



УКРАЇНА

(19) UA (11) 32723 (13) U  
(51) МПК  
G01N 33/493 (2008.01)  
A61P 13/12 (2008.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ З РЕЦИДИВНИМ ПЕРЕБІГОМ

1

(21) u200800814

(22) 23.01.2008

(24) 26.05.2008

(46) 26.05.2008, Бюл.№ 10, 2008 р.

(72) СТЕПАНОВА НАТАЛІЯ МИХАЙЛІВНА, UA,  
МИГАЛЬ ЛЮДМИЛА ЯКИМІВНА, UA, КОРОЛЬ  
ЛЕСЯ ВІКТОРІВНА, UA

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕФРО-  
ЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ", UA

(57) Спосіб оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивним перебігом, що включає визначення у сечі хворих на хронічний пієлонефрит рівнів активності ферментів до та після лікування, який відрізняється тим, що в сечі хворих визначають активність лізосомних канальцевих ферментів N-ацетил-β-D-

2

глюкозамінідази та β-галактозидази, і, якщо величини активності цих ферментів після курсу лікування досягають їх фізіологічних рівнів від 6,2 до 17,1 мкмоль/ммоль креатиніну за годину для N-ацетил-β-D-глюкозамінідази та від 4,5 до 14,6 мкмоль/ммоль креатиніну за годину для β-галактозидази, тобто зниження у разі підвищення їх до лікування за верхню межу їх фізіологічних коливань та підвищення у разі зниження їх до лікування нижче нижньої межі їх фізіологічних коливань, лікування оцінюють як ефективне, а за відсутності змін рівнів активності цих ферментів після курсу лікування або за наявності негативної їх динаміки, лікування оцінюють як неефективне.

Корисна модель належить до медицини, а саме до нефрології та урології і може бути використана для оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивним перебігом, що дозволить визначити об'єм та тривалість терапевтичних заходів у кожного конкретного хворого.

Хронічний пієлонефрит - це інфекційно-індуковане вогнищеve запалення інтерстиціальної тканини нирок з поступовим формуванням рубців та наступним ураженням усіх структур нефрону. Актуальність проблеми хронічного пієлонефриту обумовлена не тільки його широкою розповсюдженістю, але й відомими труднощами лікування. Неабиякого значення у погіршенні ефективності лікування набувають такі чинники як резистентність до антибактеріальних препаратів, розвиток інфекції сечової системи на тлі супутньої патології, відсутність адекватної тривалості та об'єму лікування. Все це призводить до частоті хронізації патологічного процесу, реінфекції та незадовільних результатів лікування. Для вибору оптимальної схеми лікування хронічного пієлонефриту у кожному конкретному випадку та, відповідно, зниження частоти його рецидивування важливо мати об-

єктивні критерії ефективності антибактеріальної терапії.

Відомий спосіб оцінки ступеня порушень функції паренхіми нирок у хворих на хронічний пієлонефрит (1), що включає динамічну та статичну реносцинтиграфію із застосуванням радіофармпрепарату <sup>99m</sup>Tc-пірофосфат. Застосування цього способу дозволяє встановити діагноз хронічного пієлонефриту та визначити ступень порушень функції нирок залежно від виду збудника.

Недоліками цього способу є те, що <sup>99m</sup>Tc-пірофосфат має клубочковий механізм елімінації, оскільки транспорт фосфатів через нирки обумовлений саме клубочковою фільтрацією. Відсутність накопичення в клітинах проксимальних канальців нефрону та висока вартість дослідження не дозволяють використовувати зазначений спосіб для оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит в повсякденній практиці.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб дослідження як маркерів хронічного пієлонефриту рівнів активності Ig-протеїназ сечі (2), взятий нами за прототип, який полягає у визначенні у сечі хворих на хронічний пієлонефрит ряду протеолітичних ферментів, а саме серино-

(13) U

(11) 32723

(19) UA

вих, металозалежних та тіолових протеїназ мікробного походження, які здатні при змінах вірулентності бактерій та в умовах їх суттєвого скупчення у сечовій системі розщеплювати імуноглобуліни та лишати слизові оболонки їх захисних властивостей.

