



MD 219 Y 2010.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **219** ⁽¹³⁾ **Y**

(51) Int. Cl.: *A61B 10/00* (2006.01)

C12Q 1/48 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de
acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face
oposiție la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: s 2010 0041

(22) Data depozit: 2010.03.05

(45) Data publicării hotărârii de
acordare a brevetului:

2010.06.30, BOPI nr. 6/2010

(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU"
DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(72) Inventatori: MAEV Svetlana, MD; DUMBRAVA Vlada-Tatiana, MD; LUPAȘCO Iulianna, MD

(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU"
DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(74) Reprezentant: VOZIANU Maria

(54) Metodă de determinare a gradului de activitate a hepatitei cronice virale C

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la medicină, în special la
hepatologie și poate fi utilizată pentru determinarea
gradului de activitate a hepatitei cronice virale C.

Esența invenției constă în aceea că se determină
nivelul alaninaminotransferazei și al cuprului în
sânge, apoi se determină raportul dintre nivelul
cuprului față de nivelul alaninaminotransferazei și

2

5 dacă raportul este de 0,47...0,55 se stabilește un
grad ușor de activitate, dacă raportul este de
0,34...0,46 se stabilește un grad mediu de activitate,
și dacă raportul este de 0,13...0,17 se stabilește un
grad înalt de activitate a hepatitei cronice virale C.

Revendicări: 1

10

MD 219 Y 2010.06.30

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în special la hepatologie și poate fi utilizată pentru determinarea gradului de activitate a hepatitei virale C.

Este cunoscută o metodă de diagnosticare a gradului de activitate a hepatitei cronice, ce constă în aprecierea nivelului de generare a formelor active de oxigen (FAO) în sangele integral, astfel încât, la nivelul FAO $43,7 \times 10^5$ cuant/c 4^{π} și mai sus se stabilește un grad înalt de activitate a hepatitei cronice, iar FAO în limitele $43,6 \times 10^5$ cuant/c 4^{π} - $37,6 \times 10^5$ cuant/c 4^{π} indică un grad moderat de activitate, iar FAO în limitele $37,5 \times 10^5$ cuant/c 4^{π} - $30,1 \times 10^5$ cuant/c 4^{π} indică un proces inactiv [1].

Neajunsurile metodei date sunt: costul înalt, investigația dificilă, calificarea foarte înaltă a laboratorului, totodată, generarea exagerată a FAO indică o destabilizare a structurilor celulare, un indice nespecific al infarctului miocardic, miocardiodistrofiei etc.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în majorarea probabilității de diagnostic a gradului de activitate a hepatitei cronice, micșorarea costului, lărgirea gamei metodelor de diagnostic diferențial al formelor active ale hepatitei cronice virale C.

Esența invenției constă în aceea că se determină nivelul alaninaminotransferazei și a cuprului în sânge, apoi se determină raportul dintre nivelul cuprului față de nivelul alaninaminotransferazei, și dacă raportul este de $0,47 \dots 0,55$ se stabilește un grad ușor de activitate, dacă raportul este de $0,34 \dots 0,46$ se stabilește un grad mediu de activitate și dacă raportul este de $0,13 \dots 0,17$ se stabilește un grad înalt de activitate a hepatitei cronice virale C.

Obținerea unui indice specific fiecărui grad de activitate a procesului inflamator hepatic la pacienții cu hepatită cronică virală C permite stabilirea mai exactă a gradului de activitate a procesului inflamator hepatic. Această metodă este neinvazivă și permite în termen scurt de a primi o informație exactă despre gradul leziunilor hepatice la persoana investigată. Raportul cuprului seric (Cu) față de nivelul alaninaminotransferazei (ALT) la persoanele sănătoase este în limitele $0,54 \dots 0,64$.

În urma studiului efectuat s-a depistat la pacienții cu hepatită cronică virală C o hipercupremie marcată. Cercetările virusologice recente demonstrează că virusul hepatic C este nemijlocit implicat în dezechilibrul homeostazei microelementelor (cu dereglarea homeostazei ionice celulare și balanței osmotice) la bolnavii cu hepatită cronică virală C.

