

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 23138

(13) С1

(46) 2020.10.30

(51) МПК

A 61B 10/00 (2006.01)

G 01N 33/50 (2006.01)

(54)

СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ III И IV СТАДИЙ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

(21) Номер заявки: а 20180289

(22) 2018.06.25

(43) 2020.02.28

(71) Заявители: Цыркунов Владимир Максимович; Кондратович Ирина Анатольевна; Копыцкий Андрей Витальевич (ВУ)

(72) Авторы: Цыркунов Владимир Максимович; Кондратович Ирина Анатольевна; Копыцкий Андрей Витальевич (ВУ)

(73) Патентообладатели: Цыркунов Владимир Максимович; Кондратович Ирина Анатольевна; Копыцкий Андрей Витальевич (ВУ)

(56) СУРКОВ А.Н. Педиатрическая фармакология. - 2009. - Т. 6. - № 3. - С. 45-51.

RU 2547996 C1, 2015.

RU 2416794 C1, 2011.

RU 2408289 C1, 2011.

ВУ 18589 C1, 2014.

КОНДРАТОВИЧ И.А. и др. Новости медико-биологических наук. - 2017. - Т. 16. - № 1. - С. 54-55.

(57)

Способ дифференциальной диагностики III и IV стадий фиброза печени, включающий биохимическое исследование венозной крови, **отличающийся** тем, что определяют уровень ретинола в сыворотке крови и при его значении, равном 1,83 мкмоль/л или менее, диагностируют III стадию, а при значении более 1,83 мкмоль/л - IV стадию фиброза печени.

Изобретение относится к области медицины, а именно инфектологии и гастроэнтерологии, и может использоваться для дифференциальной диагностики III и IV стадий фиброза печени.

Как известно, "золотым стандартом" оценки выраженности фиброза и диагностики цирроза печени остается биопсия печени [1].

Недостатком данного способа является то, что биопсия печени является инвазивным методом с определенной частотой осложнений, имеет противопоказания и серьезные ограничения, обусловленные объективными и субъективными причинами (малый объем биоптата, квалификация морфолога и т.д.). Часто наблюдаются отличия в гистологических заключениях одного материала двумя разными патологами и даже при повторном осмотре одним и тем же специалистом. Также известно, что некротическо-воспалительные процессы и формирование фиброзной ткани в печени протекают неоднородно. Точность биопсии в оценке стадии фиброза может существенно снижаться из-за неадекватного объема исследуемого препарата [2].

Известен способ диагностики фиброза (цирроза) печени при помощи магнитно-резонансной эластографии, которая сопоставима с биопсией печени, а также имеет диаг-

ностическую ценность в отношении разграничения начальных стадий фиброза и здоровой печеночной ткани [3].

Недостатками данного способа являются его дороговизна и недоступность этой диагностической процедуры для населения.

Среди инструментальных методов визуализации морфологических изменений структуры печени известен способ диагностики фиброза (цирроза) печени при помощи не прямой ультразвуковой эластометрии, применяемый только в нескольких клиниках.

Недостатком способа является то, что кроме фиброза на эластичность печени могут оказывать влияние и другие факторы, так, при острых вирусных гепатитах с обширными некро-воспалительными изменениями отмечается повышение значений плотности печени, а при хронических вирусных гепатитах значения плотности увеличиваются параллельно с гистологической активностью печеночного процесса [4]. Имеет значение и уровень трансаминаз. На каждые 100 единиц повышения АлАТ отмечается уменьшения эластичности печени на 1,1 кПа [5]. Кроме того, сопутствующий синдром холестаза приводит к значительному уменьшению эластичности, что может интерпретироваться как цирроз. К переоценке плотности печени может привести венозный застой, декомпенсация сердечной недостаточности [6]. Невозможно провести не прямую ультразвуковую эластометрию печени у лиц с асцитом, а также с такими антропометрическими особенностями как узкие межреберные промежутки и ожирение.

