



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34294 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 33/535
A61B 5/20

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ АКТИВНОСТІ ФІБРОПЛАСТИЧНОГО ПРОЦЕСУ У ДІТЕЙ З ОБСТРУКТИВНИМИ НЕФРОПАТІЯМИ

1

(21) u200801924

(22) 15.02.2008

(24) 11.08.2008

(46) 11.08.2008, Бюл.№ 15, 2008 р.

(72) СЕЙМІВСЬКИЙ ДАНИЛО АНТОНОВИЧ, UA, ПЕТЕРБУРГСЬКИЙ ВОЛОДИМИР ФЕДОРОВИЧ, UA, ПОРОШИНА ТЕТЯНА ВІКТОРІВНА, UA, БАГДАСАРОВА ІНГРЕТА ВАРТАНІВНА, UA, КАЛІЩУК ОЛЕСЬ АРКАДІЙОВИЧ, UA, КАЛІНІНА НАТАЛІЯ АЛЬБЕРТІВНА, UA, ЛАВРЕНЧУК ОЛЬГА ВАСИЛІВНА, UA, ДРАННІК ГЕОРГІЙ МИКОЛАЙОВИЧ, UA
(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ УРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ", UA, ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕФРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ", UA

2

(57) Спосіб оцінки активності фібропластичного процесу у дітей з обструктивними нефропатіями, що включає визначення в біологічній тканині профіброгенного цитокіну, який відрізняється тим, що додатково проводять моніторинг профіброгенного цитокіну TGF- β_1 в сечі із сечового міхура у дітей до і після хірургічного чи терапевтичного лікування і, при збільшенні рівня TGF- β_1 вище за нормальний при первинному обстеженні чи збереженні або збільшенні його екскреції при динамічному спостереженні, функціональний стан нирки оцінюють як погіршений, а зменшення його рівня вказує на нормалізацію функціонального стану нирки.

Корисна модель належить до медицини, а саме до дитячої уронефрології і може бути використана для моніторингу активності фібропластичного процесу в нирках у дітей з обструктивними нефропатіями в процесі лікування.

Встановлено, що незалежно від виду первинного ушкодження, нирки піддаються адаптивним гемодинамічним, біохімічним, клітинним та молекулярним змінам, які, за відсутності лікування, призводять до перебудови тубулоінтерстиціальної тканини з ймовірним виходом у нефросклероз. Вроджені обструктивні нефропатії у дітей є однією з найбільш частих причин хронічної ниркової недостатності і характеризуються послідовним втягненням тубулоінтерстиціальної тканини у патологічний процес, а тубулоінтерстиціальний фіброз є патоморфологічною основою незворотних змін паренхіми нирки. Основу тубулоінтерстиціального фіброзу становить низка внутрішньониркових процесів, що призводять до атрофії каналців, розширенню інтерстиціального об'єму та втрати перитубулярних капілярів. Центральним ланцюгом в цих механізмах є активація тубулярних епітеліальних клітин з продукцією ними молекулярних медіаторів запалення і фіброзу, що зумовлюють формування і прогресування тубулоінтерстиціального фіброзу.

Відповідним наслідком цих структурних змін стає практично незворотне порушення функції нирки.

Трансформуючий фактор росту -TGF- β_1 виступає ключовим фактором, що індукує утворення екстрацелюлярних матриксних протеїнів, а саме, фібрoneктину, колагену I, II, III, IV типів, що посилює порушення внутрішньониркової гемодинаміки, зумовлених обструктивним процесом сечової системи. Показано, що дисрегуляція контрольно-регуляторної функції екскреції TGF- β_1 призводить до порушення функції тубулоінтерстиціального компоненту паренхіми нирки. Отже, визначення рівня екскреції TGF- β_1 у сечі дітей з обструктивними нефропатіями (гідронефроз, обструктивний мегауретер, міхурово-сечовидний рефлюкс) може бути одним з неінвазивних біомаркерів активності фібропластичного процесу в паренхімі нирок у дітей з обструктивними нефропатіями, що може бути одним із критеріїв оцінки ступеня відновлення функції нирки в процесі лікування.

