



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46621 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ АКТИВНОСТІ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ В НИРКАХ У ДІТЕЙ З ПІЄЛОНЕФРИТОМ

1

(21) u200908016

(22) 29.07.2009

(24) 25.12.2009

(46) 25.12.2009, Бюл.№ 24, 2009 р.

(72) СЕРБІНА ІРИНА ЄВГЕНІВНА, МИГАЛЬ ЛЮДМИЛА ЯКИМІВНА, НІКУЛІНА ГАЛИНА ГРИГОРІВНА, БАГДАСАРОВА ІНГРЕТА ВАРТАНІВНА, ФОМІНА СВІТЛАНА ПЕТРІВНА, ЛАВРЕНЧУК ОЛЬГА ВАСИЛІВНА

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ УРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ", ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕФРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ"

2

(57) Спосіб визначення ступеня активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом, що включає визначення активності ферментів у сечі дітей з пієлонефритом, який **відрізняється** тим, що визначають рівень активності γ -глютамілтранспептидази і, якщо він не більше, ніж в 3,3 рази перевищує середнє значення норми, діагностують I або мінімальний ступінь, у 3,3-5 разів - II або помірний ступінь та при збільшенні у 5 та більше разів - III або максимальний ступінь активності пієлонефритичного процесу.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме-до дитячої урології та нефрології, і може бути використана для визначення ступеня активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом.

Найбільш частою причиною розвитку хронічної ниркової недостатності у дитячому віці є пієлонефритичний процес. Тому актуальними залишаються своєчасна діагностика пієлонефриту, визначення його характеру, диференціація ступеня активності запального процесу в нирках і відповідне лікування. Відомо, що сечовий синдром (вираженість лейкоцит- та бактеріурії) слабо корелює зі ступенем активності запального процесу. Тому визначення інформативних критеріїв, які б давали об'єктивну картину функціонального стану паренхіми нирки у дітей з пієлонефритом, має особливе значення.

Відомі аспекти сучасної класифікації пієлонефриту у дітей (1), які характеризують пієлонефритичний процес трьома ступенями, такими як I - мінімальний, II - помірний та III - максимальний з визначенням таких показників як температура тіла, симптоми інтоксикації, швидкості зсідання еритроцитів, кількості лейкоцитів, кількості С-реактивного протеїну. Диференціація цих ступенів активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом дозволяє обирати адекватні лікувальні заходи.

Недоліком визначення ступеня пієлонефритичного процесу у дітей за такими показниками є те, що зміна цих показників є загальною реакцією цілого організму на запальний процес, при цьому не

враховують реакцію саме нирки. Об'єктивну картину функціонального стану паренхіми нирки дає визначення ферментативної активності сечі, особливо з огляду на реноспецифічність деяких ензимів.

Відомий також спосіб діагностики ступеня активності пієлонефритичного процесу у дітей (2), що взятий за найближчий аналог, який полягає у визначенні у сечі хворих на хронічний пієлонефрит дітей рівнів активності термостабільного канальцевого лізосомного ферменту N-ацетил- β -D-глюкозамінідази B із застосуванням субстрату 4-нітрофеніл-2-ацетамідо-2-дезоксі- β -D-глюкопіранозиду.

Недоліком способу є те, що підготовка біоматеріалу для дослідження займає багато часу і потребує дорого вартісних реактивів, що практично унеможливує застосування цього способу у більшості клінік.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб визначення ступеня активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом шляхом визначення у сечі активності γ -глютамілтранспептидази - ферменту епітелію проксимального канальця нефрона, який здійснює реабсорбцію амінокислот із первинної сечі, і якщо він не більше, ніж в 3,3 рази перевищує середнє значення норми, діагностують I або мінімальний ступінь, у 3,3-5 разів - II або помірний ступінь та при збільшенні у 5 та більше разів - III або максимальний ступінь активності пієлонефритичного

(13) U

(11) 46621

(19) UA

процесу, що дасть змогу оцінити глибину ураження паренхіми нирки та, відповідно до цього, обрати тактику ведення таких хворих і корегувати тривалість лікувальних заходів після нормалізації загально-клінічних аналізів і стабілізації стану пацієнта.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб визначення ступеня активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом, що включає визначення активності ферментів у сечі дітей з пієлонефритом, згідно з корисною моделлю, визначають рівень активності γ -глутамілтранспептидази і, якщо він не більше, ніж в 3,3 рази перевищує середнє значення норми, діагностують I або мінімальний ступінь, у 3,3-5 разів - II або помірний ступінь та при збільшенні у 5 та більше разів - III або максимальний ступінь активності пієлонефритичного процесу.