Существуют способы диагностики фиброза (цирроза) печени при помощи не прямых сывороточных маркеров, которые позволяют судить о степени повреждения паренхимы, активности процесса, а следовательно, косвенно оценить наличие и выраженность фиброза. К этой группе относятся маркеры цитолиза - аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспаратаминотрансфераза (АсАТ); холестаза - гамма- глутамилтранспептидаза (ГГТП) и билирубин; показатели синтетической функции печени, например международное нормализованное отношение (МНО), холестерин, аполипопротеин А1 (АpoA1), гаптоглобин, а также показатели гемограммы, свидетельствующие о наличии гиперспленизма, обусловленного развитием портальной гипертензии: тромбоцитопения, анемия, лейкопения [7].

Несмотря на доступность использования многих не прямых маркеров, большинство из них являются неспецифическими, дают ложноположительные результаты, связанные не только с патологией печени (алкоголизм, болезни крови, онкопатология, лекарственная болезнь).

Наиболее близким к заявляемому является способ диагностики фиброза (цирроза) печени с помощью истинных или, "прямых", маркеров фиброза, таких как трансформирующий фактор роста, коллаген IV типа, аминотерминальный пропептид III проколлаген (Р III Р), гиалуроновая кислота (ГК), матричные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матричных металлопротеиназ и т.д., определяемых в венозной крови пациента.

Недостатком данного способа является то, что применение истинных маркеров ограничено, т.к. они неспецифичны для печеночной ткани, отражают процессы фиброгенеза в других органах и системах. При наличии активного воспалительного процесса в печени могут давать ложноположительный результат [8].

Несмотря на известные способы диагностики и дифференциальной диагностики продвинутых стадий фиброза (III-IV) печени, существует необходимость в более простом и точном способе дифференциальной диагностики III стадии фиброза и IV стадии фиброза (цирроза) печени.

Задача изобретения - разработка способа дифференциальной диагностики III стадии фиброза и IV стадии фиброза (цирроза) печени.

Поставленная задача решается путем биохимического исследования венозной крови пациента с хроническим диффузным заболеванием печени и продвинутой стадией фиброза, при этом отличие состоит в том, что определяют уровень ретинола в сыворотке крови и

при его значении, равном 1,83 мкмоль/л или менее, диагностируют III стадию, а при значении более 1,83 мкмоль/л - IV стадию фиброза печени.

Способ осуществляют следующим образом.

Пациенту с хроническим диффузным поражением печени в продвинутой стадии фиброза с целью дифференциальной диагностики III или IV стадии после забора 5 мл венозной крови производят определение сывороточного уровня ретинола. При уровне ретинола, равном 1,83 мкмоль/л и менее, диагностируют III стадию фиброза печени. При уровне ретинола более 1,83 мкмоль/л - IV стадию фиброза печени (цирроз печени).

Приводим доказательства возможности осуществления изобретения.

Дифференциальная диагностика III и IV стадий фиброза печени производится на основании уравнения логистической регрессии с бинарным откликом и пробит-функцией связи. Данное уравнение получено в рамках регрессионной модели на основании исследования, в котором участвовали 30 пациентов приблизительно одного возраста с хроническими диффузными поражениями печени. Пациенты были разделены на две группы. В первую группу вошли пациенты с III стадией фиброза печени, во второй группе находились пациенты с IV стадией фиброза (циррозом печени).

У пациентов обеих групп натошак забирали 5 мл венозной крови, после чего производили определение в сыворотке крови уровня ретинола методом иммуноферментного анализа согласно инструкциям к наборам реагентов. Концентрацию ретинола выражали в мкмоль/л. На основании полученных значений сывороточного уровня ретинола была построена регрессионная модель дифференциальной диагностики III и IV стадий фиброза печени с бинарным откликом и пробит-функцией связи. Таким образом, оценки коэффициентов уравнения регрессии и свободного члена уравнения регрессии установлены авторами опытным путем. Для построения модели использовался специализированный язык программирования "R" версии 3.4.1, в качестве интегрированной среды разработки использовалась среда "RStudio" версии 1.0.143 [9]. Построение обобщенной линейной модели с бинарным откликом выполнялось с помощью пакета "stats" [10]. ROC-анализ выполнялся с помощью пакета "ROCR", кросс-валидация модели выполнялась с помощью пакета "boot" [11, 12].

