



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **84134** (13) **U**
(51) МПК

G01N 33/49 (2006.01)

G01N 33/576 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2013 04760</p> <p>(22) Дата подання заявки: 15.04.2013</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.10.2013</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2013, Бюл.№ 19</p>	<p>(72) Винахідник(и): Шевченко Ольга Петрівна (UA), Фоменко Ольга Зіновіївна (UA), Шевцова Алла Іванівна (UA), Суременко Микола Степанович (UA), Ушакова Галина Олександрівна (UA), Губар Ірина Олександрівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, вул. Дзержинського, 9, м. Дніпропетровськ, 49044 (UA)</p>
--	---

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ РОЗВИТКУ ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики розвитку цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит, що включає визначення концентрації загального білірубіну та активності аланін амінотрансферази. Додатково визначають етіологічний чинник гепатиту, наявність телеангіоктазій та мікст-ураження, активність прожелатинази В, рівень фібронектину, фібриногену, гіалуронової кислоти загального білка та альбуміну, білковий коефіцієнт, гепариновий та протромбіновий індекси, кількість тромбоцитів та колоїдну стійкість білків плазми. Після чого отримані показники конвертують в бали за допомогою шкали оцінних балів та підраховують їх суму.

UA 84134 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до прогнозування розвитку ускладнень у хворих на хронічний вірусний гепатит, і може бути використаною в інфектології або гастроентерології.

5 Цироз печінки є важливою медичною та соціальною проблемою сучасності, його частота складає 20-40 осіб на 100 тисяч населення і цей показник останнім часом зростає. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я хронічний гепатит та цироз печінки займають 2-4 місця серед причин шпиталізації та втрати працездатності населення у віці 20-60 років, при чому 57 % розвитку цирозу печінки спровоковано хронічними гепатитами. Рання діагностика фіброзу та цирозу печінки є актуальною задачею, оскільки тільки своєчасно проведена терапія при 10 хронічних дифузних захворюваннях печінки приводить до зворотного розвитку фіброзу та призупиняє розвиток цирозу печінки.

Відомий спосіб діагностики прогресування фіброзу печінки у цироз за результатами кількісного визначення заліза, гамаглутамілтранспептидази і орнітіндекарбоксилази в слині [Способ скрининг-диагностики прогрессирования фиброза печени в цирроз по сливарным биохимическим критериям Пат. 2312361 С1 России, МПК G01 N33/84 / Алексеева О.П., Яковлева Т.Ю., Коркоташвили Л.В., Яковлев А.А. (Россия), 2006109895/15, 2006114890/15, 02.05.2006], в якому прогнозують прогресування фіброзу в цироз при одночасному значенні концентрації заліза менше 1,2 мкм/л, активності гамаглутамілтранспептидази більше 0,6 мккат/л і орнітіндекарбоксилази більш 0,145 нкат/мл. Перевагами даного методу є його простота та 20 доступність біологічного матеріалу. Недоліком даної моделі є необхідність проведення біопсії печінки для попереднього діагностування фіброзу. Крім цього, застосування моделі обмежується необхідністю проведення атомно-адсорбційної спектрометрії для аналізу рівня заліза.

Найбільш близьким до запропонованого способу є метод кількісної оцінки патологічних процесів у печінці - ActiTest [Poynard T. Diagnosis method of inflammatory, fibrotic or cancerous disease using biochemical markers / No:6631330, October, 2003]. Він включає оцінку віку та статі хворого і визначення біохімічних окремих показників крові: аланінамінотрансферази, альфа-2-макроглобуліну, гаптоглобіну, гамаглутамілтранспептидази, загального білірубину та аполіпопротеїну А1, після чого застосовується рівняння регресії для підрахунку сумарного коефіцієнту і за його значенням робиться висновок про ступінь фіброзу. Недоліком даного методу є низька специфічність, оскільки підвищення рівня гаптаглоліну та білірубину може спостерігатись за рахунок запальних процесів не печінкового походження. Крім того, існує залежність від наявності готових наборів, що випускаються фірмою BioPredictive (Франція), мають високу вартість і не завжди доступні клінічним лабораторіям.

35 В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу прогнозування розвитку цирозу печінки шляхом формування нового набору головних компонентів та їх співвідношення, що дозволить підвищити специфічність та чутливість аналізу, зменшити його вартість.