Acțiunea hepatotoxică este manifestarea de bază a acțiunii concentrațiilor sporite de cupru asupra organismului uman. Hepatotoxicitatea Cu este legată de capacitatea lui de a spori permeabilitatea membranelor hepatocitului. Hipercupremia conduce la intensificarea peroxidării lipidelor și la formarea excesivă a radicalilor liberi ce au efect direct citopatic. Formele reactive de oxigen, produse de celulele macrofage activate și alchidele reactive rezultate din peroxidarea lipidică au o acțiune activatoare asupra celulelor hepatice stelate, pe care le transformă în miofibroblaști, favorizând sinteza de matrice extracelulară, cu progresarea ulterioară a hepatitei cronice în fibroză și ciroză.

Alaninaminotransferaza (ALT) sau transaminaza glutamipiruvică (TGP) este o enzimă ce face parte din clasa transferazelor și catalizează transferul reversibil al grupului amino (NH_2) de la un aminoacid (alanina) α -cetoglutaratului conducând la formarea de acid piruvic și glutamat. Se găsește cel mai mult în ficat (la nivelul celulei hepatice aflându-se în special în citosol).

Astfel, hipercupremia constatată la pacienții cu hepatită cronică virală C, prin faptul că intensifică peroxidarea lipidelor cu formarea ulterioară excesivă a radicalilor liberi sporește permeabilitatea membranei hepatocitare și favorizează creșterea nivelului alaninaminotransferazei în patul sanguin. În urma studiului s-a constatat o corelare directă între concentrația crescută a cuprului și nivelul seric al alaninaminotransferazei. ALT este indicatorul de citoliză cel mai indicat pentru detectarea chiar și a leziunilor hepatice minime.

Rezultatul invenției constă în identificarea unui indice specific, ce reprezintă raportul cuprului seric la alaninaminotransferază, care permite diagnosticarea mai exactă a gradului de activitate a hepatitei cronice virale C.

Avantajele invenției sunt stabilirea mai exactă a gradului de activitate a procesului inflamator hepatic la pacienții cu hepatită cronică C cu implicarea mai desfășurată și detaliată a investigațiilor ce țin de depistarea maladiei respective cu posibilitatea selectării unei tactici concrete de tratament. Experiența implementării în practică a metodei menționate a confirmat eficacitatea și autenticitatea sa, ceea ce permite realizarea eficientă a unor măsuri de profil diagnostic și curativ-profilactic. Această metodă constă în determinarea concentrației cuprului în serul sanguin și a alaninaminotransferazei.

Metoda dată a fost testată la Secția de hepatologie a Spitalului Clinic Republican, Chișinău, Republica Moldova. Lotul de studiu a fost constituit din 55 pacienți cu hepatită cronică virală C (HVC) din diferite localități ale republicii: 58,2% (32) femei și 41,8% (23) bărbați cu vârsta medie de $42,21 \pm 2,04$ ani. Lotul martor a fost alcătuit din 21 persoane practic sănătoase - 81% (17) femei și 19% (4) bărbați, cu vârsta medie $36,19 \pm 2,56$ ani, fără anamneză ereditară agravată, în absența patologiei hepatice și gastrointestinale, bolilor sistemului cardiovascular și țesutului conjunctiv, a dereglărilor autoimune și endocrine. Repartizarea bolnavilor în loturi a fost efectuată în funcție de faza infecției virale și în funcție de gradul de activitate al procesului inflamator hepatic. Caracteristica clinică a pacienților a fost efectuată în baza următoarelor sindroame clinice: asteno-vegetativ, dispeptic, algic și simptome clinice: hepatomegalia,

splenomegalia; semne de hipertensiune portală. Pentru evaluarea gradului de alterare hepatică s-a efectuat un complex de teste ce reflectă sindromul citolitic (ALT, AST), colestatic (bilirubină totală și conjugată, fosfataza alcalină, colesterolul total, gama-glutamyltranspeptidaza), hepatopriv (proteina generală, albuminele, indicele protrombinic), sindromul imuno-inflamator (analiza generală a sângelui, nivelul de IgA, IgM, IgG, CIC, limfocitele T totale și subpopulațiile lor: T act., T tfs. și T tfr. prin metoda rozetării cu teofilină). Pentru determinarea markerilor hepatitei virale s-a utilizat metoda analizei imunoenzimatice.

