



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 62790

(13) A

(51) 7 G01N33/497

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ ПОРУШЕННЯ ДЕТОКСИКАЦІЙНОЇ ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ

1

2

(21) 2003054963

(22) 30 05 2003

(24) 15 12 2003

(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р.

(72) Шипупін Вадим Петрович, Чернявський Володимир Володимирович, Міхньова Наталія Миколаївна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб оцінки ступеня порушення детоксикаційної функції печінки, який передбачає проведення навантажувальних проб, який відрізняється тим, що до призначення лікування, а також через 3 та 6 місяців після його закінчення проводять  $^{13}\text{C}$ -метацетиновий дихальний тест, отримують десять

дихальних проб початкову - до вживання тестового сніданку, ще шість проб - протягом першої години /по одній кожні 10 хвилин/ і три - протягом другої години /по одній кожні 20 хвилин/, вимірюють концентрацію  $^{13}\text{CO}_2$  у повітрі, що видихається, і по сумарній концентрації  $^{13}\text{CO}_2$  в дихальних пробах через 120 хвилин оцінюють ступінь порушення детоксикаційної функції печінки і при величині сумарної концентрації, більшій за 35 %, діагностують стимульовану функцію печінки, при 20-35 % - нормальну функцію печінки, при 10-20 % - помірне зниження функції печінки без циротичних змін, при 2-10 % - виражене ураження функції печінки з циротичними змінами і меншій за 2 % - тяжке порушення функції печінки з циротичними змінами

Винахід, що заявляється, стосується медицини, а саме клінічної гастроентерології. Призначений для застосування у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки для оцінки її детоксикаційної функції, яка, як відомо, порушується при загинбелі гепатоцитів в результаті гепатотоксичної дії вірусів, хімічних чинників (алкоголю, деяких ліків, отрут, тощо), а особливо страждає при цирозі.

До хронічних дифузних захворювань печінки (ХДЗП) відноситься велика група захворювань з різною етіологією, патогенезом та клінічним перебігом, до них відносять як самостійні первинні ураження печінки з відомою етіологією, наприклад, вірусні гепатити так і вторинні ураження печінки, які виникають внаслідок гострих та хронічних отруєнь, нерационального харчування, порушень обміну речовин, впливу різних інфекцій та інших факторів. Вважається, що у середньому від 15 до 30% всього населення планети страждає на протяжні свого життя патологією печінки і захворюваність має стійку тенденцію до зростання. На ХДЗП страждають в основному люди молодого та середнього віку, захворювання характеризується довгим перебігом з частими рецидивами, нерідко закінчуються незворотними ураженнями - цирозом та первинним раком печінки, що є причиною втрати працездатності та інвалідизації хворих [1, 2].

Тільки від наслідків інфікування вірусами гепатитів щорічно у світі вмирає не менш ніж 2млн людей. Показники захворюваності органів травного каналу на Україні підвищилися за останні 5 років на 42,3%. Розповсюдженість хронічного гепатиту на 100тис. населення становила 303,6 у 1995 році та 440,7 у 1999р., розповсюдженість цирозу печінки збільшилась з 70,1 (у 1995р.) до 88,6 (у 1999р.). Захворюваність хронічними гепатитами за останні 5 років збільшилась з 40,3 (у 1995р.) до 50,5 (у 1999р.), а цирозом печінки за цей період - з 13,5 до 17,2. Але на жаль реальні показники значно вищі, тому що не всі пацієнти звертаються за медичною допомогою [7]. Ми знаємо про існування на сьогоднішній день багатьох чинників вірусних гепатитів А, В, С, D, E, F, G, TTV, SEN. В наш час доведена можливість хронізації чотирьох з них - В, С, D, G [1, 7, 8]. Цим визначається велике соціальне та економічне значення цієї патології. Таким чином, все вище перераховане дозволяє розглядати проблему ХДЗП як одну з найбільш актуальних проблем сучасної медицини. Частіше симптоми, які вказують на ураження печінки бувають стерними, а дані лабораторних методів дослідження не дають можливості повністю оцінити ступінь важкості захворювання та не можуть дати оцінку характеру перебігу та прогнозування захворювання. Порушення детоксикаційної функції печі-

(13) A

(11) 62790

(19) UA

нки призводить до накопичення в крові аміаку, токсична дія якого на ЦНС призводить до грізного, часто смертельного ускладнення - печінкової коми. Враховуючи те, що наявні на сьогоднішній день в Україні лабораторні та інструментальні методи не дають можливості встановити порушення детоксикаційної функції печінки на початкових стадіях, то створення нового методу виявлення печінково-клітинної недостатності і визначення її

ступеня - це надзвичайно актуальна проблема, важлива для великої кількості хворих.

