



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **108930**

(13) **U**

(51) МПК

**A61K 38/21** (2006.01)

**G01N 33/53** (2006.01)

**A61P 13/12** (2006.01)

**A61P 31/12** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 12782**

(22) Дата подання заявки: **24.12.2015**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.08.2016**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.08.2016, Бюл.№ 15**

(72) Винахідник(и):

**Багдасарова Інгрета Вартанівна (UA),  
Корніліна Олена Михайлівна (UA),  
Круглікова Ірина Вадимівна (UA),  
Фоміна Світлана Петрівна (UA),  
Кругліков Вадим Тимофійович (UA)**

(73) Власник(и):

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

**(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ І ПРОТИВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО  
ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ, АСОЦІЙОВАНОГО З ГЕРПЕВІРУСНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ**

(57) Реферат:

Спосіб оцінки ефективності противірусної терапії хронічного гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією включає визначення імунологічних маркерів в динаміці лікування з використанням специфічної противірусної терапії та довготривалої інтерферонотерапії. Додатково визначають в сечі рівень моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (MCP-1), і його зниження в динаміці комплексного лікування вважають позитивним прогностичним маркером ефективності лікування.

**UA 108930 U**



Спосіб належить до медицини, а саме до нефрології, і може бути використаний для оцінки ефективності лікування та прогнозу подальшого перебігу хронічного гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією.

Проблема гломерулонефриту у дітей привертає увагу у зв'язку з великою розповсюдженістю цього захворювання, часто прогресуючим перебігом, ранньою інвалідизацією й несприятливим прогнозом у плані розвитку термінальної стадії хронічної ниркової недостатності. Останнім часом перебіг гломерулонефриту характеризується розвитком затяжних та рецидивуючих форм захворювання і більш високою частотою гормонорезистентних варіантів. Однією з можливих причин таких ускладнень вважають вірусну інфекцію. Це цілком виправдано, тому що у зв'язку із збільшенням застосування і поліпшення якості антимікробної терапії такі відомі "збудники" (провокуючі агенти) гломерулонефриту як бактерії, і в першу чергу стрептококи, втрачають своє першорядне значення і поступаються місцем більш активним вірусам. Дуже вразливими в цьому відношенні є діти, бо саме у дітей констатується більш слабкий імунний захист у зв'язку з недостатнім його розвитком в перші роки життя або пригніченням із-за несприятливих екологічних факторів. З усієї популяції вірусів найбільший інтерес представляють віруси групи герпесу (родина Herpesviridae), найбільш розповсюдженими серед яких є вірус простого герпесу, цитомегаловірус та вірус Епштейна-Барр. Сучасна імунотерапія хронічного гломерулонефриту направлена на корекцію основних імунних порушень, що спричинили патологічний процес і відіграють ключову роль у подальшому порушенні в системі гомеостазу організму хворого. Проте наявність в організмі активної (реактивованої) герпесвірусної інфекції, як провокуючого фактора прогресування гломерулонефриту, потребує застосування в комплексному лікуванні таких хворих засобів протівірусної терапії.

Відомий спосіб оцінки ефективності лікування хворих на хронічний гломерулонефрит, асоційований з герпесвірусною інфекцією (1), який включає визначення стану системи інтерферону при застосуванні протівірусної терапії з додаванням Віферону (рекомбінантного альфа-2-інтерферону), оскільки наслідком, а можливо й причиною вірусного інфікування часто може бути розвиток імунodefіциту та пошкодження інтерферогенезу

Недоліком способу є те, що визначення тільки інтерферонового статусу в динаміці комплексного лікування хворих на хронічний гломерулонефрит, асоційований з герпесвірусною інфекцією, з включенням препаратів протівірусної терапії не завжди відображає інтенсивність запального процесу, обумовленого імунологічними механізмами.

Відомий також спосіб визначення моноцитарного хемоаттрактантного протеїну-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) у патогенезі змін тубуло-інтерстиціальної тканини у дітей з хронічним гломерулонефритом (2), що полягає у визначенні MCP-1, який експресується переважно клітинами тубулярного епітелію, а також мононуклеарними клітинами в зонах інтерстиціального запалення та ендотелієм судин інтерстицію. Саме цей цитокін є головним тригером, який забезпечує міграцію мононуклеарних клітин і їх адгезію, які потім виділяють комплекс прозапальних (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-6, ІЛ-8) та профібrogenних цитокінів, головним чином трансформуючого фактора росту- $\beta$ , які в остаточному підсумку викликають склероз гломерул та фіброз інтерстиціальної тканини. Під впливом прозапальних цитокінів, таких як ІЛ-1 $\beta$  і ФНП- $\alpha$ , стимулюється продукція MCP-1, який забезпечує надходження лейкоцитів та моноцитів в область пошкодження та формує запальний інфільтрат. MCP-1 є не тільки хемоаттрактантом, а й медіатором запалення, тому кількісне визначення рівня MCP-1 в сечі хворих на хронічний гломерулонефрит є інформативним тестом не тільки для оцінки активності запального процесу, але й для вираженості тубуло-інтерстиціальних змін в нирці, спосіб може бути використаний як прогностичний критерій прогресування захворювання і при наявності вірусної інфекції.