Gradul de activitate al procesului patologic hepatic a fost apreciat conform expresivității sindromului de citoliză, coleastă, hepato-depresiv și sindromului imuno-inflamator. Aprecierea gradului de activitate a fost efectuată în baza indicilor: ALT, AST, bilirubină totală, Ig G, albumină. Conform criteriilor recomandate, bolnavii au fost divizați în 3 grupe: cu activitate minimă, moderată și maximă (Dumbrava V. T. Bolile ficatului: scheme și tabele. V. I. Chișinău, 2003, p. 53).

Examinarea stării ficatului s-a completat prin efectuarea ecografiei abdominale, gama-scintigrafiei hepato-splene.

Acest studiu vizează determinarea concentrației serice a microelementelor, în special al cuprului (Cu) în serul sanguin la pacienții cu hepatită cronică virală C. Nivelul cuprului seric s-a studiat în funcție de sex, vârstă, durata bolii, gradul de activitate al procesului inflamator hepatic și al infecției virale, utilizându-se aceleași criterii de divizare. În rezultatul studiului s-au constatat concentrații sporite ale cuprului seric care corelează cu faza infecției virale și gradul de activitate a procesului inflamator hepatic la pacienții cu hepatită cronică virală C comparativ cu persoanele sănătoase.

Prin urmare, în baza datelor investigațiilor efectuate, s-a constatat că identificarea acestui raport (Cu/ALT) permite stabilirea mai exactă a gradului de activitate al procesului inflamator hepatic. Aceste date sunt reflectate în tabel.

Raportul dintre nivelul cuprului în sânge și valorile alaninaminotransferazei

Indicii	Lot martor n=21	Grad ușor n=25	Grad mediu n=15	Grad înalt n=15
Cu/ALT	0,59±0,05	0,51±0,04	0,4±0,06	0,15±0,02

Această metodă se realizează prin determinarea nivelului alaninaminotransferazei și al cuprului seric. Pentru determinarea concentrației serice a cuprului a fost colectat sânge din vena cubitală pe nemâncate. Apoi sângele a fost supus centrifugării timp de 15 minute, la 3000 rot/min. Dozarea cuprului în serul sanguin s-a efectuat prin metoda colorimetrică cu ajutorul seturilor de reagenți ale firmei ELITEH (Franța), conform instrucțiunilor anexate la test.

Concentrația alaninaminotransferazei a fost determinată prin metoda cinetică cu ajutorul seturilor de reagenți ale firmei ELITEH (Franța), conform instrucțiunilor anexate la test.

Metoda de determinare a gradului de activitate a hepatitei cronice virale C se efectuează prin determinarea nivelului alaninaminotransferazei și a cuprului în sânge, după care se determină raportul dintre nivelul cuprului față de nivelul alaninaminotransferazei, și dacă raportul este de 0,47...0,55 se stabilește un grad ușor de activitate, dacă raportul este de 0,34...0,46 se stabilește un grad mediu de activitate, iar dacă raportul este de 0,13...0,17 se stabilește un grad înalt de activitate a hepatitei cronice virale C.

Exemplul 1

Bolnavul B., 35 de ani, a fost internat cu acuze la: astenie fizică moderată; disconfort periodic în regiunea hipocondrului drept. Se consideră bolnav de hepatită cronică virală C de 3 ani. Starea generală satisfăcătoare. Examenul sistemului respirator și cardiovascular nu a pus în evidență careva modificări patologice. T/A - 125/80 mmHg, FCC - 72 b/m. Sistemul digestiv: limba umedă, curată. Abdomenul normal conformat, ușor sensibil la palparea ficatului. Limitele ficatului după Curlov: 16 cm, 12 cm și 10 cm. La palpare ficatul proeminează de sub rebordul costal cu 5 cm din contul ambilor lobi, având o consistență semielastică, margine rotunjită. Splina nu se palpează.