Недоліками способу є недостатня інформативність, оскільки контроль ефективності терапії, що була застосована, а отже і контроль наявності або відсутності запального процесу в паренхімі нирок здійснювали опосередковано з урахуванням кількісних рівнів активності серинових та особливо тіолових протеїназ, головним джерелом яких у сечі є бактерії, та відсутність органної специфічності щодо паренхіми нирок, оскільки наявність у сечі великої кількості бактеріальних збудників, які є головним джерелом ферментів, що досліджувалися, може свідчити про запальний процес не тільки в паренхімі нирок, але й у сечовому міхурі, статевих органах пацієнтів тощо. Крім того, при реєстрації контрольних рівнів активності Ig-протеїназ сечі та, відповідно, при встановленні індивідуальних меж цих контрольних рівнів не було враховане середнє квадратичне відхилення ( $\sigma$ ) - величина, що дозволяє визначити ступінь варіювання ферментативних показників.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищити точність та удосконалити спосіб оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивним перебігом шляхом визначення у сечі рівнів активності лізосомних каналцевих ферментів N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази та  $\beta$ -галактозидази до та після лікування. Запропонований спосіб надасть можливість своєчасно оцінювати ефективність використаної терапії залежно від інтенсивності показників ферментурії хворих на хронічний пієлонефрит та використовувати одержані дані для обґрунтованої розробки подальшої лікувальної тактики цих хворих, що, в свою чергу, приведе до зниження частоти рецидивування захворювання. Одночасне визначення до та після лікування у сечі хворих активності двох лізосомних ферментів, що мають переважну локалізацію в епітелії звивистих каналців проксимального відділу нефрону та різняться поміж собою тільки внутрішньолізосомним вмістом і різним ступенем міцності зв'язку з мембраною цієї органели, та мають на цій підставі певні органоспецифічні властивості щодо нирок, забезпечує під впливом лікування більш точну, більш надійну більш об'єктивну, тобто більш діагностично інформативну оцінку змін функціонального стану нефротелію тубулярного відділу нефрону.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивним перебігом, що включає визначення у сечі хворих на хронічний пієлонефрит рівнів активності ферментів до та після лікування, згідно з корисною моделлю, в сечі хворих визначають активність лізосомних каналцевих ферментів N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази та  $\beta$ -галактозидази, і, якщо величини активності цих ферментів після курсу лікування досягають їх фізіологічних рівнів від 6,2 до 17,1 мкмоль/ммоль креатиніну за годину для N-ацетил- $\beta$ -D-

глюкозамінідази та від 4,5 до 14,6 мкмоль/ммоль креатиніну за годину для  $\beta$ -галактозидази, тобто зниження у разі підвищення їх до лікування за верхню межу їх фізіологічних коливань та підвищення у разі зниження їх до лікування нижче нижньої межі їх фізіологічних коливань, лікування оцінюють як ефективне, а за відсутності змін рівнів активності цих ферментів після курсу лікування або за наявності негативної їх динаміки, лікування оцінюють як неефективне.

Спосіб оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивним перебігом виконують наступним чином: для визначення активності ферментів N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази та  $\beta$ -галактозидази до та після курсу лікування використовують ранкову порцію сечі, яку попередньо заморожують. Після розморожування сечі надлишок солей, що заважає визначенню активності ферментів, випадає в осад, сечу фільтрують. При визначенні активності N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази в пробірку беруть 0,2 мл профільтрованої сечі і додають до них 0,3 мл 0,1 М нітратного буферу pH 4,15 та 0,2 мл субстрату, який включає 10 мМ розчин 4-нітрофеніл-2-ацетамідо-2-дезоксі- $\beta$ -D-глюкопіранозиду у 0,1 М нітратному буфері pH 4,15. При визначенні активності  $\beta$ -галактозидази в пробірку беруть 0,2 мл профільтрованої сечі і додають до них 0,3 мл 0,1 М нітратного буферу pH 4,0 та 0,2 мл субстрату, який включає 5,0 мМ розчин 4-нітрофеніл- $\beta$ -D-галактопіранозиду у 0,1 М цитратному буфері pH 4,0. Подальший хід виконання ферментативних реакцій в пробах є загальним для визначення як активності N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази, так і активності  $\beta$ -галактозидази. Проби інкубують 30 хвилин при 37°C, ферментативну реакцію зупиняють додаванням 0,8 мл 0,1 М розчину вуглекислого натрію. Оптичну щільність пара-нітрофенолу, що утворився, вимірюють на фотоелектроколометрі при 400 нм проти контрольної проби, у яку розчин субстрату вносять після припинення ферментативної реакції. Активність N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази сечі розраховують у мкмольх пара-нітрофенолу, що утворився протягом 1 години, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі, вміст якого визначають за кольоровою реакцією Яффе з пікриновою кислотою.

