



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **72181**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 00891**

(22) Дата подання заявки: **30.01.2012**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.08.2012**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.08.2012, Бюл.№ 15**

(72) Винахідник(и):

**Присяжнюк Василь Петрович (UA),
Волошин Олександр Іванович (UA),
Присяжнюк Петро Васильович (UA)**

(73) Власник(и):

**БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ,
пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Чернівецька
обл., 58002, Україна (UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ЦИРОЗ ПЕЧІНКИ НЕВІРУСНОГО ПОХОДЖЕННЯ У ДИНАМІЦІ ЛІКУВАННЯ

(57) Реферат:

Спосіб визначення стану фіброзу печінки у хворих на цироз печінки невірусного походження у динаміці лікування включає загальноприйняте дослідження діагностичними методами (загальний та біохімічний аналіз крові, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини тощо). Пацієнтам з метою визначення змін стану фіброзу печінки до та після проведеного лікування додатково проводять визначення рівня трансформуючого фактора росту- β_1 у крові.

UA 72181 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до гепатології та може бути використаний у визначенні змін стану фіброзу у хворих на цироз печінки (ЦП) невірусного походження.

Загальновідомо, що цитокіни є середниками апоптозу та некрозу гепатоцитів, відіграючи важливу роль у процесах запалення, холестазу та фіброзу печінкової тканини. Характерною рисою фіброгенезу є різноспрямованість (одна клітина виробляє декілька цитокінів) і поліпотентність (різні клітини впливають на одну функцію) клітин печінки. Стійка гіперсекреція прозапальних цитокінів у печінці - як результат хронічного запалення - призводить до розвитку таких захворювань, як гепатит та ЦП. Отже, прозапальні цитокіни є важливими чинниками у розвитку захворювань печінки, водночас протизапальні цитокіни відіграють вагомую роль у її регенерації, тому пригнічення останніх може негативно позначитися на відновленні печінкової тканини. Проте, роль окремих цитокінів у процесі фіброзування печінкової тканини, особливо при ЦП, недостатньо вивчена.

Аналогом способу визначення стану фіброзу печінки у хворих на цироз печінки невірусного походження у динаміці лікування, що пропонується, є спосіб діагностики декомпенсованого цирозу печінки (47896 МПК (2006) A61B10/00 Інститут хірургії та трансплантології АМН України (UA), Гомоляко Ірина Володимирівна (UA); Янченко Віталій Ігорович (UA); Тумасова Катерина Петрівна (UA); Дєєв Валерій Аркадійович (UA); Донцова Лариса Степанівна (UA). Недоліками аналога є необхідність виконання пункції біопсії печінки, що є інвазивним методом та важкість визначення змін стану фіброзу печінки у динаміці комплексного лікування таких хворих.

Прототипом розробленого методу є спосіб визначення стану розвитку цирозу печінки у хворого на хронічний гепатит С (31300 МПК (2006) G01N33/50, A61B10/00 Одеський державний медичний університет (UA) Нікітін Євген Васильович (UA); Сервецький Костянтин Леонідович (UA); Чабан Тетяна Володимирівна (UA). Недоліком прототипу є те, що у даному способі не передбачена можливість комплексної оцінки стану фіброзу печінки у динаміці лікування хворих на ЦП.

Нами пропонується рішення, що усуває вказані недоліки.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб визначення змін стану фіброзу у хворих на ЦП невірусного походження в динаміці комплексного лікування таких хворих шляхом додаткового дослідження у комплексній діагностичній схемі таких пацієнтів вмісту трансформуючого фактора росту- β_1 (TGF- β_1), вміст якого прямо корелює із активністю біохімічних маркерів цитолітичного, холестатичного та мезенхімально-запального синдромів.

Для вирішення поставлених задач додатково до загальноприйнятої діагностичної програми (загальний та біохімічний аналіз крові, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини тощо) хворих на ЦП невірусного походження досліджували рівень TGF β , у плазмі крові методом імуноферментного аналізу за допомогою набору реактивів для визначення вмісту людського TGF- β_1 виробництва компанії "Bender MedSystems GmbH" (Австрія).