Спосіб визначення ступеня активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом виконують наступним чином: у дітей беруть сечу із сечового міхура шляхом фізіологічного випускання, центрифугують 10 хвилин при 1500 об/хв., потім в пробірку вносять 0,5 мл стандартного субстратно-буферного розчину, приведенного до температури 37°C, і додають 0,1 мл сечі. Вміст пробірки перемішують і інкубують при 37°C 30 хвилин, ферментативну реакцію припиняють додаванням 3 мл 10% оцтової кислоти. Контрольну пробу ставлять так само, як і дослідну, але сечу додають після інкубації. На фотоелектроколориметрі вимірюють оптичну щільність дослідної проби проти контрольної при 400-430 нм в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. Розрахунок активності γ -глутамілтранспептидази проводять за калібрувальним графіком, для побудови якого готують розведення із стандартного розчину паранітроаніліну і виражають у мкмольях паранітроаніліну, що утворився протягом 1 години, із

розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі, вміст якого визначають за загальновідомою кольоровою реакцією Яффе з пікриновою кислотою.

Якщо рівень γ -глутамілтранспептидази в сечі у дітей з пієлонефритом не більше, ніж в 3,3 рази перевищує середнє значення норми, діагностують I або мінімальний ступінь, у 3,3-5 разів - II або помірний ступінь та при збільшенні у 5 та більше разів - III або максимальний ступінь активності пієлонефритичного процесу.

Апробація способу, що заявляється, проведена у відділі дитячої нефрології Інституту нефрології АМН України та у лабораторії біохімії Інституту урології АМН України у 57 дітей віком від 1 до 16 років з верифікованим діагнозом - пієлонефрит (гострий та хронічний) з різним ступенем активності запального процесу в нирках та у 25 практично здорових дітей того ж віку з нормальними аналізами сечі та без захворювань нирок в анамнезі (група контролю). На гострий пієлонефрит хворіло 23 пацієнта, на хронічний пієлонефрит - 34.

Всіх дітей з пієлонефритом було поділено на такі групи: I група - 28 хворих з активною стадією запального процесу I ступеня, II - 13 пацієнтів з активною стадією запального процесу II ступеня, III - 16 хворих з активною стадією запального процесу III ступеня. Всі обстежені без порушень функції нирок.

Результати визначення активності γ -глутамілтранспептидази в сечі дітей, хворих на пієлонефрит з різним ступенем активності запального процесу, наведені в таблиці.

Отримані результати показали, що у сечі здорових дітей активність γ -глутамілтранспептидази була в межах 7,8 - 38,0 мкмоль/год/ммоль креатиніну і з урахуванням середньої арифметичної величини та її похибки ($M \pm m$) дорівнювала $22,9 \pm 2,0$ мкмоль/год/ммоль креатиніну.

Таблиця

Активність γ -глутамілтранспептидази в сечі дітей з різним ступенем активності пієлонефриту

№ групи	Групи дітей	Кратність підвищення відносно норми	Активність γ -глутамілтранспептидази (мкмоль/год/ммоль креатиніну)
1	I ступінь активності пієлонефриту n = 28	1,5-3,3	$52,0 \pm 2,6$ (до 76,0)
2	II ступінь активності пієлонефриту n=13	3,3-5,0	$93,3 \pm 2,5$ (76,0-114,0)
3	III ступінь активності пієлонефриту n=16	5,0 і більше	$185,5 \pm 21,6$ (114,0 і вище)
4	Здорові діти (контроль) (n =25)	—	$22,9 \pm 2,0$ (7,8-38,0)
	p ₁₋₄ <		0,001
	p ₂₋₄ <		0,001
	p ₃₋₄ <		0,001
	p ₂₋₃ <		0,001
	p ₁₋₃ <		0,001
	p ₁₋₂ <		0,001

Аналіз рівней активності γ -глутамілтранспептидази в сечі дітей у кожній із

досліджуваних груп окремо показав, що в I групі пацієнтів було зареєстровано збільшення активно-

сті цього ферменту вище за контрольні значення у 1,5-3,3 рази, тобто кратність підвищення активності γ -глутамілтранспептидази сечі у 1,5-3,3 рази асоціюється з I ступенем активності пієлонефритичного процесу; у II групі зареєстровано збільшення активності цього ферменту вище за контрольні значення у 3,3 - 5,0 рази, тобто кратність підвищення активності γ -глутамілтранспептидази сечі у 3,3-5,0 рази асоціюється з II ступенем активності пієлонефритичного процесу; у III групі пацієнтів зареєстровано збільшення активності цього ферменту вище за контрольні значення у 5,0 та більше разів, тобто кратність підвищення активності γ -глутамілтранспептидази сечі у 5,0 та більше разів асоціюється з III ступенем активності пієлонефритичного процесу. Точність способу: похибка у двох паралельних визначеннях активності γ -глутамілтранспептидази не перебільшує $\pm 7\%$.

