



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 88317

(13) U

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 11771**

(22) Дата подання заявки: **07.10.2013**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **11.03.2014**

(46) Публікація відомостей **11.03.2014, Бюл.№ 5**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Малий Василь Пантелейович (UA),
Бойко Володимир Васильович (UA)**

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ,
вул. Корчагінців, 58, м. Харків, 61176 (UA)**

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ ГЕПАТИТУ А В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНОТИПУ

(57) Реферат:

Спосіб диференційної діагностики тяжкості перебігу гепатиту А в залежності від генотипу здійснюють шляхом дослідження показників крові. Досліджують рівень ФНП-α, отримані результати порівнюють з результатами дослідження контрольної групи і при легкому перебігу гепатиту А у пацієнтів з 1А генотипом HAV визначають підвищення рівня показників, які перевищують показники контрольної групи в 1,6 разу, при середньотяжкому перебігу підвищення перевищує контрольні показники в 2,4 разу, у хворих з 3А генотипом HAV, значення перевищують контрольні показники в 3 рази при легкому перебігу і в 3,5 разу при середньотяжкому перебігу захворювання.

UA 88317 U

Корисна модель стосується медицини, зокрема інфекційних хвороб, і може бути використана для оцінки тяжкості перебігу хронічного гепатиту А в залежності від його генотипу.

Визначення тяжкості перебігу вірусного гепатиту А для своєчасного призначення адекватної терапії є важливою задачею клінічної медицини.

Відомий спосіб оцінки активності перебігу хронічного гепатиту, який включає визначення активності цитоплазматичних ферментів клітин печінки, зокрема аланінамінотрансферази у сироватці крові (Малый В.П. Хронический гепатит С: клиника, диагностика, лечение// Лікування та діагностика. - 2004. - № 2. - С. 18-24.).

За відомим способом, при хронічному гепатиті С за показником активності ферменту оцінюють ступінь пошкодження клітин печінки.

Недоліком відомого способу є недостатня інформативність, що впливає з того, що визначення активності цитоплазматичних ферментів, зокрема аланінамінотрансферази, не в повній мірі відображає характер некробіотичного процесу в тканині печінки, оскільки характеризує переважно рівень цитолізу гепатоцитів, не висвітлюючи патологічні зміни в мікросудинному апараті печінки. Спосіб використовують для діагностики гепатиту С.

Відомий спосіб прогнозування перебігу вірусного гепатиту А (ВГА), згідно з яким, вираженість порушень складу кишкової мікрофлори, а саме ступінь дисбактеріозу товстої кишки при першому дослідженні, використовують як додатковий критерій прогнозування тяжкості перебігу ВГА. При цьому I-II ступені дисбактеріозу та дисбіозу товстої кишки відповідають легкому перебігу хвороби, III-IV - середньотяжкому (Саєнко Т.Є. Видовий склад та популяційний рівень мікрофлори товстої кишки і стан системного імунітету у хворих на гепатит А: Автореф. дис... канд. мед. наук. - Київ, 2004. - 20с).

Як прогноз тяжкого перебігу ВГА пропонують застосовувати підвищення рівня ферменту серцевого профілю - креатинфосфокіназу.

Ці показники можливо застосовувати лише при тяжкому стані хворого, при інших формах ВГА даний фермент не виділяється в достатній кількості (Рослый И.М., Литвинова О.С, Жаров С.Н. Креатинфосфокиназа как показатель неблагоприятного течения вирусного гепатита // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 1999. - №1. - С. 46-49.).

Відомий спосіб прогнозування перебігу вірусних гепатитів шляхом оцінки рівня секреторного Імуноглобуліну mА (IgА).

При вивченні стану місцевого імунітету при хронічних вірусних гепатитах і цирозах печінки виявлено значне підвищення IgА у сироватці крові цих хворих. Його рівні корелювали з тяжкістю стану хворих та активністю трансаміназ (Левченко Я.М. Иммунологические аспекты патогенеза хронических вирусных гепатитов и циррозов печени// Вісник морської медицини. - 2000. - №4 (12). - С. 28-31.)