Достовірність змін показників у динаміці лікування у разі нормального розподілу у вибірках визначали за парним критерієм Стьюдента, коли ж розподіл даних у вибірці відрізнявся від нормального, користувались критерієм Вілкоксона. Достовірно вважали ймовірність помилки менше 5 % ($p < 0,05$). Кореляційний аналіз у випадку нормального розподілу даних проводили використовуючи метод Пірсона, у випадку розподілу даних, відмінного від нормального, користувались методом Спірмена. Кореляційний зв'язок із силою $r \leq 0,25$ розцінювався як слабкий, із силою $0,25 < r < 0,75$ - середньої сили та $r \geq 0,75$ - сильний кореляційний зв'язок.

Апробацію запропонованого способу проведено на кафедрі пропедевтики внутрішніх хвороб Буковинського державного медичного університету та на базі гастроентерологічних відділень обласної клінічної лікарні та міської клінічної лікарні № 3 м. Чернівці. Визначення вмісту TGF- β_1 у плазмі крові разом із загальним та біохімічним аналізом крові та ультразвуковим дослідженням органів черевної порожнини проведено у 48 хворих на ЦП не вірусного походження та 8 практично здорових волонтерів (контрольна група).

Встановлено, що у пацієнтів усіх вікових груп встановлений прямий кореляційний зв'язок середньої сили між концентрацією TGF- β_1 та вмістом загального білірубину у крові: для хворих I групи ($r = 0,74$, $p < 0,05$), для II групи ($r = 0,49$, $p < 0,05$), для III групи ($r = 0,70$, $p < 0,05$). Такі ж кореляційні зв'язки виявлені і для концентрації прямого білірубину: для хворих I групи він був сильним ($r = 0,79$, $p < 0,05$), для пацієнтів зрілого та літнього віку - середньої сили ($r = 0,48$, $p < 0,05$ та $r = 0,55$, $p < 0,05$ відповідно). Для пацієнтів цієї групи характерні також прямий кореляційний зв'язок середньої сили між концентрацією TGF- β_1 й активністю аспартатамінотрансферази (АсАТ) ($r = 0,72$, $p < 0,05$), сильні прямі кореляційні зв'язки між вмістом TGF- β_1 та активністю аланінамінотрансферази (АлАТ) ($r = 0,85$, $p < 0,05$) і гамаглутамілтранспептидази (ГГТП) ($r = 0,84$, $p < 0,01$). Для пацієнтів зрілого та літнього віку виявлений кореляційний зв'язок середньої сили між концентрацією цитокіну та активністю ГГТП ($r = 0,65$, $p < 0,05$ та $r = 0,61$, $p < 0,05$ відповідно).

Встановлені кореляційні зв'язки між вмістом TGF- β_1 та біохімічними маркерами цитолітичного, холестатичного та мезенхімально-запального синдромів вказують на активну роль цитокіну у цих процесах та можуть бути використані з метою оцінки зміни у активності цих синдромів у динаміці комплексного лікування хворих на ЦП.

5 Спільними ознаками запропонованої корисної моделі та прототипу є те, що хворим із метою визначення стану фіброзу печінки використовували визначення вмісту TФР- β_1 у плазмі крові.

Відмінними ознаками корисної моделі від прототипу є те, що пацієнтам таке визначення проводили спільно із комплексним дослідженням біохімічних маркерів цитолітичного, холестатичного та мезенхімально-запального синдромів двічі, до та після проведеного лікування, а також те, що динаміка вмісту TФР- β_1 досліджувалась у хворих на ЦП (у прототипі вивчався стан фіброзу печінки у хворих із хронічним гепатитом асоційованим із вірусом гепатиту С), в яких явища фіброзування печінки є найбільш вираженими, а всі терапевтичні зусилля на їх зменшення є дуже важливими в аспекті оцінки ефективності лікувальних заходів та покращання прогнозу подальшого перебігу захворювання. Відмінності у методах визначення стану фіброзу печінки використаних у способі, що пропонується на прототипі вказані у таблиці 1.