Апробація способу, що заявляється, проведена у відділенні нефрології та діалізу і лабораторії біохімії ДУ "Інститут нефрології АМН України" у 52 пацієнтів віком від 18 до 45 років з верифікованим діагнозом - хронічний неускладнений пієлонефрит з рецидивуючим перебігом та у 25 практично-здорових осіб з нормальними загальними аналізами сечі та без наявності хвороб нирок в анамнезі (група контролю). Критеріями включення до дослідження були наявність бактеріурії  $\geq 10^5$  КУО/мл та часте рецидивування (більше 3 разів на рік). Поряд із загальновідомими клініко-лабораторними, інструментальними та візуалізаційними методами дослідження у сечі хворих до та після лікування визначали активність N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази та  $\beta$ -галактозидази.

Рівні активності як N-ацетил-β-D-глюкозамінідази, так і β-галактозидази сечі у групі контролю не залежали від віку та статі досліджуваних. У обстежених пацієнток швидкість клубочкової фільтрації була у межах норми та в середньому дорівнювала  $86 \pm 15,2$  мл/хв. Хворі отримували антибактеріальну терапію: фторхінолони, цефалоспорины, сульфаніламід, аміноглікозиди, один з яких використовували згідно до встановленої чутливості виявлених збудників, а також біфіформ або лактовіт.

Результати досліджень показали, що у сечі групи контролю активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази з урахуванням середньої арифметичної величини та її похибки ( $M \pm m$ ) дорівнювала  $11,64 \pm 0,72$  мкмоль/год/ммоль креатиніну,  $\sigma = 3,61$ , активність β-галактозидази -  $9,58 \pm 0,68$  мкмоль/год/ммоль креатиніну,  $\sigma = 3,37$  відповідно. Межі фізіологічних, або контрольних, коливань для рівнів активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази з урахуванням середнього квадратичного відхилення -  $M \pm 1,5\sigma$  (3), величини, що характеризує ступінь варіювання будь-якого показника, становили  $11,64 \pm 5,42$  мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто від 6,2 до 17,1, межі фізіологічних, або контрольних, коливань для рівнів активності β-галактозидази -  $9,58 \pm 5,06$  мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто від 4,5 до 14,6 відповідно. Отже, якщо активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі реєстрували у інтервалі від 6,2 до 17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну, а активність β-галактозидази сечі відповідно - у інтервалі від 4,5 до 14,6 мкмоль/год/ммоль креатиніну, то чисельні рівні їх активності відповідали фізіологічним, або контрольним, значенням.

Точність способу: похибка у двох паралельних визначеннях для активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази не перебільшує  $\pm 3,9\%$ , для активності β-галактозидази -  $\pm 3,3\%$ .

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

#### Приклад 1

Хвора Х-ва Є.В., 23 років, тематична карта №83. Діагноз: Хронічна хвороба нирок Іст.: неускладнений пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. Звернулася зі скаргами на дизурію, ніктурію, часте сечовипускання, тривалу субфебрильну температуру тіла та загальну слабкість. Хворіє впродовж 2 років з частими рецидивами (3-4 рази на рік). Симптом Пастернацького - позитивний з двох боків. Загальний аналіз крові: L -  $8,5 \times 10^9$ /л; ШОЕ - 18 мм/год; Загальний аналіз сечі: непрозора, білок - 0,099 г/л; L-густо все п/з; бактерії-багато. Бактеріологічне дослідження сечі: E.coli  $\times 10^6$  КУО/мл. Після призначення протягом 10 днів курсу антибактеріального лікування (цефтибутен) згідно результатам встановлення чутливості до певних антибіотиків, скарги у хворої були відсутні, симптом Пастернацького - негативний з двох боків; у загальних аналізах крові та сечі патології не виявлено. Бактеріальний засів росту мікрофлори не виявив.