Поставлена задача вирішується тим, що у запропонованому способі діагностики ступеня 40 фіброзу у пробі плазми крові визначають концентрації загального білірубину та активність аланінамінотрансферази згідно з корисною моделлю, додатково визначають етіологічний чинник гепатиту, наявність телеангіоктазій та мікст-ураження, активність прожелатинази В, рівень фібронектину, фібриногену, гіалуринової кислоти загального білка та альбуміну, білковий коефіцієнт, гепариновий та протромбіновий індекси, кількість тромбоцитів та колоїдну стійкість 45 білків плазми, після чого отримані показники конвертують в бали за допомогою шкали оцінних балів, підраховують їх суму, за значенням якої роблять висновок про наявність чи відсутність цирозу печінки.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності істотних ознак дійсної корисної моделі з вищезазначеним технічним результатом, тобто зі збільшенням точності діагностування, полягає в наступному. Збільшення масиву критеріїв оцінки, що корелюють з цирозом печінки, пов'язано із залученням в якості діагностичних критеріїв рівнів фібронектину, альбуміну, білкового коефіцієнту, гіалуринової кислоти, гепаринового індексу, тромбоцитів, протромбінового індексу, фібриногену, загального білка, прожелатинази В, колоїдної стійкості білків плазми, у відповідності до наявності телеангіоктазій, мікст-ураження та етіології.

55 Іншим ресурсом перевершення технічного результату є конвертація діагностичних критеріїв в оцінні бали, опрацьованих науково-практичним шляхом, адже цифрові параметри допускають можливість їх інтерпретації, що прямим чином збільшує точність діагностування, для оцінки діагностичної значимості різних ознак використовувалась теорема Байєса і послідовний (секвенціальний) аналіз Вальда з оцінкою відносного ризику та інформативності (I) ознак за 60 формулою Кульбака (формули 1 та 2).

$$I = \sum I_j, \quad (1)$$

$$I_j = 101g \frac{P_1}{P_2} \cdot 0,5 \cdot (P_1 - P_2), \quad (2)$$

де I - інформативність ознаки;

I_j - інформативність діапазону (градації) j-ї ознаки;

P_1 - відносна частота ознаки в групі з цирозом печінки;

5 P_2 - відносна частота ознаки в групі хворих на хронічний вірусний гепатит.

Інформативною вважалась ознака з коефіцієнтом $I \geq 0,35$.

Спосіб ілюструється "Шкалою інформативно-діагностичних балів для діагностування цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит" (Додаток 1).

Корисну модель, що заявляють, здійснюють таким чином: У плазми крові визначають
10 концентрацію аланінамінотрансферази (АЛТ) - за методом Райтмана-Френкеля, загального білка (ЗБ) за біуретовою реакцією, прямого білірубину (Б) - колориметричним методом за Яндрашиком, альбуміну (Ал) - фотометричним методом за зв'язуванням із бромкрезоловим зеленим, фібрoneктину (ФН) - методом імунодоту, гіалуронової кислоти (ГК) - за модифікацією методу Голда, активність прожелатинази В (про-ММП-9) - методом ензим-зимографії,
15 гепариновий індекс - за Абросімовим, фібриноген - ваговим методом, протромбіновий індекс - шляхом відношення протромбінового часу плазми хворого до протромбінового часу нормальної плазми, колоїдну стійкість білків плазми - тимоловою пробою (ТП), кількість тромбоцитів (Тр) - за допомогою гематологічного аналізатора. Для підтвердження етіологічного чинника гострого вірусного гепатиту, хронічного вірусного гепатиту і цирозу печінки проводять серологічні та
20 молекулярно-генетичні дослідження методом імуноферментного аналізу і методом полімеразної ланцюгової реакції для визначення маркерів вірусів гепатиту А, В та С.

