



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **82351**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/493 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 02633**

(22) Дата подання заявки: **04.03.2013**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.07.2013**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.07.2013, Бюл.№ 14**

(72) Винахідник(и):

**Оленович Ольга Анатоліївна (UA),
Пашковська Наталія Вікторівна (UA)**

(73) Власник(и):

**БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ,
пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)**

(54) СПОСІБ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ

(57) Реферат:

Спосіб ранньої діагностики діабетичної нефропатії включає дослідження біохімічних маркерів діабетичної нефропатії у біологічних рідинах. Визначають сумарну, неферментативну та ферментативну фібринолітичну активність сечі, і у разі їх зниження відповідно у 2,0, 1,4 та 2,4 рази і більше відносно норми діагностують доклінічну стадію діабетичної нефропатії.

UA 82351 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до ендокринології, терапії та інших галузей клінічної медицини, і може бути використана для лабораторної діагностики доклінічних стадій діабетичної нефропатії.

Діабетична нефропатія (ДН) - одне з найбільш тяжких ускладнень цукрового діабету (ЦД), наявність якого різко знижує якість та тривалість життя хворих на діабет.

Для діабетичної нефропатії (ДН), зокрема на початкових стадіях, характерна відсутність адекватної клінічної картини, що і призводить до більш пізнього виявлення захворювання і часто вже на стадії важких ускладнень. Класичними клінічними орієнтирами діабетичної нефропатії вважаються зміни екскреції білків з сечею - від мікроальбумінурії до стійкої протеїнурії, порушення фільтраційної функції нирок зі зниженням швидкості клубочкової фільтрації (як зазначено у протоколах надання медичної допомоги за спеціальністю "Ендокринологія", затверджених наказом № 356 МОЗ України від 22.05.2009), до яких в подальшому приєднуються мікрогематурія та циліндрурія, гіпостенурія, артеріальна гіпертензія, набряки, гіпохромна анемія та гіпопротеїнемія.

Разом з тим, наявність вказаних симптомів свідчить про необоротність структурних змін ниркової тканини, виявляє вже існуючі порушення ниркової гемодинаміки, але не дає змоги передбачити і прогнозувати початок їх розвитку.

Проблеми раннього виявлення діабетичної нефропатії обумовлена тим, що перші клінічні ознаки патологічного процесу у нирках з'являються лише на IV стадії розвитку ДН, отже перші III стадії перебігають безсимптомно та клінічно не виявляються. Ці три стадії і становлять так званий доклінічний період у розвитку ДН. Діагноз діабетичної нефропатії на доклінічній стадії потребує неодноразового проведення комплексного клінічно-лабораторного обстеження всіх хворих з використанням численних діагностичних методів, що не завжди практично може бути здійснено. Разом з тим, від своєчасної діагностики ДН залежить адекватне лікування хворих на цукровий діабет, прогноз захворювання.

У зв'язку з цим важливого значення набувають питання ранньої діагностики діабетичного ураження нирок, пошук простих у використанні та інформативних ранніх маркерів доклінічних стадій ДН для забезпечення своєчасного ренопротекторного лікування.

Альтернативою загальноприйнятому способу діагностики ДН у хворих на ЦД (Дедов І.І., Шестакова М.В., 2000) та аналогом способу діагностики, що пропонується, є спосіб діагностики ДН на доклінічній стадії (за відсутності білка при загальноклінічному дослідженні сечі) шляхом дослідження білкових фракцій сечі, розділених за допомогою електрофорезу в градієнтному 8-25 % поліакриламідному гелі з детергентом додецилсульфатом, і подальшої інтерпретації результатів уропротеїнограми за молекулярною масою виявлених протеїнів (Пат. 2348038, МПК G01N33/493 (2006.01). Спосіб діагностики діабетической нефропатии на доклинической стадии / Габбасова М.В., Мамчик МП. (RU). - № 2007124086/15; Заявл. 26.06.2007; Опубл. 27.02.2009). Недоліком аналога, окрім складності проведення дослідження, є недостатня своєчасність діагнозу, адже структурні зміни тканини нирок при ЦД виникають задовго до розвитку протеїнурії (Жила В.В, Кушнирук Ю.І., 1986). Крім того, необхідно враховувати, що здорові нирки також пропускають альбумін - екскреція білків з сечею може досягати 20 мг/добу, а показник мікроальбумінурії значно змінюється впродовж доби (коливання досягають 40 %).

Найближчим аналогом є спосіб діагностики доклінічної стадії діабетичної нефропатії шляхом визначення у сечі хворого загальної активності лізосомального ферменту N-ацетил-бета-D-глюкозамінідази, активності її термостабільного ізоферменту В та термолабільного ізоферменту А з наступним розрахунком їх співвідношення і встановленні доклінічної стадії ДН при співвідношенні цього показника у межах 2,4-3,8 (Патент України. №32308А, МПК G01N33/52 (2006.01), С12Q1/34 (2006.01), С12N9/24 (2006.01).; Заявл. 12.03.1999; Опубл. 15.12.2000; Бюл. №7, 2000).