Відомий спосіб діагностики порушення функції печінки - це комплексна її оцінка по критерію Child-Pugh за допомогою біохімічного дослідження крові і клінічних ознак, а також проведення навантажувальних проб з певними індикаторними речовинами, які відображають стан детоксикаційної функції органу [5, 6].

Таблиця 1

Визначення ступеню важкості цирозу печінки (індекс Child-Pugh)

Бали	Білірубін крові, мг/дл	Альбумін сироватки крові, г/дл	Протромбіновий час (індекс, %)	Печінкова Енцефалопатія, Стадія	Асцит
1	<2	>3,5	1-4(80-60)	Немає	немає
2	2-3	2,8-3,5	4-6(60-40)	I-II	незначний
3	>3	<2,8	>6(<40)	III-IV	важкий, напружений

Цифрові еквіваленти показників сумуються, що дозволяє віднести хворого до одного з класів по Child-Pugh: клас А - від 5 до 6, клас В - від 7 до 9, клас С->9. Ступінь важкості ЦП по Child-Pugh високо корелює із показниками виживання хворих та результатами трансплантації печінки, тривалість життя хворих, які відносяться до класу А складає в середньому 6-7 років, до класу С-2 місяці [4,9].

Найближчим аналогом - прототипом традиційно вважається методика навантажувальних проб [4,8], загальним принципом якої є внутрішньовенне введення індикаторної речовини з наступним визначенням її концентрації в сироватці крові через певний час.

1. Бромсульфалеїнова проба (БСФ) по Розенталю і Уайту. Норма через 45 хвилин після введення в сироватці крові залишається не більше 5% барвника (6% та більше вказує на патологію).

2. Індоканова (вофавердинова, увердинова) проба. Через 20 хвилин після введення в сироватці крові залишається не більше 4% барвника. Період напіввиведення - 3,56хв.

3. Антипіринова проба (в модифікації Геллера). Норма кліренс -  $36,8 \pm 1,4$  мл/хв, період напіввиведення -  $12,7 \pm 4,64$  хв.

Результати тестів залежать від стану детоксикаційної функції печінки, дози введеної речовини, дотримання методики дослідження.

Основні недоліки вказаних методів - це їх інвазивність, відсутність доведеної кореляції з загальноприйнятими критеріями Child-Pugh, недостатня чутливість, неможливість диференціювати циротичні зміни від нециротичних [8]. Такі проби проводяться лише в одиничних лабораторіях з науковою метою в обмежених кількостях і не можуть бути рекомендовані в якості скринінгових рутинних методів.

Задача, яка вирішується у даному винаході полягає у створенні способу оцінки ступеню порушення детоксикаційної функції печінки шляхом визначення показників, які дають змогу оцінити функціональну активність системи цитохрому Р450 гепатоцитів.

Технічний результат, який досягається полягає у можливості кількісної оцінки порушення детоксикаційної функції печінки.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі оцінки стану детоксикаційної функції печінки, який включає проведення навантажувальних проб, згідно винаходу, до призначення лікування, а також через 3 та 6 місяців після його закінчення проводять  $^{13}\text{C}$ -метацетиновий дихальний тест, отримують десять дихальних проб початкову, до вживання тестового сніданку, а також ще шість проб на протязі першої години (по одній кожні 10 хвилин) і три - на протязі другої години (по одній кожні 20 хвилин), вимірюють концентрацію  $^{13}\text{CO}_2$  у повітрі, що видихається.