Datele de laborator și instrumentele.

Hemograma: Hb 161 g/L, Er $5,07 \times 10^{12}/L$, leucocite $6,9 \times 10^9/L$, nes. 2%, segm. 58%, eoz. 1%, limf. 31%, mon. 8%, Tr $178 \times 10^9/L$, VSH-27 mm/o. Analiza biochimică a sângelui: ALT - 44 U/L, AST - 31 U/L, bilirubina totală 14,49 $\mu\text{mol/L}$ (indirectă - 12,42 $\mu\text{mol/L}$), fosfataza alcalină 182 U/L, proteina totală 73,3 g/L, albumina 43,0 g/L, protrombina 94%, Ig G - 1,2 g/L. Marcherii serologici virali: HbsAg - negativ, antiHbsAg - negativ, antiHBcor sum - negativ, antiHbe - negativ, antiHVC sumar - pozitiv, antiHVC IgM - pozitiv, ARN - HVC cantitativ: 7.231.362 copii/mL. Microelementele în serul sanguin: K - 5,20 mmol/L, Na - 152,72 mmol/L, Ca - 2,37 mmol/L, P - 1,37 mmol/L, Mg - 1,03 mmol/L, Fe - 15,1 $\mu\text{mol/L}$, Cu - 23,0 $\mu\text{mol/L}$, Zn - 7,4 $\mu\text{mol/L}$.

USG organelor interne: concluzie - hepatomegalie (ficatul: lob drept - 16,0 cm, lob stang - 8,4 cm, ecogenitate sporită). Vena portă 1,2 cm, vena lienală 0,8 cm, vezica biliară deformată, pereții îngroșați, coledocul nu este dilatat, splina 11,8 cm x 8,4 cm.

Raportul Cu/ALT = 0,52. Având în vedere că indicele înregistrat se include în intervalul 0,47...0,55, este stabilit un grad ușor de activitate a hepatitei cronice. Aceasta este confirmat și de analiza datelor

MD 219 Y 2010.06.30

5

biochimice (ALT - 44 U/L, AST - 31 U/L, bilirubina totală 14,49 $\mu\text{mol/L}$, albumina 43,0 g/L, Ig G - 1,2 g/L).

Diagnosticul: hepatită cronică de etiologie virală HVC, faza de reactivitate (viremie înaltă), grad ușor.

Exemplul 2

- 5 Bolnavul S., 30 de ani, a fost internat cu acuze la: astenie fizică moderată; dureri neînsemnate periodice în regiunea hipocondrului drept fără iradiere. Se consideră bolnav de hepatită cronică virală C de 2 ani. Starea generală satisfăcătoare. Examenul sistemului respirator și cardiovascular nu a pus în evidență careva modificări patologice. T/A - 120/75 mmHg, FCC - 70 b/m. Sistemul digestiv: limba umedă, curată. Abdomenul normal conformat, ușor sensibil la palparea ficatului. Limitele ficatului după
- 10 Curlov: 13 cm, 10 cm și 8 cm. Palpator ficatul proeminează de sub rebordul costal cu 4 cm preponderent din contul lobului drept, având consistență elastică, margine rotunjită. Splina nu se palpează. Datele de laborator și instrumentale. Hemograma: Hb 164 g/L, Er $5,52 \times 10^{12}/\text{L}$, leucocite $6,9 \times 10^9/\text{L}$, nes. 1%, segm. 60%, eoz. 1%, limf. 35%, mon. 3%, Tr $172 \times 10^9/\text{L}$, VSH-2 mm/o. Analiza biochimică a sângelui:
- 15 ALT - 318 U/L, AST - 231 U/L, bilirubina totală 10,35 $\mu\text{mol/L}$ (directă-2,07 $\mu\text{mol/L}$, indirectă - 8,28 $\mu\text{mol/L}$), fosfataza alcalină 248 U/L, proteina totală 72,3 g/L albumina 40,0 g/L, Ig G - 2,5 g/L, protrombina 97%. Marcherii serologice virali: HbsAg - neg, antiHBsAg - neg, antiHBcor sum - neg, antiHbe - neg, antiHVC sum pozitiv, anti HVC IgM pozitiv. Elementele chimice în serul sanguin: K - 4,76 mmol/L, Na - 132,51 mmol/L, Ca - 2,19 mmol/L, P - 1,40 mmol/L, Mg - 1,0 mmol/L, Fe - 19,5 $\mu\text{mol/L}$, Cu - 54,8 $\mu\text{mol/L}$, Zn - 7,4 $\mu\text{mol/L}$. USG organelor interne: - hepatomegalie (ficatul: lob drept - 13,7 cm, lob stâng - 7,4 cm, ecogenitate sporită). Vena portă 1,1 cm, vena lienală 0,9 cm. Splina 12,4 cm x 4,9 cm.

