



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77612** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2012 08202	(72) Винахідник(и):	Кудрявцева Валентина Євгеніївна (UA), Ягмур Вікторія Борисівна (UA), Ягмур Світлана Самойлівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	04.07.2012	(73) Власник(и):	ДЕРЖАВНА УСТАНОВА ІНСТИТУТ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, пр. Правди, 96, м. Дніпропетровськ, 49074 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.02.2013		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.02.2013, Бюл.№ 4		

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ

(57) Реферат:

Спосіб визначення ступеня фіброзу печінки включає визначення у сироватці крові біомаркерів металопротеїнази-1 і ламініну. Спочатку перераховують концентрацію ламініну і металопротеїнази-1 в сироватці крові в умовні одиниці відносно до контролю, а потім розраховують співвідношення КЛН/КММП-1.

UA 77612 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до імунології, до способів оцінки фіброзу печінки, та може бути використана для визначення стану захисних механізмів організму та прогнозу перебігу запальних захворювань печінки.

На сьогоднішній день прогресування дифузних захворювань печінки особливо хронічних вірусних гепатитів (ХВГ) пов'язують з розвитком імунного запалення, а формування цирозу печінки (ЦП) є результатом порушення репарації строми гепатоцитів в ланках пошкодження портальних трактів і паренхіми печінки [1, 2].

Ключовими ефекторами тканинного ремоделювання є матриксні металопротеїнази (ММП). Як поліфункціональні білки вони здатні денатурувати колагени і уповільнювати розвиток фіброзу. Основними інгібіторами матричних металопротеїназ є їх тканинні інгібітори. Початкова деструкція колагену визначається або підвищенням активності матричних протеїназ, або зниженням фонові активності тканинних інгібіторів матриксних протеїназ [3].

Пошкодження печінки сприяє активації зірчастих клітин (клітин Іто або ліпоцитів). Крім цього, збільшується кількість рецепторів до цитокінів, що стимулюють проліферацію і фіброгенез. Фактори активації зірчастих клітин, крім гепатоцитів, можуть виділятися також й тромбоцитами та лімфоцитами. Ключовим моментом запуску фіброгенезу є трансформація зірчастих клітин під впливом різних медіаторів в міофібробласти та початок синтезу ними компонентів екстрацелюлярного матриксу. Одним з цих компонентів є ламінін, таким чином підвищення його рівня свідчить або про активацію зірчастих клітин або про зниження активності матриксних металопротеїназ. З прогресуванням фіброзу рівень ламініну підвищується. Можливо це пов'язано з більш активною метаболізацією цього глікопротеїну на початкових стадіях в порівнянні з більш пізніми стадіями фіброзу. Отже, концентрація ламініну в сироватці крові є чутливим біомаркером для скринінгу печінкового фіброзу.

В нашій країні єдиним доступним методом визначення ступеня і розповсюдженості фіброзу печінки (ФП) залишається пункційна біопсія. Але внаслідок своєї інвазивності вона має ряд протипоказань. Велика увага в останні роки приділяється розробці неінвазивних методів діагностики для визначення стадії ФП і можливості оцінки його динаміки [4, 5].

Відомий спосіб оцінки фіброзу печінки FibroTest за допомогою сироваткових біомаркерів (A2M, гаптоглобіну, АпоА1, АЛТ, ГГТП, загального білірубину) та спеціально розроблених алгоритмів, які одразу перетворюють значення цих біомаркерів в показники важкості фіброзу. Цей показник відповідає гістологічній активності за системами METAVIR та Ishak, що відображають як стадію фіброзу так і активність запально-некротичного процесу. Недоліком відомого способу - найближчого аналога - є недостатня специфічність FibroTest. На діагностичну точність методу впливає, наприклад, наявність у пацієнта гемолізу, під впливом якого знижується вміст гаптоглобіну та підвищується рівень білірубину; функціональних гіпербілірубінемій (як окремих прикладів - синдром Жильбера), при яких також підвищується рівень білірубину. Різноманітні інфекції, що можуть бути наявними у хворого на момент обстеження, призводять до підвищення вмісту гострофазних білків, що визначаються для FibroTest - A2M та гаптоглобіну. Цей спосіб вибраний як прототип.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити засіб визначення стадії фіброзу, який забезпечує більш точну оцінку, дозволяє найбільш повно виявити резервні можливості організму, є простим для використання, не потребує дефіцитних реактивів і дорогих програмних алгоритмів.

Поставлена задача вирішується шляхом оцінки кількості ламініну (ЛН) і матриксної металопротеїнази -1 (ММП-1), перерахунку їх в умовні одиниці і визначення коефіцієнта їх співвідношення.

Загальними ознаками нашого способу і прототипу є перетворення значення сироваткових біомаркерів за допомогою розроблених алгоритмів в показники важкості фіброзу за шкалою METAVIR. Відмінностями вищезазначених способів є те, що наш спосіб діагностики може використовуватися у хворих з супутніми патологіями.

Враховуючи, що на сьогоднішній день набори реагентів для визначення біомаркерів в сироватці крові випускаються різними виробниками, в різних одиницях вимірювання, нами перераховано концентрацію ламініну в умовні одиниці відносно до контролю. Так, нами було доведено, що ЛН/ММП-1 від 1 до 2 відповідає початковій стадії фіброзу (F0-F1), від 2,5 та вище - цирозу печінки (F4 за шкалою гістологічного індексу METAVIR).