Недоліком способу є те, що проведені дослідження рівня MCP-1 в сечі для оцінки активності і стадії запального процесу в нирках проводилось тільки у хворих на гломерулонефрит без урахування впливу вельми актуальної вірусної інфекції, оскільки в даному випадку змінюється тактика лікування.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб оцінки ефективності лікування нефротичної форми гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією, у дітей (3), взятий за прототип, що включає визначення імунологічних маркерів - рівнів інтерлейкіну (ІЛ) ІЛ-8, ІЛ-10 та ІЛ-18 в крові та сечі, показників інтерферонового статусу в крові в динаміці лікування з використанням специфічної протівірусної терапії (валганцикловір, валацикловір) та довготривалої інтерферонотерапії (Віферон). Визначення ІЛ-8 та ІЛ-18 в сечі дозволяє прогнозувати перебіг захворювання (розвиток ремісії) та оцінити чутливість до стероїдної терапії, а оцінка протівірусної терапії визначалась ступенем пригнічення активності герпесвірусної інфекції та посиленням індукованої продукції  $\alpha$ -інтерферону (в 2,3 разу).

Недоліком способу є те, що не встановлена залежність рівнів інтерлейкінів в сироватці крові та сечі у хворих дітей від тривалості гормоночутливого нефротичного синдрому, наявності та варіанта герпесвірусної інфекції, а також від імуносупресивної терапії. Суттєве зниження початково підвищених сечових рівнів ІЛ-8 та ІЛ-18 спостерігають в обмеженій групі хворих дітей з дебютом нефротичного синдрому, у яких в подальшому розвився гормонорезистентний нефротичний синдром. Крім того не можна встановити ступінь тубулоінтерстиціальних змін у нирках, які мають місце у пацієнтів з різними формами гломерулонефриту і забезпечують несприятливий прогноз захворювання.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб оцінки ефективності лікування хронічного гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією шляхом визначення імунологічних маркерів в динаміці лікування з використанням специфічної противірусної терапії та довготривалої інтерферонотерапії, а також моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (MCP-1), який відіграє важливу роль в патогенезі різних видів запалення (включаючи захворювання аутоімунної природи), приймає участь в регуляції гемопоезу, ангіогенезу, в антимікробному та антивірусному захисті, що дасть можливість скоректувати тактику лікування і підвищити її якість.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб оцінки ефективності противірусної терапії хронічного гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією, який включає визначення імунологічних маркерів в динаміці лікування з використанням специфічної противірусної терапії та довготривалої інтерферонотерапії, згідно з корисною моделлю, додатково визначають в сечі рівень моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (MCP-1), і його зниження в динаміці комплексного лікування вважають позитивним прогностичним маркером ефективності лікування.

Спосіб оцінки ефективності противірусної терапії хронічного гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією виконують наступним чином: у хворого забирають ранкову середню порцію сечі (до лікування та після проведеної противірусної терапії), центрифугують при 1500 обертів на хвилину протягом 10 хвилин, відбирають надосадкову рідину, зразок сечі розводять розчинником 1:4 (25 мкл зразка + 75 мкл розчинника); рівень MCP-1 визначають за допомогою імуноферментного аналізу з використанням набору реагентів "Human MCP-1 Platinum ELISA" австрійської фірми Bioscience, згідно інструкції виробника, і за калібрувальним графіком обчислюють концентрацію MCP-1, яку множать на фактор розведення (x 4). Діапазон концентрації складає 0-2000 пг/мл.

Апробацію запропонованого способу проведено у відділі дитячої нефрології та лабораторії мікробіології ДУ "Інститут нефрології НАМН України" при дослідженні зразків сечі від 37 дітей віком від 3 до 17 років, хворих на хронічний гломерулонефрит, у яких за допомогою імуноферментного аналізу сироватки крові та молекулярно-генетичного дослідження осаду сечі (в полімеразній ланцюговій реакції) було виявлено активну (реактивовану) герпесвірусну інфекцію.