Даний спосіб прогнозування перебігу вірусного гепатиту А є найбільш близьким до того, що заявляється, по технічній суті та результату, який може бути досягнутим, тому його вибрано як прототип.

Спосіб не дозволяє в залежності від генотипу визначити тяжкість перебігу захворювання, що важливо для подальшого призначення лікування.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу диференційної діагностики тяжкості перебігу гепатиту а в залежності від генотипу, в якому за рахунок зміни досліджуваних показників, досягається визначення тяжкості перебігу захворювання.

Поставлена задача вирішується в способі диференційної діагностики тяжкості перебігу гепатиту А в залежності від генотипу, який здійснюють шляхом дослідження показників крові, згідно з корисною моделлю, досліджують рівень ФНП-α, отримані результати порівнюють з результатами дослідження контрольної групи і при легкому перебігу гепатиту А у пацієнтів з 1А генотипом HAV визначають підвищення рівня показників, які перевищують показники контрольної групи в 1,6 разу, при середньотяжкому перебігу підвищення перевищує контрольні показники в 2,4 разу, у хворих з 3А генотипом HAV, значення перевищують контрольні показники в 3 рази при легкому перебігу і в 3,5 разу при середньотяжкому перебігу захворювання.

При ГА має місце подразнення макрофагальної ланки імунітету надлишковою кількістю антигенів вірусу, що призводить до викиду прозапальних цитокінів і подальшому каскаді імунних реакцій так і протизапальних цитокінів. Серед прозапальних цитокінів велике значення мають результати вивчення динаміки ФНП-α у хворих на ГА у різні періоди захворювання.

Генотипування вірусу ГА проводять методом аналізу поліморфізму довжини рестракційних фрагментів після ампліфікації ділянок генома довжиною 470 пар основ, який кодує поверхневий антиген. З урахуванням отриманих, в ході проведення обстеження, даних про частоту виявлення геноваріантів можна зробити висновок про те, що геноваріант 1А зустрічався

частіше, ніж генотип 3А, як у групі з легким перебігом ГА (45,3 і 10 %), так і у групі хворих із середньотяжким перебігом (30,5 і 14,1 % відповідно).

З метою вивчення поширеності генотипів HAV в Україні і впливу їх на перебіг захворювання було обстежено 172 хворих на гепатити. Хворих з ГА генотип 1А 105 чоловік (61 %), з ГА генотип 3А 36 чол. (20,9 %), міст гепатити А+В - 9 чол. (5,2 %), А+С - 7 чол. (4 %), хворі у яких була виявлена HAV, але генотипи виявити не вдалося складала 15 чол. (8,7 %). У всіх хворих хвороба протікала з легким перебігом. Досить високий відсоток зареєстрованих середньотяжких форм був пов'язаний з тим, що частка хворих із легким перебігом ГА лікується в амбулаторних умовах. Вік більшості хворих коливався в середньому від 20 до 30 років, що відповідає сучасним уявленням і даним літератури щодо захворюваності на ГА серед дорослого населення. Застосування молекулярно-генетичного аналізу дозволило виявити у 105 (74,5 %) хворих із ГА генотип 1А. Відповідно у 36 (25,5 %) хворих був виявлений 3А генотип. Тяжкі форми ГА не відмічались.

Згідно з отриманими результатами генотипування вірусного геному пацієнти були розподілені на 4 групи: перша - хворі із легким перебігом ГА, викликаного 1А генотипом HAV (n=64); друга - хворі із 1А генотипом ГА із середньотяжким перебігом (n=41); третя - хворі із легким перебігом ГА, викликаного 3А генотипом (n=15), четверта - хворі 3А генотипом вірусу, із яких було зареєстровано середньотяжкий перебіг (n=21).

Аналіз результатів дослідження рівня ФНП-α показав достовірне підвищення концентрації порівняно з показниками контрольної групи, як у хворих із легким, так і з середньотяжким перебігом захворювання. При легкому перебігу ГА у пацієнтів з 1А генотипом HAV відмічалося підвищення рівня показників до $60,24 \pm 5,5$ пкг/мл, що перевищувало показники контрольної групи в 1,6 разу ($p < 0,05$). При середньотяжкому перебігу підвищення сягало до $90,60 \pm 6,2$ пкг/мл, що перевищувало контрольні показники в 2,4 разу, відповідно ($p < 0,05$). Важливо відмітити, що рівні ФНП-α у хворих з різним перебігом ГА при 1А генотипі також відрізнялись статистичною достовірністю ($p < 0,05$).