За останні роки описані клінічні результати визначення TGF- β_1 , які демонструють взаємозв'язок між його рівнем та ступенем тубулоінтерстиціального ушкодження і фіброзу, які засновані на кількісній оцінці матричного рибонуклеїнового антигену - mRNA TGF- β_1 в нефробиоптатах.

UA (19)
34294 (11)
U (13)

Відомий спосіб оцінки надмірної проліферації сполученої тканини при нефросклерозі [1], який полягає у визначенні в біологічній тканині експресії mRNA TGF- β_1 та показано, що в нефробиоптатах виражена мезангіальна проліферація і сегментарний гломерулосклероз, які супроводжуються збільшенням експресії mRNA TGF- β_1 .

Недоліком способу є його інвазивність, внаслідок чого виникає ризик розвитку ускладнень.

Відомий також спосіб діагностики обструкції мисково-сечовидного сегмента сечоводу [2], що взятий за прототип, який полягає у визначенні в біологічній тканині mRNA профіброгенного цитокіну TGF- β_1 і, при цьому обструкція мисково-сечовидного сегмента сечоводу супроводжується підвищенням mRNA TGF- β_1 і надмірним накопиченням колагену I і IV типів в інтерстиції нирки.

Недоліком способу є його інвазивність, що обмежує широке застосування в дитячій уронефрології.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб оцінки активності фібропластичного процесу у дітей з обструктивними нефропатіями шляхом визначення в динаміці через кожні 3 місяці в сечі з сечового міхура рівнів екскреції TGF- β_1 та використання одержаних даних в якості додаткових критеріїв щодо зворотності чи сповільнення темпів прогресування нефросклерозу після хірургічного чи терапевтичного лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб оцінки активності фібропластичного процесу у дітей з обструктивними нефропатіями, який включає визначення в біологічній тканині профіброгенного цитокіну, згідно з корисною моделлю, додатково проводять моніторинг профіброгенного

цитокіну TGF- β_1 в сечі із сечового міхура у дітей до і після хірургічного чи терапевтичного лікування і при збільшенні рівня TGF- β_1 вище за нормальний при первинному обстеженні чи збереженні або збільшенні його екскреції при динамічному спостереженні, функціональний стан нирки оцінюють як погіршений, а зменшення його рівня вказує на нормалізацію функціонального стану нирки.

Спосіб оцінки активності фібропластичного процесу у дітей з обструктивними нефропатіями виконують наступним чином: у дітей визначають в сечі, яка взята під час фізіологічного сечовипускання, рівень екскреції профіброгенного цитокіну TGF- β_1 імуноферментним методом на тестсистемах виробника "DRG" у відповідності з інструкцією виробника. Оптичну щільність визначають на спектрофотометрі STAT FAX PLUS 303 при 405-620 нм. На підставі даних оптичної щільності стандартів з відомими концентраціями речовини автоматично проводиться перерахунок показників у одиниці концентрації. Результати виражають в одиницях маси (пг) на одиницю об'єму (мл).

Апробацію способу оцінки активності фібропластичного процесу у дітей з обструктивними нефропатіями проведено у відділах дитячої урології ДУ "Інститут урології АМНУ" та ДУ "Інститут нефрології АМНУ" у 28 дітей з обструктивними нефропатіями (гідронефроз, мегауретер) у віці від 3 місяців до 15 років, які знаходилися на стаціонарному лікуванні, а також у 10 практично здорових дітей того ж віку. Узагальнені дані наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Концентрація TGF- β_1 в сечі дітей з обструктивними нефропатіями