Під час виконання тесту необхідно отримати десять дихальних проб початкову, до вживання тестового сніданку (75мг  $^{13}\text{C}$ -метацетина, який розчинений у 200мл фруктового чаю без цукру), а також ще шість проб на протязі першої години (по одній кожні 10 хвилин) і три - на протязі другої години (по одній кожні 20 хвилин). Сумарна концентрація  $^{13}\text{CO}_2$  в дихальних пробах через 120 хвилин оцінюється наступним чином:

- більше 35% - стимульована функція печінки,
- 20-35% - нормальна функція печінки,
- 10-20% - помірне зниження функції печінки без циротичних змін,
- 2-10% - виражене ураження функції печінки з циротичними змінами,
- менш 2% - тяжке порушення функції печінки з циротичними змінами,

Спосіб здійснюється наступним чином: пацієнт отримує марковані мішечки зі спеціальними клапанами, на які приклеєні кусочки лейкопластиру з вказанням часу видиху та прізвисьмом пацієнта. Всі мішечки після видиху приєднуються до відповідних каналів інфрачервоної спектроскопічної системи IRIS і проводиться вимір концентрації  $^{13}\text{CO}_2$  у всіх мішечках. Таким чином, загальна тривалість тесту становить 2 години. Тривалість аналізу дихальних проб займає приблизно 40 хвилин [7,9-13].

Збільшення  $^{13}\text{CO}_2$  оцінюється як сумарна доза (sum dos %) і як відновлення в % від призначеної дози прийнятої від ендогенної продукції  $\text{CO}_2$ .

9ммоль/кг/годину чи (5млмоль/хвил/м<sup>2</sup> за Шнайдером) [11-13]

Призначення пацієнтам спіронолактону, фуросеміду, лактулози не взаємодіє з окислювальним метаболізмом метацетину за допомогою цитохрому Р450 І-А2. Хворі не повинні вживати перед проведенням тесту парацетамол і не курити, тому що дані субстрати являються індукторами цієї фракції цитохрому і можуть давати невірну оцінку результатів тесту [10]. Рівень деметилування і, відповідно, показники метацетинового тесту будуть знижені у хворих, які перед дослідженням приймали дисульфрам (препарат для лікування алкоголізму), який, блокуючи ферментну біотрансформацію алкоголю, призводить до накопичення ацетальдегіду в крові після вживання алкоголю і розвитку характерних токсичних ефектів.

Хворим із респіраторними захворюваннями і з захворюваннями шлунково-кишкового тракту, які можуть бути причиною мальабсорбції, тест не повинен проводитись [12].

Інтерпретація результатів. Результати, отримані при аналізі, представляють у графічній формі. Висновки про наявність чи відсутність порушень функції печінки роблять на підставі порівняння кривої сумарної концентрації <sup>13</sup>СО<sub>2</sub> до закінчення 120 хвилини дослідження з кривими, які були отримані при обстеженні здорових добровольців, які відображають верхню та нижню межі норми.

На фіг 1 представлена крива сумарної концентрації <sup>13</sup>СО<sub>2</sub> при проведенні <sup>13</sup>С-метацетинового дихального тесту у пацієнта без печінкової недостатності.

Результат <sup>13</sup>С-метацетинового дихального тесту у пацієнтів з нормальним функціональним станом печінки. Сумарна концентрація <sup>13</sup>СО<sub>2</sub> наприкінці 120 хвилини-25%.

У пацієнтів, які страждають захворюваннями, що супроводжуються печінковою недостатністю, сумарна концентрація <sup>13</sup>СО<sub>2</sub> суттєво знижена на протязі всього дослідження (див фіг 2).

Результат <sup>13</sup>С-метацетинового дихального те-

сту у хворого з циротичним ураженням печінки. Сумарна концентрація <sup>13</sup>СО<sub>2</sub> наприкінці 120 хвилини тесту становить 5%, що відповідає Child В стадії ЦП.

Після оцінки всіх десяти дихальних проб та порівняння результатів дають висновок про а) нормальну функцію печінки, б) патологічну функцію, яка не пов'язана з глибоким порушенням структури органу, в) патологічну функцію, яка пов'язана з глибоким порушенням структури печінки, еквівалентним цирозу печінки, г) функції, індуковані вживанням різного роду токсичних речовин.

Запропонованим способом Нами було обстежено 170 хворих з різними клінічними формами ХДЗП та тривалістю хвороби до 5 років та більше. Діагноз стеатозу був встановлений у 63 хворих - І група, хронічний гепатит у 49 - II група, цироз печінки у 38 - III група. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб.