Хворих було розподілено на дві групи: до групи 1 увійшли 20 дітей (середній вік  $(11,2 \pm 0,9)$  років), що отримували відповідну при хронічному гломерулонефриті терапію з курсом противірусної терапії (ацикловір або валавір/вальтрекс + віферон або лаферобіон), а до групи 2-17 пролікованих дітей (середній вік  $(11,8 \pm 0,9)$  років), яким до курсу лікування з різних причин не було включено противірусну терапію.

Результати визначення рівня MCP-1 у сечі хворих до та після противірусного лікування наведені у таблиці.

Таблиця

Рівень MCP-1 в сечі" хворих на хронічний гломерулонефрит, асоційований з герпесвірусною інфекцією, в динаміці противірусного лікування

Групи хворих	MCP-1, пг/мл			
	до лікування		після лікування	
	M+m	медіана (перцентілі - 25-75 %)	M±m	медіана (перцентілі - 25-75 %)
Група 1 n=20	574,8±180,1	224,0 (113,6-680,0)	384,4±117,0	166,0 (138,9-427,0)
Група 2 n=17	317,0±59,5	188,0 (150,0-520,0)	569,2±189,1	294,0 (196,0-616,0)

Як свідчать наведені дані, відмічають зниження в процесі лікування рівня МСР-1 у пацієнтів групи 1 в 1,65 разу, медіана для даного показника також зменшилась в 1,34 разу; коливання рівня МСР-1 в сечі становили від 46,0 до 2880 пг/мл до лікування і від 48 до 2008 пг/мл - після лікування.

В той же час у хворих групи 2 спостерігають збільшення рівня МСР-1 в 1,48 разу; для половини хворих до лікування рівень дорівнює 188,0 пг/мл, а після лікування підвищився до 294,0 пг/мл; мінімум та максимум складають відповідно 66 та 888 пг/мл до лікування і 84 та 3360 пг/мл після лікування.

Зниження рівня МСР-1 у сечі хворих групи 1 вказує на зменшення запальної реакції, в якій задіяні насамперед мононуклеарні клітини, і зменшення можливого тубуло-інтерстиціального пошкодження у хворих на хронічний гломерулонефрит, що цілком відображає ефективність проведеного лікування з включенням противірусної терапії.

Необхідність застосування противірусної терапії у досліджених хворих підкреслено зростанням рівня МСР-1 у пацієнтів групи 2, у яких не спостерігають позитивної динаміки, що вказує на ризик прогресування захворювання.

Наводимо приклади застосування запропонованого способу:

Приклад 1. Хворий В-й, і.х. № 4396, 6 років. Діагноз: Хронічний гломерулонефрит, нефротична форма, гормоночутливий варіант, без порушення функції нирок; хронічна Епштейн-Барр вірусна інфекція, хронічна інфекція, викликана вірусом простого герпесу 1/2 типу. Хворіє 4 роки, захворювання мало часторецидивуючий перебіг. Впродовж 2-х років документовано 4 рецидиви хронічного гломерулонефриту. Отримав патогенетичну терапію згідно протоколу лікування (преднізолон, делагіл, селсепт, лейкоцетан) та противірусну терапію (ацикловір, віферон). Застосування запропонованого способу показало, що рівень МСР-1 у сечі до лікування складав 760 пг/мл, після лікування - 48 пг/мл, що привело до стійкої ремісії впродовж 2 років після закінчення лікування.

Приклад 2. Хворий П-й, і.х. № 1139, 16 років. Діагноз: Хронічний гломерулонефрит, змішана форма (морфологічно-мембранозний гломерулонефрит, стадія по Eshenreich-Churg-II), гормонорезистентний варіант, без порушення функції нирок; хронічна Епштейн-Барр вірусна інфекція. Хворіє 4 роки, захворювання мало торпідний перебіг, відмічалась протеїнурія до 7 г/л, еритроцитурія до 500 в п/з, артеріальна гіпертензія. Отримав патогенетичне лікування згідно з протоколом (пульстерапія преднізолоном, селсепт, лейкоцетан) та противірусну терапію (валавір, віферон). Застосування запропонованого способу показало, що рівень МСР-1 у сечі до лікування складав 688 пг/мл, після лікування - 184 пг/мл, що свідчить про досягнуту клініко-лабораторну ремісію, протеїнурія після лікування становила 0,033 г/л, нормалізувалися показники артеріального тиску, еритроцитурія відсутня.

