



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **100807**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/48** (2006.01)

**A61P 13/12** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2015 01787**

(22) Дата подання заявки: **02.03.2015**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.08.2015**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.08.2015, Бюл.№ 15**

(72) Винахідник(и):

**Колесник Микола Олексійович (UA),  
Степанова Наталя Михайлівна (UA),  
Дріянська Вікторія Євгенівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ  
НЕФРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ",  
вул. Дегтярівська, 17-в, м. Київ, 04050 (UA)**

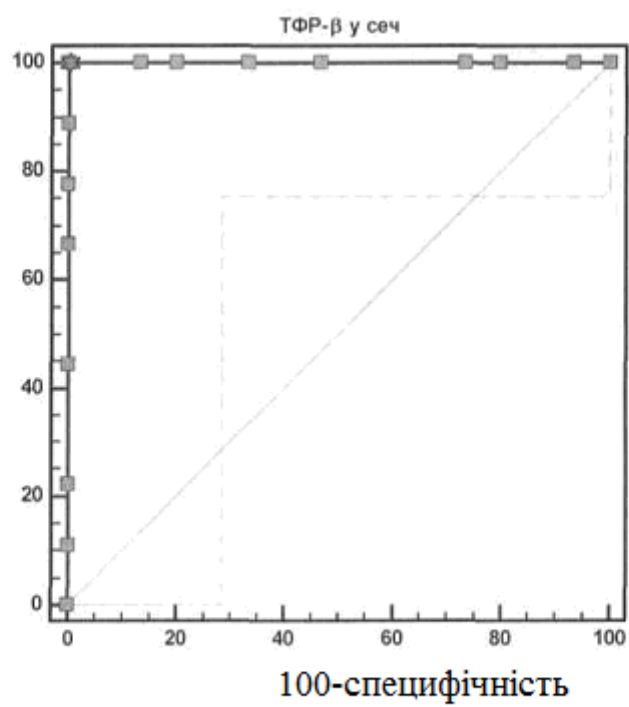
**(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РЕЦИДИВУЮЧОГО ПЕРЕБІГУ ПІЄЛОНЕФРИТУ**

**(57) Реферат:**

Спосіб прогнозування рецидивуючого перебігу пієлонефриту, що включає визначення у сечі трансформуючого фактора росту- $\beta$  та математичного аналізу показників, причому трансформуючий фактор росту- $\beta$  визначають у хворих на пієлонефрит і на підставі цих даних розраховують оптимальний критерій за допомогою ROC аналізу та у разі вмісту трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі  $\geq 2$  пкг/мл прогнозують розвиток рецидивуючого перебігу захворювання.

**UA 100807 U**

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ



Фіг.

Корисна модель належить до медицини, а саме до нефрології, та може бути використаний для прогнозування рецидивуючого перебігу пієлонефриту.

Рецидивування інфекцій сечової системи загалом та пієлонефриту, зокрема, є однією з найскладніших проблем, з якою стикаються лікарі-нефрологи, урологи та терапевти у своїй повсякденній практиці. Часта, а деколи навіть безперервна, антибактеріальна терапія, що потребують жінки з рецидивуючим перебігом пієлонефриту, призводить до швидкого розвитку полімікробної резистентності, неефективності призначеного лікування та, як мінімум, значних економічних витрат. Все це обґрунтовує необхідність визначення предикторів формування рецидивуючого перебігу пієлонефриту, особливо за умов відсутності ускладнюючих факторів. Ранній і точний прогноз розвитку рецидивуючого перебігу пієлонефриту дозволить своєчасно призначити імунотропну та профілактичну терапію, що сприятиме підвищенню ефективності лікування та зниженню частоти рецидивів.

Концепція формування рецидивуючого перебігу пієлонефриту зводиться до підвищеної сприйнятливості макроорганізмом уропатогенів. Периуретральна та вагінальна колонізація ректальною флорою, з постійним перебуванням патогенів в уретрі, є початковим кроком захворювання. Проте безперечним є той факт, що формування рецидивів відбувається за наявності ще як мінімум двох складових: залученні уропатогенних мікроорганізмів та недостатності імунної відповіді. Так, в імуногенезі пієлонефриту важливу роль грають цитокіни, які відповідають за всі послідовні етапи розвитку адекватної відповіді на втручання патогену, забезпечення його локалізації та знищення, відновлення ушкодженої структури тканин. Цитокіни регулюють розвиток місцевих захисних реакцій у тканинах з участю різних типів клітин крові, ендотелію, сполучної тканини та епітелію. У цьому зв'язку увагу привертає трансформуючий фактор росту  $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), який має супресорну дію на динаміку імунної відповіді та протизапальний ефект, захищаючи організм від надлишкової продукції макрофагами та інші запальні клітини цитотоксичних речовин. Крім того, ТФР- $\beta$  стимулює синтез колагену й фібронектину фібробластами та є одним з найпотужніших із відомих на сьогодні просклеротичних цитокінів.