- 20 Raportul Cu/ALT= 0,17. Având în vedere că indicele înregistrat se include în intervalul 0,13...0,17, este constatat un grad înalt de activitate a hepatitei cronice. Aceasta este confirmat și de analiza datelor biochimice (ALT - 318 U/L, AST - 231 U/L, bilirubina totală 10,35 $\mu\text{mol/L}$, albumina 40,0 g/L, Ig G - 2,5 g/L).

Diagnosticul: Hepatită cronică de etiologie virală HVC, faza de reactivare virală, grad înalt.

30

(57) Revendicări:

- Metodă de determinare a gradului de activitate a hepatitei cronice virale C, care constă în aceea că se determină nivelul alaninaminotransferazei și a cuprului în sânge, apoi se determină raportul dintre nivelul cuprului față de nivelul alaninaminotransferazei, și dacă raportul este de 0,47...0,55 se stabilește
- 35 un grad ușor de activitate, dacă raportul este de 0,34...0,46 se stabilește un grad mediu de activitate și dacă raportul este de 0,13...0,17 se stabilește un grad înalt de activitate a hepatitei cronice virale C.

40

(56) Referințe bibliografice:

1. RU 2303261 C1 2007.07.20

Director adjunct Departament:

GUȘAN Ala

Examinator:

GROSU Petru

Redactor:

UNGUREANU Mihail

RAPORT DE DOCUMENTARE

pentru cerere de brevet de invenție de scurtă durată conform art.52(2) a Legii nr. 50/2008

(21) Nr. depozit: s 2010 0041		
(22) Data depozit: 2010.03.05		
(51) IPC: Int. Cl.: A61B 10/00 (2006.01) C12Q 1/48 (2006.01) G01N 33/49 (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul: Metodă de determinare a gradului de activitate a hepatitei cronice virale C (71) Solicitantul: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD		
I. Condiția de unitate a invenției ☒ satisface ☐ nu satisface. Notă:		
II. Minimul de documente consultate: MD, EA MD 1994-2010 EA 1995-2010		
III. Domeniul de documentare: Indicii IPC (ultima redacție): Int. Cl.: A61B 10/00 (2006.01) C12Q 1/48 (2006.01) a) G01N 33/49 (2006.01) b) Termeni caracteristici, cuvinte-cheie, sinonime: hepatită virală C, вирусный гепатит C		
IV. Documente considerate a fi relevante		
Categoria	Date de identificare ale documentelor citate și, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Relevant față de revendicarea nr.
A,D	RU 2303261 C1 2007.07.20	1
A	MD 34 Z 2009.06.30	1
A	MD 2149 G2 2003.04.30	1
A	MD 2848 G22005.09.30	1
A	MD 3300 G2 2007.04.30	1
Categorii de documente citate		
A - document care definește stadiul anterior în general	O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere etc.	
X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă	P - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate	
Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură	T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria care fundamentează invenția	
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după această dată	D - Document menționat în descrierea cererii de brevet	
Data finalizării documentării	2010-04-09	
Examinatorul	Grosu Petru	