Приклад 3. Хвора В-я, і.х. № 2680, 12 років. Діагноз: Хронічний гломерулонефрит, гематурична форма (IgA-нефропатія з патерном дифузного проліферативного гломерулонефриту), без порушення функції нирок; хронічна Епштейн-Барр вірусна інфекція, хронічна цитомегаловірусна інфекція. Хворіє 7 років, захворювання мало торпідний перебіг, відмічалась макрогематурія, порушення функції нирок, анемія 2 ст., протеїнурія до 1,65 г/л, гемоглобінурія. Отримувала лікування делагілом впродовж 12 місяців, метаболічну терапію (СМАРТ-ОМЕГА) та противірусну терапію (ацикловір, віферон, протеклазид). Застосування запропонованого способу показало, що рівень МСР-1 у сечі до лікування складав 256 пг/мл, після лікування - 64 пг/мл, що свідчить про досягнуту клініко-лабораторну ремісію, слідова протеїнурія, нормальні показники функції нирок, еритроцитурія 5-6 в п/з.

Приклад 4. Хвора К-о, і.х. № 1793, 17 років. Діагноз: Хронічний гломерулонефрит (ФСГС тип НОС), змішана форма, хронічна ниркова недостатність 1-2 ст.; хронічна Епштейн-Барр вірусна інфекція, хронічна цитомегаловірусна інфекція. Хворіє 8 років, має клініку неповного нефротичного синдрому (без набряків), протеїнурія до 5 г/л, еритроцитурія до 100 в п/з, СКФ 73 мл/хв. Отримувала лікування нефротичного синдрому згідно з протоколом (преднізолон, селсепт), противірусну терапію не отримувала. Застосування запропонованого способу показало, що рівень МСР-1 у сечі до лікування склав 888 пг/мл, після лікування - 992 пг/мл, що свідчить про те, що захворювання перейшло в хронічну форму, має торпідний перебіг, зберігається порушення функції нирок, протеїнурія становить 3-4 г/л, еритроцитурія, що потребує включення противірусної терапії в комплексне лікування.

Приклад 5. Хвора П-а, і.х. № 1125, 11 років. Діагноз: Хронічний гломерулонефрит, гематурична форма, без порушення функції нирок; хронічна Епштейн-Барр вірусна інфекція, хронічна інфекція, викликана вірусом простого герпесу 1/2 типу. Хворіє 4 роки, захворювання має торпідний перебіг, протеїнурія до 0,5 г/л, еритроцитурія від 100 в п/з до все в п/з. Отримувала лікування делагілом впродовж 12 міс., метаболічну терапію (СМАРТ-ОМЕГА),

протівірусну терапію не отримувала. Застосування запропонованого способу показало, що рівень МСР-1 у сечі до лікування складав 66 пг/мл, після лікування - 1064 пг/мл, що свідчить про те, що зберігається еритроцитурія (від 100 в п/з до все в п/з, протеїнурія - 0,3-0,5 г/л), що потребує включення протівірусної терапії в комплексне лікування.

5 Як свідчать наведені приклади, зниження рівня МСР-1 в сечі дітей, хворих на гломерулонефрит, в динаміці лікування вказує на сприятливий прогноз захворювання, і, навпаки, його підвищення - на важкість подальшого перебігу

Таким чином, спосіб оцінки ефективності протівірусної терапії хронічного  
гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією є інформативним, не складним у  
10 виконанні, визначення рівня сечового МСР-1 є перспективним тестом як для моніторингу активності запального процесу, так і для визначення прогнозу захворювання та оцінки ефективності проведеної протівірусної терапії хворих дітей на хронічний гломерулонефрит, асоційований з герпесвірусною інфекцією. Ефективність способу 65,0 %.

Джерела інформації:

15 1. Горчакова Л.Н. Роль герпесвирусной инфекции в прогрессировании остропротекающего гломерулонефрита у детей и обоснование применения рекомбинантного альфа-2-интерферона: автореф. ... канд. мед. наук / Л. Н. Горчакова. - Москва, 1999. - 24 с.

2. Моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 (МСР-1) в патогенезе изменений  
20 тубулоинтерстициальной ткани у детей с хроническим гломерулонефритом / И. Е. Смирнов, А. Н. Цыгин, Т. В. Сергеева [и др.] // Нефрология и диализ. - 2005. - № 4. - С. 443-447.

3. Лындин А. А. Клинико-иммунологическая характеристика нефротической формы  
гломерулонефрита, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией у детей и повышение  
эффективности его лечения: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. А. Лындин. - Москва, 2012. -  
С. 24.

25

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб оцінки ефективності протівірусної терапії хронічного гломерулонефриту, асоційованого  
з герпесвірусною інфекцією, який включає визначення імунологічних маркерів в динаміці  
30 лікування з використанням специфічної протівірусної терапії та довготривалої інтерферонотерапії, який **відрізняється** тим, що додатково визначають в сечі рівень моноцитарного хемоаттрактантного протеїну-1 (МСР-1), і його зниження в динаміці комплексного лікування вважають позитивним прогностичним маркером ефективності лікування.

---

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