Відомий спосіб прогнозування ініціації інтерстиціального пошкодження нирок у дітей з пупочно-сечовідним рефлюксом [1], взятий нами за прототип, який включає визначення добової екскреції з сечею інтерлейкінів (ІЛ) -1, -6, -8, -10 та факторів росту – фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) і трансформуючого фактора росту- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ) та математичного аналізу з використанням моделі побудови множинної регресії, з урахуванням визначених показників.

Недоліками способу є його застосування у дітей з пупочно-сечовідним рефлюксом, трудомісткість способу.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб прогнозування рецидивуючого перебігу пієлонефриту шляхом визначення у сечі хворих на пієлонефрит трансформуючого фактора росту- $\beta$  та математичного розрахунку його оптимального критерію за допомогою ROC аналізу, що дає можливість прогнозувати розвиток рецидивуючого перебігу захворювання при вмісті трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі  $\geq 2$  пкг/мл.

Поставлену задачу вирішують тим, що спосіб прогнозування рецидивуючого перебігу пієлонефриту, що включає визначення у сечі трансформуючого фактора росту- $\beta$  та математичного аналізу показників, згідно з корисною моделлю, трансформуючий фактор росту- $\beta$  визначають у хворих на пієлонефрит і на підставі цих даних розраховують оптимальний критерій за допомогою ROC аналізу та у разі вмісту трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі  $\geq 2$  пкг/мл, прогнозують розвиток рецидивуючого перебігу захворювання.

Корисна модель пояснюють кресленнями.

На фіг. 1 представлені операційні характеристики визначення вмісту трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі для прогнозування рецидивуючого перебігу пієлонефриту.

Запропонований спосіб виконують наступним чином: хворому з повторним епізодом пієлонефриту проводять загально-клінічне обстеження і забирають 5 мл ранкової порції сечі. За допомогою імуноферментного методу, визначають вміст трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі, для чого до 96-лунокової планшети тест-системи додають для побудови калібрувальної кривої по 100 мкл стандартів в 6 лунок, в інші - вносять по 100 мкл з ранкової порції сечі, в усі лунки додають 50 мкл антицитокінових антитіл (anti-TGF- $\beta$ ), планшети інкубують при кімнатній температурі протягом 2 годин, потім лунки 5 разів ретельно промивають буфером Wash Solution (30 ml 40Xconcentrated) і видаляють залишки рідини, далі в кожну лунку вносять по 100 мкл кон'югату стрепто-відин-пероксидазу (contain 0,03 % Proclin 300, 0,015 BND, 0,01 % MIT), проби інкубують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин, повторюють промивку планшети 5 разів та вносять до всіх лунок по 100 мкл ТМВ-субстрату (хромогену) агента (1 vial, 14 ml), що утворює кольори, інкубують протягом 12-15 хвилин та зупиняють ферментативно-субстратну

реакцію додаванням в кожен лунку по 100 мкл  $H_2SO_4$  (1 vial, 14 ml contains 0,5M  $H_2SO_4$ ). Визначення оптичної щільності стандартів та зразків сечі проводять на спектрофотометрі при довжині хвилі 405-620 нм та виражають у в одиницях маси (пкг) на одиницю об'єму (мл). Отримані дані вносять до електронної бази математичного апарата логістичної регресії та ROC-аналізу і визначають оптимальний критерій трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі, в даному випадку його значення дорівнює понад 2 пкг/мл і є підставою для прогнозування рецидивуючого перебігу пієлонефриту (таблиця, фіг.).

Апробацію запропонованого способу проведено у клініці ДУ "Інститут нефрології НАМІ України". Перший етап проведених досліджень базується на результатах обстеження 60 жінок, серед яких: 20 умовно-здорових донорів (контрольна група), 22 хворих на рецидивуючий пієлонефрит ( $\geq 3$  загострень протягом року), що склали основну групу та 18 пацієнток зі спорадичним перебігом захворювання (1-2 рецидиви/рік) (група порівняння). Середній вік пацієнток у середньому становив  $31,8 \pm 12,4$  року. Тривалість захворювання становила від 1 до 29 років (у середньому  $7,2 \pm 7,7$  року). Середня частота рецидивів основної групи становила  $6,0 \pm 2,9$ , тоді як у групі порівняння -  $1,5 \pm 0,5$  року ( $p < 0,001$ ).

Результати дослідження демонструють істотне підвищення вмісту трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі хворих на рецидивуючий пієлонефрит. Так, середній вміст трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі умовно-здорових донорів становив  $0,36 \pm 0,02$  пкг/мл, хворих зі спорадичним перебігом пієлонефриту  $1,2 \pm 0,5$  пкг/мл ( $p < 0,001$ ), а пацієнток з рецидивуючим перебігом захворювання  $-3,5 \pm 1,5$  пкг/мл ( $p < 0,001$ ). Принципова закономірність підвищення концентрації трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі залежно від частоти рецидивів забезпечила можливість визначення його діагностичного значення за допомогою аналізу ROC кривої. Встановлено, що у разі визначення концентрації трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі  $> 2$  пкг/мл можна з імовірністю 100 % прогнозувати розвиток рецидивуючого перебігу пієлонефриту, що представлено у таблиці та на кресленні.