Усі діагностичні критерії, як такі, що певним чином корелюють з цирозом печінки та хронічним гепатитом, піддають конвертації в оцінні бали. При цьому фібрoneктин оцінюють у +7 при концентрації ≤ 300 мкг/мл або -9 балів при концентрації > 300 мкг/мл; прямий білірубін - у -7 балів при концентрації ≤ 20 мкмоль/мл або +4 бали при його значенні > 20 мкмоль/мл; аналогічні пари для альбуміну: +10 балів при концентрації ≤ 28 г/л або -3 бали, якщо концентрація > 28 г/л; аланінамінотрансферази - +5 або -4 бали, при концентрації $\leq 1,5$ або $> 1,5$ мкмоль/(год.*мл); білкового коефіцієнту - +8 або -2 бали, при концентрації $\leq 0,6$ або $> 0,6$ од.; гіалуронової кислоти - 1 або +9 балів, при концентрації ≤ 35 або > 3 мкг/мл; гепариновий індекс - -2 або +5 балів, при значенні ≤ 131 або > 131 %; тромбоцити - +2 або -4 бали, при значенні ≤ 195 або $> 195 \cdot 10^9$ /л; протромбіновому індексу привласнюють +4 або -2 бали, при значенні ≤ 70 або > 70 ; фібриногену надають +4 або -2 бали, при значенні $\leq 3,3$ або $\geq 3,3$ г/л; загальний білок оцінюють у +4 або -2 бали, при значенні ≤ 72 або > 72 г/л; про-ММП-9 - у -3 або +2 бали, при значенні ≤ 75 або > 75 %; тимолову пробу оцінюють у -2 або +2 бали, якщо її значення сягає ≤ 8 або > 8 од. Мікст-ураження оцінюють у -5 балів при наркоманії або +2 бали, якщо пацієнт має алкогольну залежність; етіологічну картину - у -3 (у випадку гепатиту В), -2 (у випадку гепатиту С) або +3 бали при одночасному ураженні гепатитами В та С. Надалі підсумовують бали та при сумі балів
30 $(\Sigma Б) \geq +13$ (поріг) прогнозують ризик розвитку (або наявність) цирозу печінки з ймовірністю помилки ≤ 5 % ($p < 0,05$); при $\Sigma Б \geq +20$ - вірогідність прогнозу становить 99 % ($p < 0,01$). При
40 $\Sigma Б \leq -13$ (поріг) приймається гіпотеза про високий ризик ХВГ з $p < 0,05$; при $\Sigma Б \leq -20$ - ймовірність помилки ≤ 1 % ($p < 0,01$). Якщо сума знаходиться у межах від -13 до +13, роблять висновок про недостатність наявної інформації для прийняття рішення із заданим рівнем помилок ("невизначена відповідь").

Теоретично математична модель діагностування має вигляд нерівності:

$$45 \quad (A1 = +13) \leq \Sigma Б \leq (A2 = -13),$$

де: $\Sigma Б$ - сума балів;

(A1) - гіпотеза цироз печінки;

(A2) - гіпотеза про хронічний гепатит.

Практично, поріг прийняття рішення за будь-якою з гіпотез відбиває перевищення частоти правильних діагнозів над частотою помилкових. У дійсному ж способі умовою прийняття
50 гіпотези A1 є перевищення заданої суми балів $(\Sigma Б) \geq +13$, а для гіпотези A2 - її зниження

(ΣB) ≥ -13 . При цьому встановлено, що імовірність прийняття гіпотез як A1, так і A2 для заданих ΣB сягає 95 %, а при $\Sigma B = \pm 20$ вона сягає до 99 %. Тобто, при $\Sigma B \leq +13$ прогнозують переважання імовірності цирозу з вірогідністю помилки $\sim \pm 5$ %, а при $\Sigma B = \pm 20$ - на межі ± 1 %.

5 Дослідження корисної моделі, що пропонується, проведені на базі кафедри інфекційних хвороб Дніпропетровської державної медичної академії у 66 хворих на хронічний вірусний гепатит та 45 хворих на цироз печінки вірусного генезу. Метод дозволяє констатувати наявність цирозу печінки у 91,5 %, а ймовірність хронічного вірусного гепатиту - в 87,9 % випадків.