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1.

Хв. А., 1 рік 5 місяців, і.х. № 289, знаходилася на стаціонарному лікуванні у травні 2007 р. Діагноз: гострий обструктивний пієлонефрит, активна стадія, без порушень функції нирки. Міхурово-сечоводний рефлюкс I ст. ліворуч. Алергічний дерматит. Хворіє 10 днів. Скарги на часте болюче сечовипускання, стійке підвищення температури тіла до 38-39°C останні 4 дні. Об'єктивно: стан дитини середньої важкості. Фізіологічні відправлення - N. На УЗД нирки звичайно розташовані, форма, контури - без особливостей. Ехогенність паренхіми не змінена. Права нирка: 60×30×10 мм, ліва нирка: 62×29×9,5 мм. Серединне ехо не розширено. Паренхіматозно-мисковий індекс: справа = 2:1, зліва = 2:1; сечоводи не візуалізуються. Мікційна цистографія: рефлюкс контрасту в полосу систему нирки ліворуч. Загальний аналіз крові: Hb - 96 г/л, Eг - $3,53 \times 10^{12}/л$, L - $7,4 \times 10^9/л$, паличкоядерні - 3%, сегментоядерні - 45%, еозинофіли - 2%, лімфоцити - 45%, моноцити - 5%; ШЗЕ - 22 мм/год. Біохімічні показники крові: сечовина та креатинін - вікова норма. Загальний аналіз сечі: св.-жовта, непрозора, білок - не виявлений, L - 6-7 у п/з, Eг - 1-2 у п/з змінні, епітелій плоский - в невеликій кількості, поліморфн. - зрідка. Мікробіологічне дослідження сечі: росту мікроорганізмів не виявлено. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що рівень активності γ -глутамілтранспептидази сечі становив 66,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто в 2,9 рази перевищував середнє значення контролю ($22,9 \pm 2,0$ мкмоль/год/ммоль креатиніну) і в 1,7 рази перевищував верхню межу норми (38,0 мкмоль/год/ммоль креатиніну), що свідчить про наявність I ступеня активності пієлонефритичного процесу. Після застосування відповідної антибактеріальної терапії клініко-лабораторні показники нормалізувалися, хвора клінічно одужала.

Приклад 2.

Хв. В., 4 роки 6 місяців, і.х. № 281, знаходилася на стаціонарному лікуванні у травні 2007 р. Діагноз: хронічний необструктивний пієлонефрит, стадія загострення, без порушень функції нирки. Об'єктивно: стан дитини середньої важкості. Тем-

пература тіла 36,7°C, артеріальний тиск - 80/60 мм рт.ст. Пальпація живота - н/б, легені та серце - вікова норма, тони серця ритмічні, звучні. Стул - N. УЗД сечової системи: нирки звичайно розташовані, форма, контури - без особливостей. Ехогенність паренхіми не змінена. Права нирка: 86×44×13 мм, ліва нирка: 82×42×13 мм. Серединне ехо не розширено. Паренхіматозно-мисковий індекс: праворуч = 2:1, ліворуч = 2:1; сечоводи не візуалізуються. Сечовий міхур однорідний. Мікційна цистографія: сечовий міхур туго виповнений контрастом, без особливостей. Загальний аналіз крові: Hb - 110 г/л, Eг - $3,86 \times 10^{12}/л$, L - $5,4 \times 10^9/л$, паличкоядерні - 4%, сегментоядерні - 48%, еозинофіли - 1%, лімфоцити - 44%, моноцити - 3%; ШЗЕ - 12 мм/год. Біохімічні показники крові: сечовина та креатинін - N. Загальний аналіз сечі: солом.-жовта, прозора, білок - 0,099 г/л, L - густо все поле зору, Eг - 6-7 у п/з, змінні, епітелій плоский - в невеликій кількості, поліморфний - зрідка, нирковий - не виявлено; бактерії - у великій кількості. Аналіз сечі за Нечипоренком: L - $50,5 \times 10^6/л$ (N- до $4 \times 10^6/л$), Eг - $2,5 \times 10^6/л$. Мікробіологічне дослідження сечі: E.coli 10^6 КУО/мл. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що рівень активності γ -глутамілтранспептидази в сечі становив 101,1 мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто в 4,4 рази перевищував середнє значення контролю ($22,9 \pm 2,0$ мкмоль/год/ммоль креатиніну) і в 2,7 рази перевищував верхню межу норми (38,0 мкмоль/год/ммоль креатиніну), що свідчить про наявність II ступеня активності пієлонефритичного процесу. Після застосування відповідної антибактеріальної терапії клініко-лабораторні показники нормалізувалися, хвора клінічно одужала.