Таблиця

Коефіцієнти та співвідношення відносно контрольних значень

Групи	КММР-1, ум.од.	КЛН, ум.од.	Коеф. ЛН/ММР-1, ум.од.
контрольна група, n=11	1,00	1,00	1,00
хронічний гепатит, n=26	2,08±0,07	1,53±0,57	0,74±0,12
цироз печінки, n=24	0,69±0,21	2,1±0,91	3,50±1,1

Спосіб виконують таким чином: натще серце беруть кров у пацієнта і відокремлюють сироватку. Імуноферментним методом визначають кількість металопротеїнази і ламініну в сироватці крові. Перераховують кількість ММП і ЛН в умовні одиниці (КММР-1 і КЛН).

Кількість ММП в контролі = 1 (КММР-1).

КММР-1 в досліді = кількість досліджуваної сироватки x 1/кількість ММП в контролі.

Кількість ЛН в контролі = 1 (КЛН).

КЛН в досліді = кількість досліджуваної сироватки x 1/кількість ЛН в контролі.

КЛН/КММР-1 від 1 до 2 відповідає початковій стадії фіброзу (F0-F1), від 2,5 та вище - цирозу печінки (F4 за шкалою гістологічного індексу METAVIR).

Спосіб був застосований в клініці ДУ "Інститут гастроентерології АМН України" у 22 хворих.

Спосіб ілюструється наступними прикладами.

Приклад 1. Хворий Д.І.А., 43 роки, знаходився на лікуванні у відділенні захворювань печінки і підшлункової залози ДУ "Інститут гастроентерології АМН України". Клінічний діагноз при надходженні у клініку: Хронічний гепатит, асоційований з вірусом С. Дата дослідження - 09.01.11. Рівень ММП-1-13318,5 пг/мл, рівень ламініну (ЛН) - 8,17 пг/мл. Середній показник контрольної групи - 8170,4 пг/мл для ММП-1 та 7,98 пг/мл для ЛН. При перерахунку на умовні одиниці показники досліджуваного: КММР-1-1,63 ум.од., КЛН - 1,02 ум.од. Таким чином, при перерахунку коефіцієнт КЛН/КММР-1 склав 0,63. Заключення: у пацієнта не має ознак фіброзу печінки F0-F1 за шкалою METAVIR.

Приклад 2. Хвора Ф.Н.П., 57 років була прийнята у відділення захворювань печінки і підшлункової залози ДУ "Інститут гастроентерології АМН України" є діагнозом: Хронічний гепатит, асоційований з вірусом С. Крім скарг астеничного характеру, що характерні для цієї патології, непокоїли також періодичні носові кровотечі. Виявлялись інші показники коагулопатії - тромбоцитопенія до 90×10^9 та зниження протромбінового індексу до 67 %. При сонографічному дослідженні була встановлена спленомегалія, що могло бути наслідком портальної гіпертензії. Було запідозрено трансформацію у цироз печінки. Дата дослідження - 12.04.11. Рівень ММП-1-6123,9 пг/мл, рівень ЛН - 16,65 пг/мл. Середній показник контрольної групи - 8170,4 пг/мл для ММП-1 та 7,98 пг/мл для ЛН. При перерахунку на умовні одиниці показники досліджуваного: ММП-1-0,75 ум.од., ламінін - 2,09 ум.од. Таким чином, при перерахунку коефіцієнт КЛН/КММР-1 склав 2,78. Заключення: у пацієнта є дані за фіброз печінки F4 за шкалою METAVIR. Діагноз пацієнтки був змінений на цироз печінки, асоційований з вірусом гепатиту С.

Спосіб визначення ступеня фіброзу використано в лабораторії мікробіології і імунології ДУ "Інститут гастроентерології АМН України" при обстеженні хворих на хронічний гепатит.

Вищезазначені дані свідчать про те, що заявлений спосіб працездатний, він дозволяє визначити більш точно ступінь фіброзу. Підвищення точності способу вирішується завдяки включенню в інтегральну оцінку рівня ММП 1 і ламініну - чинників, що відіграють важливу роль в патогенезі фіброзу.

Джерела інформації:

1. Ивкова А.Н. Роль цитокинов в развитии фиброза печени /А.Н. Ивкова, И.Г. Федоров, Г.И. Сторожаков // Клин, перспективы гастроэнтерол. Гепатол.-2006 - № 1. - С. 2-9.

2. Механизмы прогрессирования воспаления и фиброза при хронических вирусных гепатитах // Матер. 8-го межд. Славяно-Балтийского науч. форума: Санкт-Петербург - Гастро-2006, М-116, № 411; Гастроэнтерол. Санкт-Петербурга.-2006. - № 1-2 (Коган Е.А., Томкевич М.С., Золотаревский В.Б., Ивашкин В.Т.).

3. Басаргина М.А. Матриксные металлопротеиназы как маркеры формирования бронхолегочной дисплазии у детей / М.А. Басаргина, И.В. Давыдова, Г.В. Яцык, Т.В. Бершова, М.И. Баканов // Пульмонология. - М.-2009. - № 4. - С. 80-84.

4. Неинвазивная диагностика фиброза печени // Сб. лекций конф.: Диагностика и лечение болезней органов пищеварения с позиций доказательной медицины. - М., 2007. - С. 67-71 (Глушенков Д.В., Ивашкин В.Т.).

5 Павлов Ч.С. Фибротест в диагностике ранних стадий фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом В (ХГВ) // Матер. Четырнадцатой Российской конф.: Гепатология сегодня, 16-18 марта 2009 г.; Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктोल.-2009. - Т. XIX, №1 (прил. № 33). - С. 43 (соавт.: Коновалова О.Н., Глушенков Д.В., Ивашкин В.Т., Золотаревский В.Б.).

10

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення ступеня фіброзу печінки, який включає визначення у сироватці крові біомаркерів металопротеїнази-1 і ламініну, який **відрізняється** тим, що спочатку перераховують концентрацію ламініну і металопротеїнази-1 в сироватці крові в умовні одиниці відносно до контролю, а потім розраховують співвідношення КЛН/КММП-1.

15

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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