Все указанные в формуле оценки коэффициентов регрессии при предикторах являются статистически значимыми ($p < 0,05$ для всех описанных оценок). Информационный критерий Акаике для данной модели $AIC = 31,44$, для нуль-модели $AIC_0 = 43,59$, остаточный девианс модели 27,44 (для нуль-модели - 41,59). Это позволяет заключить, что, с точки зрения математических допущений к модели, она является адекватной. Точность прогноза для данной модели составляет 0,8667, чувствительность - 0,8, специфичность - 0,9333 (при пороге отсечения 0,6521).

Дополнительно был проведен ROC-анализ модели (фиг. 1) и кросс-валидация модели методом скользящего контроля (в качестве функции цены была выбрана точность классификации) (фиг. 2). Площадь под ROC-кривой составляет $AUC = 0,851$, что свидетельствует о хорошей предсказательной способности построенной модели [13]. Средняя точность составила 0,7556.

На фиг. 1 представлена ROC-кривая для модели логистической регрессии дифференциальной диагностики III и IV стадий фиброза печени.

На фиг. 2 представлен график точности классификации при различных порогах отсечения.

Приводим конкретные примеры, подтверждающие возможность осуществления изобретения.

Пример 1.

Пациент М., 38 лет, женщина, стаж хронического гепатита С 17 лет. Лабораторные показатели свидетельствуют о наличии у пациентки гепатита С с низкой степенью активности (повышение уровней АлАТ, гаммаглутамилтранспептидазы). При объективном ос-

мотре обнаружена гепатомегалия, при этом ткань печени плотная, что указывает на наличие выраженного фиброза. При ультразвуковом исследовании выявлены увеличение размеров печени, повышение ее эхогенности, а также диффузная неоднородность структуры печени. Длительный стаж заболевания и отсутствие противовирусного лечения могли привести к формированию цирроза печени. С целью дифференциальной диагностики продвинутых стадий фиброза печени у пациентки определен сывороточный уровень ретинола, который составил 0,96 мкмоль/л, что позволяет диагностировать III стадию фиброза печени. По данным проведенной биопсии печени также определяется фиброз III стадии.

Пример 2.

Пациентка Д., 57 лет, женщина, стаж хронического гепатита 15 лет. Лабораторные данные свидетельствуют о наличии воспалительного процесса в печени (в крови повышение уровней аминотрансфераз, гаммаглутамилтранспептидазы, билирубина). При объективном осмотре выявлена гепатомегалия, печень при пальпации уплотнена, что указывает на наличие выраженного фиброза печени. При ультразвуковом исследовании помимо увеличения размеров печени и повышения ее эхогенности определяется неоднородность структуры печени, что может свидетельствовать о наличии цирроза печени. С целью дифференциальной диагностики продвинутых стадий фиброза печени у пациентки определен сывороточный уровень ретинола, который составил 3,21 мкмоль/л, что позволяет диагностировать IV стадию фиброза печени (цирроз). По данным проведенного фибротеста у пациентки также определяется фиброз IV стадии (цирроз печени).