Серед обстежених чоловіків було 105, а жінок - 65. Всім хворим було проведено повне клініко-лабораторне та інструментальне обстеження. У всіх хворих був ретельно зібраний анамнез хвороби: початок та перебіг хвороби, зв'язок з перенесеним інфекційним гепатитом, супутні та перенесені раніше хвороби, наявність чи відсутність ремісій, попереднє лікування.

Дихальний тест проводився хворим одноразово для визначення ступеню ураження печінки, оцінки прогнозу та тактики лікування. А також.

Результати, отримані при аналізі, представляють у графічній формі. Висновки про наявність чи відсутність порушень функції печінки роблять на підставі порівняння кривої сумарної концентрації <sup>13</sup>СО<sub>2</sub> до закінчення 120 хвилини дослідження з кривими, які отримані при обстеженні здорових добровольців, які відображають верхню та нижню межі норми.

У таблиці 2 наведені показники нормальної та патологічної концентрації <sup>13</sup>СО<sub>2</sub> та його відношення з критеріями Child-Pugh і масою функціонуючих гепатоцитів.

Таблиця 2

Сумарна концентрація <sup>13</sup> СО <sub>2</sub> % до закінчення 120 хвилини	Критерії Child-Pough	Маса, функціонуючих гепатоцитів, %
20-35	Норма	100
10-20	Child A	50-100
2-10	Child B	20-50
<2	Child C	<20

Проведені дослідження показали, що у хворих із змінами в клініко-лабораторних та інструментальних обстеженнях, таких як підвищення рівня АлаТ, АсАт, білірубину, диспротеїнемії, наявність серологічних маркерів вірусного гепатиту, змін при проведенні УЗД дослідження (збільшення розмірів печінки, ознак жирового гепатозу, портальної гіпертензії, розширення v portae, v lienalis, асцит), відмічається зниження детоксикаційної функції печінки у цих хворих. В 96% відмічалась кореляція з критеріями Child Pugh. Також кореляція в зниженні показників дихального тесту відмічалась у хворих з ознаками жирового гепатозу неінфекційного генезу.

Серед обстежених пацієнтів у 56 була визначена нормальна детоксикаційна функція, у 65 хворих (Child A)-помірне зниження детоксикаційної функції печінки без циротичних змін, у 33 (Child B)- виражене порушення детоксикаційної функції печінки із циротичними змінами при 20-50% функціонуючих печінкових клітин. Стадія Child C була виявлена у 16 осіб.

Чутливість та специфічність становлять відповідно 95 та 76%. Проведені дослідження дозволяють зробити висновок, що <sup>13</sup>С-метацетиновий дихальний тест є високочутливим і специфічним тестом визначення наявності порушення детоксикаційної функції печінки і визначення його ступеня.

Він не потребує повторних досліджень крові, його беззаперечними перевагами є безпека для пацієнтів, простота виконання, висока чутливість і специфічність, що дозволяє використовувати його як у клінічній практиці, так і для наукових досліджень

Спосіб був випробуваний на кафедрі факультетської терапії №1 Національного медичного університету і рекомендований для практичного використання

#### ЛІТЕРАТУРА

1 В Г Передерій, Н И Швець, С М Ткач и др Место дыхательных тестов в диагностике заболеваний органов пищеварения // Сучасна гастроентерологія і гепатологія - 2000 - №1 - С 21-25

2 В Г Передерій, С М Ткач, О В Передерні, О В Швець Роль и место дыхательных тестов в гастроэнтерологии // Здоровье Украины - 2000 - №4 - С 30-31

3 В П Шипулин Современные подходы к диагностике и лечению хронического гепатита С // Здоровье Украины - 2000 - №9 - С 19

4 Заболевания органов пищеварения / И И Дегтярева, - К "Демос", 1999, 312с

5 Клинические лекции по внутренним болезням в 2-х томах - Т 2 / Гастроэнтерология, гематология, нефрология / В Г Передерій, С М Ткач - К Д998 - 574с

6 Н В Харченко Хронические гепатиты: достижения, нерешенные проблемы // Сучасна гастроентерологія і гепатологія - 2000 - №1 - С 50-54

7 О В Передерій Дыхательные тесты в гастроэнтерологии // Лабораторна діагностика - 1998 - 3,(5) - С 48-49