При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі до лікування становила

$20,12$  мкмоль/год/ммоль креатиніну, після лікування -  $10,28$  відповідно, тобто досягла нормальних величин шляхом зменшення рівня активності, що був до лікування, приблизно у 2 рази. Активність β-галактозидази сечі до лікування становила  $28,74$  мкмоль/год/ммоль креатиніну, після лікування - відповідно  $6,33$ , тобто досягла нормальної величини за рахунок зниження вихідного рівня приблизно у 4,5 рази. Отже, після лікування обидва ензимологічні показники досягли середніх фізіологічних рівнів (в інтервалі від 6,2 до 17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну для активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі та у інтервалі від 4,5 до 14,6 мкмоль/год/ммоль креатиніну для активності β-галактозидази сечі), що свідчить про позитивний вплив використаної терапії і достатню ефективність лікування. Хворій призначена профілактична терапія: журавлинний сік - 300 мл на добу впродовж 5 днів на тиждень протягом 6 місяців з наступним контрольним обстеженням; диспансерне спостереження за місцем проживання.

#### Приклад 2

Хвора Б-к Н.В., 33 років, тематична карта №11. Діагноз: Хронічна хвороба нирок Іст.: неускладнений пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. Супутній сечостатевий уреоплазмоз. Скарги при звертанні: відчуття болю, печії та дискомфорту під час сечовипускання, ніктурія, загальна слабкість, нудота та часте рецидивування перелічених симптомів. Хворіє впродовж 4,5 років. Температура тіла -  $37,7^\circ\text{C}$ . Симптом Пастернацького - (+) з двох боків. Загальний аналіз крові: L -  $7,9 \times 10^9$ /л; ШОЕ - 21 мм/год. Загальний аналіз сечі: непрозора; білок - 0,066 г/л; L - негусто п/з; бактерій багато. Бактеріологічний засів сечі: E.coli -  $10^5$  КУО/мл. В зішкрябах з уретри та в сечі була виявлена U.urealyticum. Після призначення десятиденного курсу антибактеріальної терапії (абактал), що була спрямована на ерадикацію виявлених збудників, хвора скарг не пред'являла, симптом Пастернацького - (-) з двох боків, загальні аналізи крові та сечі - без особливостей. Бактеріальний засів росту E.coli та U.urealyticum не виявив. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі до лікування становила  $4,01$  мкмоль/год/ммоль креатиніну, після лікування -  $12,9$  відповідно, тобто нормалізувалася в результаті збільшення вихідного рівня приблизно у 3 рази. Активність β-галактозидази сечі до лікування становила  $0,4$  мкмоль/год/ммоль креатиніну, після лікування -  $7,78$  відповідно, тобто досягла нормальних величин за рахунок зростання активності ферменту, що реєструвалася до лікування, приблизно у 19,5 разів. Отже, після лікування обидва ензимологічні показники досягли середніх фізіологічних рівнів (в інтервалі від 6,2 до 17,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну для активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі та у інтервалі від 4,5 до 14,6 мкмоль/год/ммоль креатиніну для активності β-галактозидази сечі), що свідчить про позитивний вплив використаної терапії і достатню ефективність лікування. Хворій призначена профілактична терапія: журавлинний сік - 300 мл на добу впродовж 5 днів на тиждень протягом 6 місяців з

наступним контрольним обстеженням; диспансерне спостереження за місцем проживання.