Приклад 3.

Хв. А., 3 роки 9 місяців, і.х. № 272, знаходилася на стаціонарному лікуванні у квітні-травні 2007 р. Діагноз: гострий необструктивний пієлонефрит, активна стадія, без порушень функції нирки. Скарги на підвищення температури тіла до 39,0°C, загальну слабкість, болі в животі, часте сечовипускання. Хворіє 4 дні, коли з'явилася поліурія. Об'єктивно: загальний стан середньої важкості. Температура тіла при госпіталізації 37,1°C, артеріальний тиск - 80/50 мм рт.ст. Апетит знижений. Шкіра бліда, чиста. Пальпація живота - н/б, легені та серце - вікова норма, тони серця ритмічні, звучні. Фізіологічні відправлення - N. УЗД сечової системи: нирки звичайно розташовані, форма, контури - без особливостей. Ехогенність паренхіми не змінена. Права нирка: 75×38×14 мм, ліва нирка: 73×39×14 мм. Ехогенність паренхіми не змінена. Паренхіматозно-мисковий індекс: праворуч = 2:1, ліворуч = 2:1; сечоводи візуалізуються. Сечовий міхур однорідний. Мікційна цистографія: сечовий міхур овальної форми з чіткими рівними контурами, туго виповнений контрастом; без особливостей. В період мікції рефлюксу контрасту не виявлено. Загальний аналіз крові: Hb - 79 г/л, Eг - $2,98 \times 10^{12}/л$, L - $24,4 \times 10^9/л$, паличкоядерні - 12%, сегментоядерні - 62,5%, еозинофіли - 0,5%, лімфоцити - 14%, моноцити - 11%; ШЗЕ - 55 мм/год. Сечовина та креатинін - N. Загальний аналіз сечі: солом.-жовта, непрозора, білок - 0,165%, L - густо

все поле зору, Ег - важко виявити; епітелій - одиничний в препараті; солі - немає; слиз - в невеликій кількості; бактерії - у значній кількості. Аналіз сечі за Нечипоренком: L - $1,5 \times 10^6$ /л, Ег - не виявлені. E.coli 10^6 КУО/мл. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що рівень активності γ -глутамілтранспептидази в сечі становив 149,8 мкмоль/год/ммоль креатиніну, тобто в 6,5 рази перевищував середнє значення контролю ($22,9 \pm 2,0$ мкмоль/год/ммоль креатиніну) і в 3,9 рази перевищував верхню межу норми (38,0 мкмоль/год/ммоль креатиніну), що свідчить про наявність III ступеня активності пієлонефритичного процесу. Після застосування відповідної антибактеріальної терапії клініко-лабораторні показники нормалізувалися, хвора клінічно одужала.

З наведених прикладів видно, що спираючись лише на клініко-лабораторні показники (скарги, температура тіла, параметри лейкоцитозу, лейкоцитарної формули, швидкість зсідання еритроцитів, лейкоцитурії тощо), які дають уявлення про загальну реакцію організму дитини на запальний процес будь-якої локалізації, та на візуалізаційні методи обстеження (УЗД сечової системи, мікційна цистографія), об'єктивно характеризувати сту-

пінь активності пієлонефритичного процесу не уявляється можливим. Застосування способу, що заявляється, поряд з іншими клініко-лабораторними показниками дозволяє вірогідно діагностувати у кожної хворої дитини ступінь активності запального процесу саме в нирках для визначення обсягу та тривалості необхідних терапевтичних заходів.

Таким чином, спосіб визначення ступеня активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом є простим у виконанні, швидким у визначенні ступеня активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом, точним, абсолютно безпечним для дитини.

Джерела інформації:

1. Возіанов О.Ф., Майданник В.Г. Сучасні аспекти класифікації пієлонефриту у дітей //Журн. АМН України. - 2004. - т. 10, № 4. - С 687 - 699.

2. Патент № 82170 А, Україна. Спосіб діагностики ступеня активності пієлонефритичного процесу у дітей //Л.Я. Мигаль, І.В. Багдасарова, О.О. Дащенко, Л.В. Король, О.В. Лавренчук, С.П. Фоміна //МПК (2006), G01N33/48. № а200703509, 30.03.2007; Опубл. 11.06.2007. Бюл. №8. -5 с. (прототип).