Таблиця 1

Відмінності у методах визначення стану фіброзу
печінки використаних у способі, що пропонується та прототипі

Діагностичні методи	Спосіб, що пропонується	Прототип
Клінічне обстеження	+	+
Біохімічний аналіз крові	+	+
Визначення вмісту TФР- β_1 у крові	+	+
Повторне визначення вмісту TФР- β_1 після лікування	+	-
Визначення стану фіброзу у хворих на цироз печінки	+	-

Теоретичне підґрунтя для використання способу.

Унаслідок пошкодження та руйнування гепатоцитів при різних патологічних станах виділяються різноманітні біологічно активні речовини, з-поміж яких окремі здатні активувати зірчасті клітини Іто. Серед них TGF- β_1 , якому належить провідна роль в активації зірчастих клітин. Збільшення вмісту TGF- β_1 прямо корелює з концентрацією білок зв'язаного оксипроліну, який є маркером активності фіброгенезу у печінці. Внаслідок їхнього впливу зірчасті клітини виходять зі стану спокою і проходять низку перетворень. На першому етапі (ініціація) зірчасті клітини втрачають депо ретиноїдів і починають секретувати TGF- β_1 , який відіграє вирішальну роль у подальшій аутоактивації зірчастих клітин. Під його впливом клітини Іто мігрують до ділянок запалення. Наступний етап (етап закріплення) супроводжується перетворенням зірчастих клітин у міофібробласти - клітини видовженої форми, які містять фібрили альфа-актину, що надає їм можливість скорочуватись. Ці клітини також здатні секретувати TGF- β_1 та виробляти елементи позаклітинного матриксу печінки.

TGF- β ділять на три ізоформи (TGF- β_1 , TGF- β_2 та TGF- β_3) та виявляє свої властивості опосередковано через активацію цитоплазматичних середників Smad, які модулюють транскрипцію генів-мішеней, у тому числі генів проколагена I і III типів. Зокрема, Smad 2 та 4 стимулюють фіброгенез, тоді як Smad 7, за принципом зворотного негативного зв'язку блокує передачу сигналу від рецепторів TGF- β_1 до зірчастих клітин, гальмуючи його. TGF- β бере участь у процесі фіброгенезу у печінці шляхом регулювання синтезу фібронектину, а механізми, які лежать в основі цього процесу, пов'язані з активацією цАМФ і Smad шляхів. TGF- β стимулює також синтез ламініну та колагену IV типу ендотеліальними та зірчастими клітинами печінки [A. Kitao et al., 2009]. Інгібування впливів TGF- β_1 зменшує активність фіброзу печінки на 50-70 % [Gressner A.M., R. Weiskirchen 2006]. TGF- β залучений у патогенез первинного біліарного ЦП та ідіопатичної портальної гіпертензії. У крові таких хворих спостерігається збільшення концентрації TGF- β_1 та TGF- β_3 [Luo B. et al., 2004]. Встановлена залежність між різними мутаціями гена TGF- β_1 та частотою розвитку ЦП [E. Falletti et al., 2008]. Нині досліджуються інгібітори TGF- β як потенційні лікарські препарати в експериментальних моделях лікування ушкоджень печінки [Liu X. et al., 2006].

Наводимо приклад застосування корисної моделі.

Приклад. Хворий Д., 58 років, медична карта № 2304 стаціонарного хворого, знаходився на стаціонарному лікуванні із діагнозом: Цироз печінки, змішаний, активний, стадія декомпенсації. Гепатоспленомегалія з явищами гепатоцелюлярної недостатності III ст. Портальна гіпертензія