10 Приклад № 1. Хвора Н., 45 років знаходилась на стаціонарному лікуванні, куди потрапила з підозрою на вірусний гепатит. Епідеміологічний анамнез - контакт з інфекційними хворими, парентеральні втручання за останні 6 місяців заперечує. З анамнезу хвороби відомо, що хвора гепатитом не хворіла, жовтяниці раніше не було. Переджовтяничний період стертий, відмічалась слабкість останні 2 тижні. Поступила на 2 день погіршення самопочуття зі скаргами на слабкість, з помірно жовтяницею шкіри та інтенсивною склер. Об'єктивно: стан середньої тяжкості, зумовлений інтоксикацією, жовтяницею, Печінка виступає з під реберної дуги на +1,0 см, +2,0 см, +2,0 см, помірно щільної консистенції. При надходженні до стаціонару: у загальному аналізі крові - лейкоцити - $4,0 \times 10^9$ /л, тромбоцити - 210×10^9 /л, палочкоядерні - 4 %, сегментоядерні - 80 %, лейкоцити - 18 %, швидкість осідання еритроцитів - 20 мм/год. Біохімія крові: АЛТ - 3,7 мкмоль/(год.*мл), загальний білірубін (прямий/непрямий) - 205 (118/87) мкмоль/л, тимолова проба - 10,5 ОД, протромбіновий індекс - 80 %, фібриноген - 4,1 г/л, гепариновий індекс - 107 %, загальний білок 76 г/л, альбумін - 41 г/л, білковий коефіцієнт - 1,17, виявлено анти-HCV IgG, РНК HCV. Спеціальні біохімічні дослідження: ГК - 1,84 мкг/мл, ФН - 316,8 мкг/мл, активність про-ММП-9-57 %. Для визначення імовірності наявності у хворої хронічного вірусного гепатиту чи цирозу печінки на підставі клініко-анамнестичних та лабораторних даних підраховували суму оцінних балів, використовуючи "Шкалу інформативно-діагностичних балів для діагностування цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит":

Прогностичний показник	Градація	Прогностичний коефіцієнт
Фібронектин	>300 мкг/мл →	-9
Прямий білірубін	>20 мкмоль/мл →	+4
Альбумін	>28 г/л →	-3
Телеангіоектазі	немає →	-12
АЛТ	>1,5 мкмоль/(год.*мл) →	-4
Білковий коефіцієнт	>0,6 ОД →	-4
Галуронова кислота	≤ 3 мкг/мл →	-1
Гепариновий індекс	≤ 131 % →	-2
Мікст-уражень	немає →	+0
Тромбоцити	$>195 \cdot 10^9$ /л →	-4
Фібриноген	$\geq 3,3$ г/л →	-2
Загальний білок	>72 г/л →	-2
Етіологія	хронічний гепатит С →	-2
про-ММП-9	≤ 75 % →	-3
Тимолова проб	>8 ОД →	+2
ΣB		-42

30 Таким чином, сума діагностичних коефіцієнтів дорівнює -42 бали. Це дозволяє з вірогідністю 99 % діагностувати хронічний вірусний гепатит у хворої Н., що було підтверджено при подальшому клінічному обстеженні.

35 Приклад № 2. Хвора М., 55 років, знаходилась на стаціонарному лікуванні куди потрапила з хронічним вірусним гепатитом В. Епідеміологічний анамнез - страждає хронічним вірусним гепатитом В протягом двох років, стоїть на обліку у інфекціоніста, раніше зловживала алкоголем. Відмічалась слабкість останні 2 тижні. Поступила на 5 день погіршення самопочуття зі скаргами на слабкість, з жовтяницею шкіри та склер. Об'єктивно: стан середньої тяжкості, зумовлений інтоксикацією, жовтяницею, Печінка виступає з під реберної дуги на +1,0 см, +1,0 см, +2,0 см, помірно щільної консистенції. При надходженні до стаціонару: у загальному аналізі крові - лейкоцити - $8,9 \times 10^9$ /л, тромбоцити - 267×10^9 /л, палочкоядерні - 2 %, сегментоядерні - 79 %, лейкоцити - 17 %, швидкість осідання еритроцитів - 50 мм/год. Біохімія крові: АЛТ - 1,27 мкмоль/(год.*мл), загальний білірубін (прямий/непрямий) - 189 (137/52) мкмоль/л, тимолова

проба - 16 ОД, протромбіновий індекс - 55 %, фібриноген 3,2 г/л, гепариновий індекс - 148 %, загальний білок - 82 г/л, альбумін - 32 г/л, білковий коефіцієнт - 0,6; виявлено HBsAg, анти-HBV IgM, анти-HBV IgG, ДНК HBV. Спеціальні біохімічні дослідження: ГК - 2,82 мкг/мл, ФН - 205 мкг/мл, активність про-ММР-9-108 %.