Подібна картина мала місце в групі хворих з 3А генотипом HAV, значення яких перевищували контрольні показники в 3 рази при легкому перебігу і в 3,5 разу при середньотяжкому перебігу захворювання. При цьому відмічалася достовірна різниця середніх рівнів ФНП-α у пацієнтів: з $110 \pm 7,6$ пкг/мл при легкому перебігу проти $135,83 \pm 8,4$ пкг/мл при середньотяжкому перебігу відповідно ($p < 0,05$). Крім того, сироваткові концентрації ФНП-α мали достовірну різницю і серед груп хворих з різним перебігом ГА при різних генотипах ($p < 0,05$). Так, при 3А генотипі відмічалося достовірно більш високе підвищення рівня ФНП-α, в порівнянні з аналогічними показниками в групах при 1А генотипі HAV, як при легкому, так і середньотяжкому перебігу захворювання ($p < 0,05$). Отримані дані підтверджують більш тяжкий перебіг захворювання, вираженість імунної відповіді у пацієнтів з 3А генотипом.

При вивченні цитокінового профілю в періоді реконвалесценції встановлено, що рівень ФНП-α у хворих з генотипом 1А мав тенденцію до скорочення і не відрізнявся достовірністю з показниками контрольної групи ($p < 0,05$), однак у пацієнтів з 3А генотипом при середньотяжкому перебігу рівень даного показника залишався більш високим та складав в середньому $55,81 \pm 4,1$ пкг/мл і статистично відрізнявся від рівнів контрольної групи ($p < 0,05$). Також потрібно відмітити, що рівні ФНП-α у хворих з різним перебігом ГА при 3А генотипі в даному періоді відрізнялись статистичною достовірністю: $43,24 \pm 3,6$ пкг/мл проти $55,81 \pm 4,1$ пкг/мл, відповідно ($p < 0,05$). Отримані результати представлені в табл.

Таблиця

Рівні ФНП-α у сироватці крові хворих із різним перебігом ГА у динаміці захворювання ($M \pm m$), пкг/мл

Групи хворих	Період розпаду		Період реконвалесценції	
	1А генотип	3А генотип	1А генотип	3А генотип 3
Легкий перебіг ГА (n=105)	$60,24 \pm 5,5^{1,2,3}$	$110,21 \pm 7,6^{1,2,3}$	$41,21 \pm 3,5$	$43,24 \pm 3,6^3$
Середньотяжкий перебіг ГА (n=36)	$90,60 \pm 6,2^{1,2,3}$	$135,83 \pm 8,4^{1,2,3}$	$44,61 \pm 3,2^3$	$55,81 \pm 4,1^{1,2,3}$
Контрольна група (n=20)	$37,83 \pm 2,7$			

Примітки:

- ¹ - вірогідність із показниками контрольної групи ($p < 0,05$);
- ² - вірогідність у порівнюваних групах ($p < 0,05$);
- ³ - вірогідність у динаміці в межах однієї групи ($p < 0,05$).

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє виявити тяжкість перебігу вірусного гепатиту А в залежності від його генотипу шляхом вивчення динаміки прозапального цитокіну ФНП-α у різні періоди захворювання.

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб диференційної діагностики тяжкості перебігу гепатиту А в залежності від генотипу, який здійснюють шляхом дослідження показників крові, який **відрізняється** тим, що досліджують рівень ФНП-α, отримані результати порівнюють з результатами дослідження контрольної групи і при легкому перебігу гепатиту А у пацієнтів з 1А генотипом HAV визначають підвищення рівня показників, які перевищують показники контрольної групи в 1,6 разу, при середньотяжкому перебігу підвищення перевищує контрольні показники в 2,4 разу, у хворих з 3А генотипом HAV, значення перевищують контрольні показники в 3 рази при легкому перебігу і в 3,5 разу при середньотяжкому перебігу захворювання.

10

15

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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