Таблиця

Прогностична ефективність визначення вмісту трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі

Площа під ROC кривою (Area Under Curve-AUC)	
AUC	$1,0 \pm 0$
95 % ДІ	0,89-1,0
Z-тест	11,7
P	$< 0,0001$
Оптимальний критерій (порогове значення показнику)	
Індекс Юдена	1,0
Асоційований критерій	$> 2$ пкг/мл
Порогове значення	$> 2$ пкг/мл
Чутливість	100 %
Специфічність	100 %

Наводимо приклад застосування запропонованого способу.

Приклад 1. Хвора З., 28 років, тематична карта № 17. Звернулась за консультацією зі скаргами на відчуття болю, печії та дискомфорту під час сечовипускання, підвищення температури тіла до  $37,7^\circ C$ , слабкість, нудоту. Хворіє вперше, впродовж 2 діб. При клініко-лабораторному обстеженні за запропонованим способом хворої було діагностовано гострий пієлонефрит, рівень трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі становив 7,5 пкг/мл, призначено антибактеріальне лікування. Враховуючи високий вміст трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі пацієнтки ( $> 2$  пкг/мл), після основного курсу лікування хворій було запропоновано профілактичну терапію спрямовану на запобігання рецидивам у майбутньому, від якої вона відмовилась. Через 4 місяці спостереження, хвора звернулась за медичною допомогою з повторним епізодом пієлонефриту.

Приклад 2. Хвора М., 44 роки, тематична карта № 36. Була госпіталізована 1,5 роки тому з діагнозом гострий неускладнений пієлонефрит. При застосуванні запропонованого способу встановлено, що вміст трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі становив 3,7 пкг/мл. Встановлений високий рівень трансформуючого фактора росту- $\beta$  був підставою для пропозиції почати профілактичну терапію вже після першого епізоду пієлонефриту. Враховуючи дані анамнезу, а саме розвиток захворювання після зміни статевого партнера, після закінчення

основного курсу антибактеріального лікування та підтвердження ерадикації збудників, хворій було призначено посткоїтальну антибактеріальну профілактику (фурамаг 50 мг безпосередньо до чи після статевого акту протягом півроку). З того часу рецидивів пієлонефриту констатовано не було.

5 Приклад 3. Хвора Ф., 26 років, тематична карта № 26. Звернулась зі скаргами на підвищення температури тіла до 37-37,3 °С, яка тримається понад місяць, біль у кистово-вертебральному куті праворуч, слабкість. Після клініко-лабораторного обстеження було діагностовано гострий пієлонефрит. За запропонованим способом концентрація трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі склала 0,42 пкг/мл. Хворій призначено 10-денний курс антибактеріальної терапії та диспансерне спостереження нефролога. Протягом наступних 1,5 року рецидивів пієлонефриту визначено не було.

Таким чином, спосіб прогнозування рецидивуючого перебігу пієлонефриту з визначенням вмісту трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі, є високоінформативним маркером розвитку рецидивуючого перебігу пієлонефриту, що дозволяє вчасно призначити відповідну профілактичну терапію і зменшити кількість рецидивів захворювання. Запропонований спосіб є абсолютно безпечним, нескладним у виконанні та добре відтворюваним. Чутливість та специфічність способу становить 100 %.

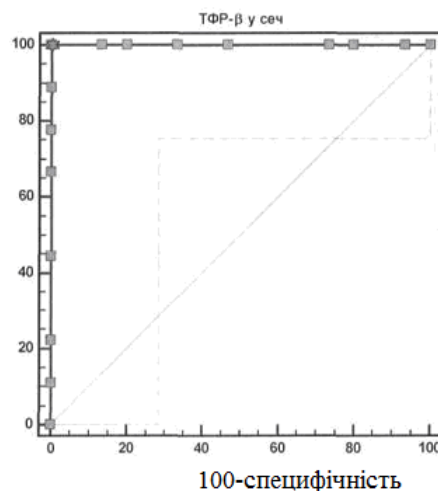
Джерела інформації:

1. Зорин И.В. Прогнозирование инициации интерстициального повреждения почек у детей с ПМР // Бюлетень Оренбургского научного центра УрО РАН. - 2014. - № 2. (прототип)

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування рецидивуючого перебігу пієлонефриту, що включає визначення у сечі трансформуючого фактора росту- $\beta$  та математичного аналізу показників, який **відрізняється** тим, що трансформуючий фактор росту- $\beta$  визначають у хворих на пієлонефрит і на підставі цих даних розраховують оптимальний критерій за допомогою ROC аналізу та у разі вмісту трансформуючого фактора росту- $\beta$  у сечі  $\geq 2$  пкг/мл прогнозують розвиток рецидивуючого перебігу захворювання.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ



Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601