8 Хронические гепатиты О Я Бабак - Блиц-Принт, Киев, 1999 - 208с

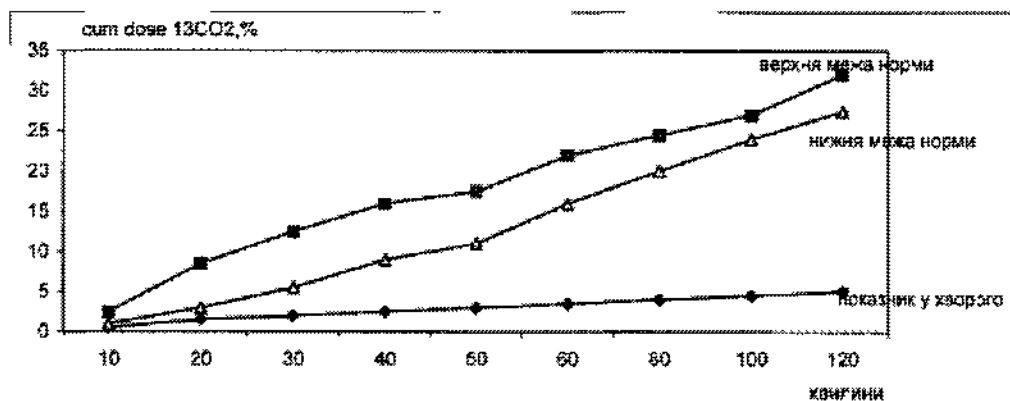
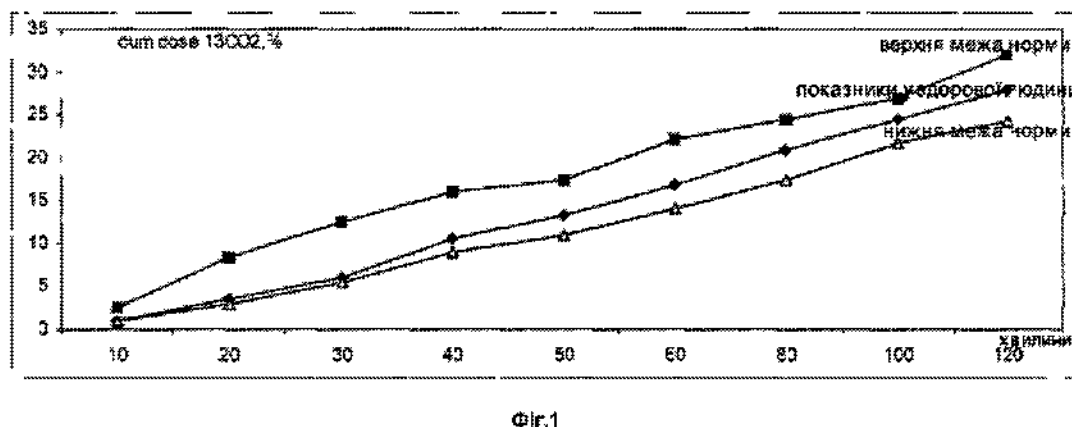
9 Шипулин В П, Михнева Н Н, Чернявський В В Діагностичні можливості застосування  $^{13}\text{C}$ -метацетинового дихального тесту у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки // Клінічна лабораторна діагностика 2001, №1, с 13-18

10 B Bfaffenbach, O Gutze et al C-13 methacetin breath test with an isotope-selective nondispersive infrared spectrometer for the quantitative noninvasive analysis of hepatic functions in liver cirrhosis // Deutsche Medizinische Wochenschrift - 123, (49) - 1998 1467-1471

11 Lara Baruaque S et al  $^{13}\text{C}$ -phenylalanine and  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in chronic liver disease // Dig Liver Dis 2000, Apr, 32 (3) P 226-232

12 Matsumoto K, M Suehiro et al  $^{13}\text{C}$ -Metacetin breath test for evaluation of liver damage // Digestive Diseases and Sciences, 1987, V 32, N4, P 344-348

13 B Braden, M Haisch, L P Daun, et al Clinically feasible isotope technique at a reasonable price analysis of  $^{13}\text{CO}_2/\text{CO}_2$  - abundance in breath samples with a new isotope selective nondispersive infrared spectrometer // Z Gastroenterol - 1994 - V 32 - P 675-678



Фіг.2