#### Приклад 3

Хвора М-к Л.Н., 41 рік, тематична карта №59. Діагноз: Хронічна хвороба нирок ІІст.: неускладнений пієлонефрит, рецидивний перебіг. Скарги до лікування на тривалу субфебрильну температуру тіла, відчуття дискомфорту під час сечовипускання, загальну слабкість, ніктурію, періодичну нудоту. Хворіє протягом 15 років з частим рецидивуванням, особливо протягом останніх 3-х років, до 4 разів на рік, незважаючи на неодноразове проходження курсів антибактеріального лікування. Об'єктивно: температура тіла -37,4°C; симптом Пастернацького - позитивний з двох боків. Загальний аналіз крові: L -  $6,9 \times 10^9/\text{л}$ ; ШОЕ - 17 мм/год. Загальний аналіз сечі: непрозора, білок - сліди, L - 20-25 в п/з. Бактеріальне дослідження сечі: E. coli  $\times 10^5 \text{ КУО/мл}$ . Через 10 днів після застосування антибактеріальної терапії (пєфлєксацин) згідно до встановленої чутливості виявленого збудника, скарги були відсутні, симптом Пастернацького - слабо позитивний з двох боків, загальні аналізи крові та сечі - без особливостей. За результатами повторного бактеріологічного обстеження визначено, що повної ерадикації виявленого у хворі збудника (E.coli) досягнуто не було. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі до лікування становила 22,05 мкмоль/год/ммоль креатиніну, після лікування - 38,56 відповідно, тобто у цієї пацієнтки до лікування мало місце суттєве підвищення активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі за верхню межу її фізіологічних коливань, після закінчення курсу лікування рівні активності цього ферменту ще більш підвищилися приблизно у 1,75 рази, тобто мала місце негативна динаміка змін цього ферменту. Активність β-галактозидази сечі до лікування становила 0,72 мкмоль/год/ммоль креатиніну, після лікування - відповідно 3,64. Тобто, у даному випадку, хоча і мало місце досить суттєве (приблизно у 5,0 разів) підвищення цього ферменту після закінчення курсу лікування, але нижньої межі його нормальних коливань так і не було досягнуто. Отже, результати аналізу змін рівнів активності обох ферментних показників, свідчать про наявність запального процесу в паренхімі нирок у цієї пацієнтки та відповідно про недостатню ефективність терапевтичних заходів, що застосовувалися. Хворій було рекомендовано продовжити антибактеріальне лікування згідно результатам бактеріального засіву сечі до повної ерадикації збудника та повторити запропоноване обстеження після закінчення терапії.

З наведених прикладів видно, що застосування запропонованого способу дозволяє вірогідно оцінити у кожної пацієнтки окремо вплив антибак-

теріальної терапії на активність запального процесу саме в паренхімі нирок, що необхідно враховувати поряд з іншими клініко-лабораторними показниками для оптимізації подальшої лікувальної тактики, оскільки за допомогою лише загальноприйнятих клініко-лабораторних показників активності запального процесу (скарги, підвищення температури тіла, показники лейкоцитозу, підвищення ШОЕ, лейкоцитурія тощо), які відбивають загальну реакцію макроорганізму у відповідь на мікробно-запальний процес, а також тільки за наявності (відсутності) бактеріурії та її ступеня неможливо надати об'єктивну оцінку ефективності проведеного лікування щодо активності запального процесу безпосередньо в паренхімі нирок.

Найбільш вагомим перевагою способу, що заявляється, є його органоспецифічність щодо нирок за рахунок застосування визначення рівнів активності одночасно двох ферментів, що мають спільну лізосомну локалізацію та відносяться до ферментів з найбільш вираженими серед відомих на сьогодні реноспецифічними властивостями, що дозволяє найбільш об'єктивно оцінити ефективність проведеного лікування. Крім того, вираховування при встановленні діапазону меж контрольних рівнів активності як для N-ацетил-β-D-глюкозамінідази, так і для β-галактозидази не тільки результатів середньої арифметичної величини та її похибки, але також і величини середнього квадратичного відхилення -  $M \pm 1,5\sigma$ , робить спосіб, що заявляється, більш точним, об'єктивним та відтворюваним, тобто таким, що цілком відповідає сучасним вимогам до даних лабораторного аналізу. Абсолютна безпечність цього способу дозволяє використовувати його неодноразово в процесі лікування.

Таким чином, спосіб оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивним перебігом є абсолютно безпечним, нескладним у виконанні, добре відтворюваним та високоінформативним: специфічність запропонованого способу складає 92%, чутливість - 86,8%, діагностична ефективність - 88,2%.

Джерела інформації, прийняті до уваги при експертизі:

1. Пат.КМ №14330, МПК (2006) G01N33/58, G01N23/00, G03B42/00, A61K51/00. Спосіб оцінки ступеня порушень функції нирок у хворих з інфекцією сечової системи / Степанова Н.М., Руденко А.В., Кундін В.Ю.; ІНАМНУ; №u200510422, 04.11.2005; Опуб. 15.05.2006, Бюл. №5. - 3с.

2. Спектр и активность Ig-протеиназ мочи как маркер хронического пиелонефрита / О.Д. Зинкевич, Ю.А. Глушко, Н.А. Сафина, Ю.А. Тюрин // Терапевт, архив. - 2004. - Т.76, №4 - С.43-45 (прото-тип).

3. Власов В.В. Эффективность диагностических исследований. - М.: Медицина, 1988. - 180с.