Недоліком аналога є складність проведення дослідження, яке потребує коштовних реактивів й обладнання і ґрунтується на визначенні інтенсивності ферментури, що зазнає впливу багатьох факторів за наявності каналцевої дисфункції.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб діагностики діабетичної нефропатії.

Для вирішення поставленої задачі у сечі хворих на цукровий діабет (вранішня порція) визначають сумарну фібринолітичну активність (СФА), неферментативну фібринолітичну активність (НФА), розраховують ферментативну фібринолітичну активність (ФФА) і при зниженні зазначених показників відповідно у 2,0; 1,4 та 2,4 рази і більше діагностують доклінічну стадію діабетичної нефропатії.

Спільними ознаками аналога та корисної моделі, що заявляється, є визначення біохімічних маркерів ДН у сечі.

Відмінність корисної моделі полягає у доступності та безперешкодній відтворюваності методу, що заявляється, у медичній практиці, отриманні об'єктивної інформації для оцінки ймовірності розвитку початкових проявів нефропатії біохімічних маркерів активності процесів, безпосередньо відповідальних за розвиток ДН.

5 Теоретичне підґрунтя для використання способу.

Порушенням в системі гомеостазу відводиться велике значення в патогенезі діабетичних ангіопатій, в т.ч. нефропатії. Характерні для хворих на ЦД зміни гомеостазу у вигляді підвищення рівня факторів коагуляції в плазмі крові, зміни активності антикоагуляційної системи, гіперактивності тромбоцитів, порушення гемостатичних функцій ендотелію тощо, призводять до розладів мікроциркуляції та розвитку судинних ускладнень. Дестабілізація системи гемокоагуляції та фібринолізу, поряд з іншими факторами, сприяє прогресуванню ниркових дисфункцій, впливаючи таким чином на обмінні процеси в організмі, які за умов ЦД і без того зазнають істотних змін. Разом з тим, функціональний стан нирок має значний вплив на вміст в крові та сечі компонентів згортаючої та фібринолітичної систем організму. Факт взаємного впливу вказаних процесів є підставою для їх подальшого використання з метою обґрунтування методів їх ранньої діагностики у хворих на ЦД.

Спосіб виконують наступним чином: у сечі хворих на цукровий діабет визначають фібринолітичну активність за лізисом азофібрину, при інкубації якого із стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів та інгібіторів фібринолізу, які містяться в сечі, утворюється плазмін. Активність останнього оцінюється на спектрофотометрі "СФ-46" (довжина хвилі 440 нм) за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності ϵ -амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз), або без неї (СФА). Різниця між ними відповідає інтенсивності ферментативного фібринолізу. Отримані екстинції перераховували на 1 мл сечі на 1 годину інкубації (Пат. 30727 Україна, МПК G 01 N 33/48. Спосіб визначення тканинної фібринолітичної активності / Б.М.Боднар, О. Л. Кухарчук, В.М. Магальс, Я.І. Пенішкевич, О.В. Пішак, Ю.Є. Роговий, В.І. Сливка, В.П. Шаповалов (UA). - №98042121; Заявл. 28.04.1998; Опубл. 15.12.2000; Бюл. №7-11). При зниженні зазначених показників СФА, ФФА та НФА відповідно у 2,0; 2,4 та 1,4 рази і більше діагностують доклінічну стадію діабетичної нефропатії.

30 Корисна модель розроблена й апробована під час обстеження 25 хворих на ЦД без обмеження за віком, 15 з яких без клінічних ознак ДН, а в 10 обстежених на підставі результатів загальноприйнятих клінічних методів дослідження встановлено ДН I-II ступеня, причому більшість з них - хворі на ЦД типу 1. Контрольна група представлена 10 практично здоровими особами.

35 Аналіз змін фібринолітичної активності сечі хворих на ЦД виявив значне зниження СФА сечі (у 1,7 раза) за рахунок як неферментативного, так і ферментативного фібринолізу, причому інтенсивність ензиматичного лізису фібрину була у 2,2 раза нижчою за відповідний показник у здорових осіб. Між тим, зниження фібринолізу сечі було порівняно більшим у хворих на ЦД без нефропатії, ніж на тлі її розвитку. Так, сумарна інтенсивність фібринолізу сечі хворих на ЦД без нефропатії була практично вдвічі меншою за показник контролю і на 28,2 % нижчою за відповідний показник у хворих з ДН. НФА сечі за ЦД без нефропатії зменшувалася у 1,4 раза порівняно із контролем і була на 34,2 % меншою за показник хворих на ЦД з нефропатією. У 2,4 раза у порівнянні з показником практично здорових осіб зменшувався ензиматичний лізис фібрину в сечі за ЦД, інтенсивність якого залишалася на 22,5 % нижчою за такий на тлі розвитку ДН.