III ст. Варикозне розширення вен стравоходу. Асцит. Хворіє 3 роки, в анамнезі - зловживання алкогольними напоями, порушення режиму та якості харчування. Поступив зі скаргами: біль у правому та лівому підребер'ях тиснучого характеру, помірної інтенсивності, відчуття важкості в епігастрії, збільшення живота у розмірах, виражене пожовтіння шкірних покривів, задишка. Під час об'єктивного обстеження: шкіра та склери вираженого жовтяничного кольору, наявні телеангіоектазії, ксантелазми, крововиливи, "печінкові долоні", асцит, розширені венозні колатералі на передній черевній стінці, живіт болючий при пальпації у правому та лівому підребер'ях, нижній край печінки щільної консистенції виступає на 3 см з-під краю правої реберної дуги, селезінка - на 2 см з-під краю лівої реберної дуги, ЧСС - 87/хв, АТ - 120/80 мм.рт.ст., серцеві тони ослаблені, ЧД - 21/хв. Проведені біохімічні дослідження: виявлено значне збільшення концентрації загального та прямого білірубіну, гіпоальбумінемія, значне підвищення рівня АсАТ, АлАТ, ГГТП, загальної лактатдегідрогенази, помірне - лужної фосфатази. Під час ультразвукового дослідження органів черевної порожнини виявлено гепатомегалію (розмір правої частки - 173 см, лівої частки - 97 см) ехогенність паренхіми печінки значно підвищена, паренхіма середньої зернистості, контури горбисті. Судинна сітка - деформована, "обрублена". Жовчні шляхи не візуалізуються. Жовчний міхур: розміри звичайні, стінки ущільнені, вміст - осад. Підшлункова залоза: розміри звичайні, контури чіткі, безперервні, рівні, паренхіма підвищеної ехогенності, Вірсунгова протока не візуалізується. Селезінка: розміри збільшені, довжинник - 140 см, поперечник - 56 см, структура однорідна. В черевній порожнині виявлена вільна рідина. Після проведеного лікування пацієнт відзначав покращення загального самопочуття: перестав турбувати біль у правому та лівому підребер'ях, відчуття важкості в епігастрії, задишка, живіт у розмірах не збільшений, продовжувала турбувати жовтяничність шкірних покривів та слизових оболонок, яка помітно зменшилась. Об'єктивно у пацієнта відсутні набряки, печінка дещо зменшилась у розмірах щільної консистенції, виступає з-під правої реберної дуги на 2 см, селезінка - на 1 см з-під лівої реберної дуги, шкірні покриви та слизові оболонки іктеричні, проте, інтенсивність забарвлення зменшилась.

Провівши контрольний біохімічний аналіз крові відзначали зниження активності біохімічних маркерів цитолітичного, холестатичного та мезенхімально-запального синдромів: зменшився вміст загального білірубіну (зі 164,5 мкмоль/л до 107,4 мкмоль/л), прямого білірубіну (зі 38,6 мкмоль/л до 27,1 мкмоль/л), зменшилась активність аспартатамінотрансферази (з 223 Од/л до 206 Од/л), аланінамінотрансферази (з 60 Од/л до 42 Од/л), загальної лактатдегідрогенази (з 1906 Од/л до 982 Од/л), лужної фосфатази (зі 173 Од/л до 150 Од/л), гамаглутамілтрансептидази (з 387 Од/л до 258 Од/л). Зазначене супроводжувалося зниженням рівня ТФР- β_1 (з 798,6 пг/мл до 285,3 пг/мл). На підставі отриманих клінічних та лабораторних результатів пацієнту рекомендовано продовжити обрану терапію у підтримуючій дозі на амбулаторно-поліклінічному етапі з наступним щоквартальним контролем клініко-лабораторних показників стану печінки.

Таким чином, застосування запропонованого способу визначення стану фіброзу печінки у хворих на цироз печінки невірусного походження у динаміці лікування дозволяє оптимізувати діагностичну програму таких хворих та більш достовірно оцінити ефективність проведених лікувальних заходів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення стану фіброзу печінки у хворих на цироз печінки невірусного походження у динаміці лікування, що включає загальноприйняте дослідження діагностичними методами (загальний та біохімічний аналіз крові, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини тощо), який **відрізняється** тим, що пацієнтам з метою визначення змін стану фіброзу печінки до та після проведеного лікування додатково проводять визначення рівня трансформуючого фактора росту- β_1 у крові.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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

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