 (тест "ФіброМакс"). З урахуванням наших даних, ризик прогресування фіброзу печінки за 3 роки повинен становити 20 %. Хворому була призначена протягом 1 місяця медикаментозна терапія (гепатопротектор, препарат омега-3 поліненасичених жирних кислот) з дотриманням дієтичного харчування. Контроль був проведений через 1 місяць лікування: АЛТ - 56 Од/л, АСТ-32 Од/л, ГГТП - 67 Од/л, загальний ХС - 5,6 ммоль/л, ТГ - 3,10 ммоль/л, ЛПНЩ - 3,4 ммоль/л, тест "ФіброМакс": $\alpha 2$ -макроглобулін - 1,8 г/л, гаптоглобін - 1,67 г/л, аполіпопротеїн А1-1,49 г/л, ГГТ - 67 Од/л, загальний білірубін - 12 ммоль/л. Згідно з формулою був встановлений ступінь фіброзу F0-0,141.

Хворий був взятий на "Д" облік, були дані рекомендації та призначено повторне контрольне обстеження через півроку. Хворий звернувся лише через 2 роки вже зі скаргами на надлишкову вагу тіла, дискомфорт в правому підребер'ї та невмотивовану загальну слабкість. Результати обстеження показали такі зміни: АЛТ - 104 Од/л, АСТ-46 Од/л, ГГТП - 202 Од/л, загальний ХС - 8,57 ммоль/л, ТГ - 3,10 ммоль/л, ЛПНЩ - 4,17 ммоль/л, тест "ФіброМакс": $\alpha 2$ -макроглобулін - 1,9 г/л, гаптоглобін - 1,8 г/л, аполіпопротеїн А1-1,5 г/л, ГГТ - 202 Од/л, загальний білірубін - 27,6 ммоль/л. Згідно формули був встановлений ступінь фіброзу F1-F2-0,342. Отже, протягом першого року дотримання комплаєнсу у хворого було досягнуто покращення структурно-функціональних показників печінки. Але, протягом наступних 2-х років без дотримання комплаєнсу відбулась реалізація ризику прогресування фіброзних змін в печінці.

Перевага даного способу прогнозування фіброзних змін в печінці у хворих з НАЖХП у порівнянні найближчим аналогом є можливість попередити генетично детермінованого розвитку дисліпідемій, які є предикторами розвитку НАЖХП.

Таким чином, корисна модель дозволяє оцінити ризик прогресування фіброзу печінки у хворих з НАЖХП.

Джерела інформації:

1. Nonalcoholic fatty liver disease: an overview of current insight in pathogenesis, diagnosis and treatment / Tim CMA Schreuder, Bart J Verwer, Carin MJ van Nieuwkerk et al. - World Journal of Gastroenterology, 2008. - Vol. 14 (16). - P. 2474-2486.

2. De Castro-Oros I., Pampin S., Cofan M. et. al. Promoter variant-204A>C of the cholesterol 7alpha-hydroxylase gene: association with response to plant sterols in humans and increased transcriptional activity in transfected HepG2 cells. - Clin. Nutr., 2011. - Vol.30. - P. 239-246.

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування фіброзних змін в печінці у хворих з неалкогольною жирковою хворобою печінки шляхом визначення ризиків прогнозування фіброзу печінки на підставі дослідження її функціонального стану та з урахуванням поліморфізму генів, який **відрізняється** тим, що

10 додатково хворому призначають тест "ФіброМакс" з визначенням показників: α 2-макроглобулін, гаптоглобін, аполіпопротеїн А1, гамма-глутамілтранспептидаза (ГГТП), загальний білірубін, а при урахуванні поліморфізму генів визначають поліморфні варіанти -204A>C (rs 3808607) гена CYP7A1 і при генотипах AA та CC прогнозують у хворого появу фіброзних змін в печінці (протягом 3-х років), а саме при гомозиготному варіанті AA гена CYP7A1 стверджують о ризиках

15 прогресування фіброзу печінки (у відсотках): для ступеня F0-F1 - 14,7 %, для ступеня F1 - 17,3 %, для ступеня F1-F2 - 7,3 %, для ступеня F2 - 2 %, тоді як при гомозиготному варіанті CC гена CYP7A1 стверджують о ризиках прогресування фіброзу печінки (у відсотках): для ступеня F0-F1 - 13,3 %, для ступеня F1 - 13,3 %, для ступеня F1-F2 - 20 %, для ступеня F2 - 23,3 %, для ступеня F3 - 3,3 %.

20

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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