Групи обстежених	Кількість обстежених	TGF- β_1 (пг/мл)	Статистичний показник Р
Діти з обструктивними нефропатіями	n = 28	15,3 ± 4,35	<0,001
Контроль	n = 10	1,4 ± 0,32	

Як свідчать наведені дані, середня величина TGF- β_1 в сечі, яка отримана з сечового міхура, дітей з обструктивними нефропатіями, в середньому складає 15,3±4,35 пг/мл, що значно перевищує показники пацієнтів контрольної групи - 1,4±0,32 пг/мл (p<0,001). Розподіл показника в групі хворих з обструктивними нефропатіями знаходиться в межах від 8,8 до 36,2 пг/мл, а здорових - від 0 до 2,5 пг/мл. Отже, крайні межі коливань показника TGF- β_1 у сечі з сечового міхура поміж групами здорових дітей та хворих з обструктивними нефропатіями не перехрещуються, що свідчить про високу діагностичну інформативність даного показника.

Збільшення показників рівня TGF- β_1 вище за нормальний при первинному обстеженні чи збереження або збільшення його екскреції при динамічному обстеженні через кожні 3-4 місяця, в порівнянні з даними первинного дослідження,

оцінюють як погіршення функціонального стану нирки за рахунок активного фібропластичного процесу.

Зменшення рівнів TGF- β_1 у сечі з сечового міхура у дітей, що були прооперовані у зв'язку з обструктивними нефропатіями на тлі обструкції сечоводу, свідчить про нормалізацію функціонального стану нирки та вповільнення процесу формування тубулоінтерстиціального фіброзу.

Наводимо приклади практичного застосування способу, що заявляється.

Приклад 1.

Хворий К-к 14 років, поступив у відділення дитячої урології зі скаргами на періодичні болі у правій поперековій ділянці. Загальний аналіз крові та сечі без патологічних змін. Бактеріальний засів сечі (-). При обстеженні, за даними УЗД, права нирка: розміри 15,0×9,0 см, товщина паренхіми:

мінімальна (мін.) 0,4см, максимальна (макс.) 0,5см, ниркові чашечки -2,2см, передньо-задній розмір ниркової миски - 3,4см. Ліва нирка - у межах норми. Екскреторна урографія: права нирка - контрастна речовина не виділяється до 180хв.; ліва нирка - початок контрастування на 10хв., повна евакуація контрастної речовини спостерігається на 60хв. Клінічний діагноз: обструкція мисково-сечовидного сегменту справа, гідронефроз, III ступінь. Застосування способу, що заявляється, показало, що рівень TGF- β_1 у сечі з сечового міхура становив 20,9пг/мл. Хворому була проведена операція - пластика мисково-сечовидного сегмента за Hynes-Andersen. При обстеженні після операції за даними візуалізаційних методів обстеження встановлено відновлення прохідності сечоводу, але величини TGF- β_1 у сечі з сечового міхура через 3 та 6 місяців після операції продовжували залишатися майже на доопераційному рівні, відповідно - 18,0пг/мл і 17,6пг/мл. Це вказує на те, що незважаючи на відновлення прохідності сечоводу, у дитини зберігається активність процесу формування тубулоінтерстиціального фіброзу оперованої нирки, ймовірність відновлюваних процесів у нефротелії якої є низькою за відсутності ренопротекторної терапії.

Приклад 2.