45 Таким чином, виявлене нами зменшення фібринолітичної активності сечі у хворих на ЦД до виявлення ДН загальноприйнятими методами дозволяє вважати даний показник маркером початкових порушень діяльності нирок ще на доклінічному етапі їх розвитку і використовувати для ранньої діагностики діабетичного ураження нирок.

50 Приклад практичного використання способу №1

Хворий Х., 33 роки, історія хвороби № 1086. Діагноз: цукровий діабет, 1 тип, тяжка форма, субкомпенсований, ускладнений непроліферативною ретинопатією, макроангіопатією обох нижніх кінцівок, ХАН II ст., дистальною сенсорною полінейропатією, вторинною вісцеральною ентеропатією (безсимптомна форма), гепатозом. Дані лабораторного обстеження: загальний аналіз крові: Ер 4,5 Т/л, Нб 128 г/л, КП - 0,98, Л - 4,9 Г/л, Е - 0 %, П - 3 %, С - 63 %, Л - 33 %, М - 1 %, ШЗЕ - 4 мм/год.; біохімічний аналіз крові: глюкоза крові 6,7 ммоль/л, загальний білок - 66,1 г/л, загальний Bb-13,1 мкмоль/л, креатинін - 79,8 мкмоль/л, сечовина 4,7 ммоль/л, АсТ - 31,4 од/л, АлТ - 36,8 од/л, тригліцериди 122,2 мг/дл; загальний аналіз сечі: с/ж, прозора, рН - 5,0, густина сечі 1010, білок відсутній, глюкоза відсутня, Ер - відсутні, Л - 3-4 в полі зору; аналіз сечі за Нечипоренком: Л - 500/мл, Ер відсутні; аналіз сечі на мікроальбумінурію 20 мг/л; ШКФ - 140,2

мл/хв.; СФА 0,42 мкг азофібрину/1 мл за 1 годину (у 2,6 раза менше контрольних значень), НФА 0,18 мкг азофібрину/1 мл за 1 годину (вдвічі менше контрольних значень), ФФА - 0,24 мкг азофібрину/1 мл за 1 годину (у 3,1 раза менше контрольних значень). У наведеному прикладі загальноклінічні методи дослідження не дозволяють встановити діабетичну нефропатію за відсутності клінічних проявів, тоді як спосіб, що пропонується, дозволяє виявити ниркову дисфункцію у доклінічній стадії.

Приклад використання способу №2

Хворий Н., 28 років, історія хвороби № 1398. Діагноз: цукровий діабет, 1 тип, середньої тяжкості, субкомпенсований, ускладнений непроліферативною ретинопатією, мікроангіопатією ніг, дистальною сенсорною полінейропатією, шлунково-кишковою автономною нейропатією, енцефалопатією І ст., гепатозом. Дані лабораторного обстеження: загальний аналіз крові: Ер -- 4,4 Т/л, Нb-130 г/л, КР - 0,90, Л - 4,4 Г/л, Е - 0 %, П - 3 %, С - 64 %, Л - 31 %, М - 2 %, ШЗЕ - 2 мм/год.; біохімічний аналіз крові: глюкоза крові - 9,3 ммоль/л, загальний білок - 67,9 г/л, загальний Вb 11,8 мкмоль/л, креатинін - 88,1 мкмоль/л, сечовина - 5,2 ммоль/л, АсТ - 37,0 од/л, АлТ - 40,2 од/л, тригліцериди - 128,6 мг/дл; загальний аналіз сечі: с/ж, прозора, рН - 5,0, густина сечі - 1022, білок відсутній, глюкоза відсутня, Ер відсутні, Л - 4-5 в полі зору; аналіз сечі на мікроальбумінурію - 19,7 мг/л; ШКФ 115,8 мл/хв.; СФА - 0,54 мкг азофібрину/1 мл за 1 годину (вдвічі менше контрольних значень), НФА - 0,26 мкг азофібрину/1 мл за 1 годину (у 1,4 раза менше контрольних значень), ФФА - 0,28 мкг азофібрину/1 мл за 1 годину (у 2,6 раза менше контрольних значень). У наведеному прикладі ані показник альбумінурії, ані рівень клубочкової фільтрації не дозволяють встановити діабетичну нефропатію на доклінічному рівні, тоді як спосіб, що пропонується, дозволяє виявити ниркову дисфункцію у доклінічній стадії.

Технічний результат: наведений спосіб дозволяє покращити діагностику діабетичної нефропатії та забезпечує виявлення ниркової дисфункції на доклінічній стадії, що сприятиме своєчасному призначенню ренопротекторного лікування, гальмуванню прогресування хвороби.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб ранньої діагностики діабетичної нефропатії, що включає дослідження біохімічних маркерів діабетичної нефропатії у біологічних рідинах, який **відрізняється** тим, що визначають сумарну, неферментативну та ферментативну фібринолітичну активність сечі, і у разі їх зниження відповідно у 2,0, 1,4 та 2,4 раза і більше відносно норми діагностують доклінічну стадію діабетичної нефропатії.

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

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

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