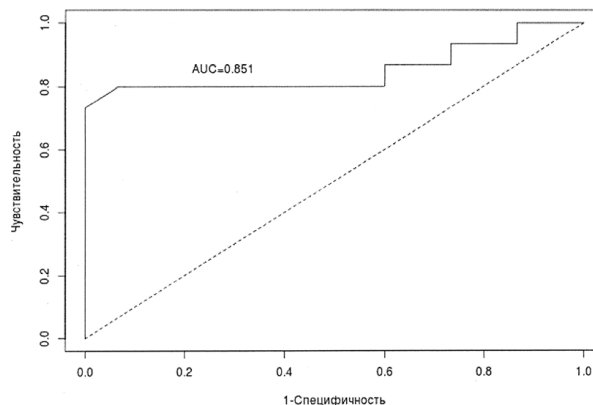
Таким образом, предлагаемый способ может использоваться для дифференциальной диагностики III стадии фиброза и IV стадии фиброза (цирроза печени).

Источники информации:

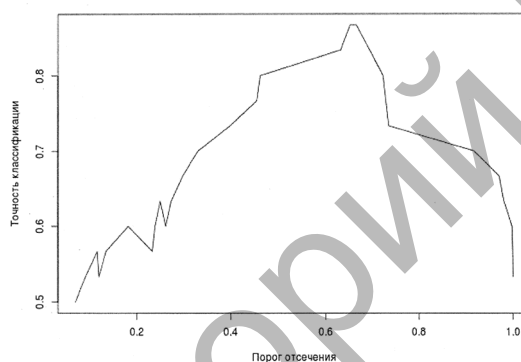
1. Дуда А.К. и др. Фиброз печени: современные принципы диагностики // Акт. инфект. - Т. 3. - № 4. - 2014. - С. 59-64.
2. Cholongitas E. et al. A Systematic Review of the Quality of Liver Biopsy Specimens // Am J Clin Pathol. - 2006. - Vol. 125. - P. 710-721.
3. Meng Y. et al Оценка выраженности фиброза печени с помощью магнитно-резонансной эластографии // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. Русское издание. - 2008. - № 8. - С. 92-98.
4. Arena U. et al Acute viral hepatitis increases liver stiffness values measured by transient elastography // Hepatology. - 2008. - Vol. 47. - P. 380-384.
5. Myers R.P., Elkashab M., Ma M. Transient elastography for the noninvasive assessment of liver fibrosis: A multicentre Canadian study // Can J Gastroenterol. - 2010. - Vol. 24. - N^o 11. - P. 661-670.
6. Балашова А.А. и др. Фиброз печени: методы диагностики и возможности оценки при сердечной недостаточности // Клин. фарм. и терапия. - 2017. - Т. 26. - № 3. - С. 7-12.
7. Шептулина А.Ф., Широкова Е.Н., Ивашкин В.Т. Неинвазивная диагностика фиброза печени: роль сывороточных маркеров // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопрокт. - 2015. - Т. 25. - № 2. - С. 28-40.
8. Сурков А.Н. Современные методы диагностики фиброза печени у детей / А.Н. Сурков // Педиатрическая фармакология. - 2009. - Т. 6. - № 3. - С. 45-51.
9. RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R [Electronic resource] / RStudio Team // RStudio, Inc. - Boston, MA, 2016. - Mode of access: <http://www.rstudio.com> - Date of access: 26.05.2018.
10. Мاستицкий С.Э., Шитиков В.К.. Статистический анализ и визуализация данных с помощью R. Черно-белое издание. - М.: ДМК Пресс, 2015. - С. 8-22.
11. Sing T. et al ROCR: visualizing classifier performance in R // Bioinformatics. - 2005. - Vol. 21. - N^o 20. - P. 3940-3941.

12. Canty A., Ripley B. boot: Bootstrap R (S-Plus) Functions. R package version 1.3-19 [Electronic resource] - Mode of access: <https://cran.r-project.org/web/packages/boot/index.html> - Date of access: 26.05.2018.

13. Pannal P., Marshall W., Jabor A., Magid E. A strategy to promote the rational use of laboratory tests. // Clinica Chimica Acta. - 1996. - Vol. 244. - P. 121-127.



Фиг. 1



Фиг. 2