Хворий В-к, 1 рік 1міс., поступив у відділення дитячої урології для оперативного лікування з приводу вродженого лівобічного гідронефрозу. Загальні аналізи крові та сечі - без особливостей. Бактеріальний засів сечі (-). УЗО: ліва нирка: розміри 7,2×2,7см, товщина паренхіми - 0,6 см, чашечки -1,4см, ниркова миска -1,7см. Права нирка - у межах норми. Екскреторна урографія: з лівого боку - деформовані та розширені чашечки та ниркова миска до 2,5см, ознак евакуації контрастної речовини до 120хв. не спостерігається; з правого боку - на 10хв. контрастуються нерозширені чашечки та ниркова миска, на 60хв. - повна евакуація контрастної речовини. Клінічний діагноз: обструкція мисково-сечовидного сегменту зліва, гідронефроз, II ступінь. Застосування способу, що заявляється, показало, що рівень TGF- β_1 у сечі з сечового міхура становив 16,4пг/мл. Хворому зроблена пластика мисково-сечовидного сегмента за Hynes-Andersen. За даними візуалізаційних методів встановлено відновлення прохідності сечоводу. Рівень активності TGF- β_1 у сечі з сечового міхура через 3 місяця після операції - 12,7пг/мл, ще через 6 місяців - 8,1пг/мл, що свідчить про поступове покращення функції нефротелію проксимальних каналців оперованої нирки (при нормі у середньому 1,4±0,32пг/мл) та вповільнення активності фібропластичного процесу, а отже і ефективність оперативного втручання.

Приклад 3.

Хворий Д-ко, 5 років, поступив у відділення дитячої урології без скарг для оперативного лікування з приводу асимптоматичного вродженого обструктивного лівобічного мегауретеру. Захворювання було виявлене випадково при УЗО з неурологічних причин. Загальні аналізи крові та сечі - в нормі. Бактеріологічний засів сечі (-). УЗД : ліва нирка: розміри 7,3×3,2см, паренхіма - мін. 0,9см, макс. 0,9см, чашечки -1,5см, ниркова миска - 1,7см, діаметр сечоводу у верхній третині - 1,2см, у нижній третині - 1,2см. Права нирка: розміри 7,2×2,9см, паренхіма мін. - 1,1см, макс. - 1,1см без розширення збиральної системи нирки та сечоводу. Екскреторна урографія: початок контрастування помірно розширеної збиральної системи лівої нирки на 10хв., сечоводу - на 10хв., але на 60хв. контрастується розширений до 1,2см на всьому протязі сечовід та розширена збиральна система нирки, на 180хв. евакуація контрастної речовини з ураженої сторони у сечовий міхур не відбувається. З правого боку збиральна система нирки не розширена, сечовід не контрастується. Клінічний діагноз: обструкція сечовидно-міхурового сегменту, лівобічний мегауретер, II ступінь. Застосування способу, що заявляється, показало, що рівень TGF- β_1 у сечі з сечового міхура становив 13,4пг/мл. Хворому виконана органозберігаюча пластикна операція. Динамічне (через кожні 3 місяця) обстеження хворого показало поступове зниження екскреції TGF- β_1 . При обстеженні через 12 місяців після операції рівень TGF- β_1 у сечі з сечового міхура становив 4,5пг/мл, що свідчить про суттєве зниження активності фібропластичного процесу в паренхімі оперованої нирки. Отже, при продовженні ренопротекторної терапії можна розраховувати на функціональну реабілітацію нефротелію оперованої нирки.

Таким чином, спосіб оцінки активності фібропластичного процесу у дітей з обструктивними нефропатіями за динамікою екскреції рівнів TGF- β_1 у сечі з сечового міхура є інформативним, неінвазивним та нетривалим у виконанні способом, який може бути використаний в якості додаткового діагностичного та прогностичного критерію зворотності чи сповільнення темпів прогресування нефросклерозу після хірургічного або терапевтичного лікування.

Джерела інформації:

1. Lai K.N., Ho R.T., Li P.K. Transforming growth factor-beta mRNA expression in CD4+ T cells from patients primary glomerulonephritis //Scand. J. Urol. Nephrol. - 1996. -Vol.30, N3. -P.223-226.
2. Clinical and molecular markers of chronic interstitial nephropathy in congenital unilateral ureteropelvic junction obstruction./Murer L, Benetti E, Centi S, Delia Vella та ін. /J Urol.- 2006.- vol.176.- P.2668-2673 (прототип).