- 5 Для визначення імовірності наявності у хворої хронічного вірусного гепатиту чи цирозу печінки на підставі клініко-анамнестичних та лабораторних даних підраховали суму оцінних балів, використовуючи "Шкалу інформативно-діагностичних балів для діагностування цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит":

Прогностичний показник	Градація	Прогностичний коефіцієнт
Фібронектин	≤300 мкг/мл →	+7
Прямий білірубін	>20 мкмоль/мл →	+4
Альбумін	>28 г/л →	-3
Телеангіоектазі	немає →	-12
АЛТ	≤1,5 мкмоль/(год.*мл) →	+5
Білковий коефіцієнт	≤0,6 ОД →	+8
Гіалуринова кислота	≤3 мкг/мл →	-1
Гепариновий індекс	>131 % →	+5
Мікст - уражень	алкоголь →	+2
Тромбоцити	>195·10 ⁹ /л →	-4
Фібриноген	<3,3 г/л →	+4
Загальний білок	>72г/л →	-2
Етіологія	хронічний гепатит В →	-3
про-ММР-9	>75 % →	+2
Тимолова проб	>8 ОД →	+2
ΣБ=		+14

10

Таким чином, сума діагностичних коефіцієнтів дорівнює +14 балів. Це дозволяє з вірогідністю 95 % прогнозувати ризик розвитку (або наявність) цирозу печінки з ймовірністю помилки ≤5 % (p<0,05) у хворої М, що було підтверджено при подальшому дослідженні. Хворій рекомендовано лікування згідно діагнозу - цироз печінки.

15

Приклади конкретного використання запропонованого рішення задачі інформують про можливість його клінічного використання, завдяки великій кількості діагностичних критеріїв, які корелюють з цирозом печінки, їх вагової кваліфікації за допомогою оцінних балів і диференціювання. Це сприятиме покращенню результатів лікування цирозу, переважно, за рахунок відмінності його від хронічного гепатиту, а разом із цим - зменшення токсичних навантажень на людину, що відповідає критерію "промислова придатність", а з урахуванням п.2 Ст.7 Закону і вищенаданих тверджень - допускає кваліфікацію дійсного рішення задачі як корисної моделі процесу.

20

Шкала інформативно-діагностичних балів для діагностування
цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит

Чинники та їх загальна інформативність (I)	Градації	Прогностичний коефіцієнт (ПК)
Фібронектин. мкг/мл (I =5,67)	≤300	+7
	>300	-9
Прямий білірубін, мкмоль/мл (I=3,06)	≤20	-7
	>20	+4
Альбумін, г/л (I=2,80)	≤28	+10
	>28	-3
Телеангіоектазії (I=2,56)	ні	-12
	так	+2
Рівень аланінамінотрансферази, мкмоль/(год.*мл) (I=2,05)	≤1,5	+5
	>1,5	-4
Білковий коефіцієнт. ОД (I=2,03)	≤0,6	+8
	>0,6	-2
Гіалуронова кислота, мкг/мл (I=1,04)	≤3	-1
	>3	+9
Гепариновий індекс. % (I=0,99)	≤131	-2
	>131	+5
Мікст-ураження (I=0,96)	алкоголь	+2
	наркоманія	-5
Тромбоцити. 10 ⁹ /л (I=0,95)	≤195	+2
	>195	-4
Протромбіновий індекс, % (I=0,93)	≤70	+4
	>70	-2
Фібриноген. г/л (I=0,88)	≤3,3	+4
	>3,3	-2
Загальний білок, г/л (I=0,82)	≤72	+4
	>72	-2
Етіологія (I=0,70)	В	-3
	С	-2
	В+С	+3
прожелатиназа В (про-ММР-9). % (I=0,58)	≤75	-3
	>75	+2
Тимолова проба. ОД (I=0,38)	≤8	-2
	>8	+2

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб діагностики розвитку цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит, що включає визначення концентрації загального білірубіну та активності аланін амінотрансферази, який **відрізняється** тим, що додатково визначають етіологічний чинник гепатиту, наявність телеангіоектазій та мікст-ураження, активність прожелатинази В, рівень фібронектину, фібриногену, гіалуронової кислоти загального білка та альбуміну, білковий коефіцієнт, гепариновий та протромбіновий індекси, кількість тромбоцитів та колоїдну стійкість білків плазми, після чого отримані показники конвертують в бали за допомогою шкали оцінних балів, підраховують їх суму, за значенням якої роблять висновок про наявність чи відсутність цирозу печінки.
- 10

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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