



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 69689

(13) U

(51) МПК

G01N 33/493 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 12366**

(22) Дата подання заявки: **21.10.2011**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.05.2012**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.05.2012, Бюл.№ 9**

(72) Винахідник(и):
**Возіанов Сергій Олександрович (UA),
Черненко Василь Васильович (UA),
Мигаль Людмила Якимівна (UA),
Нікуліна Галина Григорівна (UA),
Ладнюк Ростислав Євгенович (UA),
Желтовська Наталія Ігорівна (UA),
Клюс Андрей Леонідович (UA),
Сербіна Ірина Євгенівна (UA),
Негрей Лариса Миколаївна (UA),
Савчук Володимир Йосипович (UA)**

(73) Власник(и):
**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
УРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ",
вул. Ю. Коцюбинського, 9-а, м. Київ, 04053,
Україна (UA)**

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ІШЕМІЇ ПАРЕНХІМИ НИРКИ У ХВОРИХ НА ОДНОБІЧНИЙ УРОЛІТІАЗ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики ішемії паренхіми нирки у хворих на однобічний уrolітіаз, що включає визначення в сечі рівня активності канальцевого лізосомного ферменту, причому у хворих на однобічний уrolітіаз із частковою обструкцією сечоводу визначають рівень активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі з сечового міхура після фізіологічного сечовипускання, та при збільшенні показників ферменту за верхню межу контрольних значень - 17,1 мкмоль/год./ммоль креатиніну - діагностують ішемію паренхіми нирки.

UA 69689 U

Спосіб належить до галузі медицини, а саме до урології та клінічної біохімії і може бути використаним для діагностики ішемії паренхіми нирки у хворих на односторонній уродитаз із частковою обструкцією сечоводу.

На сьогодні сечокам'яна хвороба за поширеністю посідає одне з головних місць серед урологічних захворювань та складає 38,9 % по Україні. У той же час уродитаз, як відомо, є найбільш частою причиною обструкції верхніх сечових шляхів. Найчастіше в урологічній практиці зустрічається часткова обструкція сечоводу, яка супроводжується розладами уродинаміки, гемодинаміки, порушенням мікроциркуляції та як наслідок - виникненням та прогресуванням гіпоксичних (ішемічних) процесів, що й обумовлює актуальність своєчасної діагностики ішемії паренхіми нирки у цих пацієнтів. Це необхідно для вибору оптимальної тактики ведення цієї категорії хворих безпосередньо як в ранньому, так і в більш віддаленому періодах.

Відомо, що всі ферменти нирок є чутливими до гіпоксії, але реакція тубулярного апарату нефрону є найбільш ранньою і тому найбільш інформативною, а спровоковані гіпоксією порушення метаболізму в нирці можна виявити при дослідженні у сечі рівнів активності ферментів, що локалізовані переважно у канальцевому нефротелії.

Відомо діагностичне значення ензимурії в оцінці функції нирок у хворих сечокам'яною хворобою [1], що полягає у визначенні в сечі хворих на сечокам'яну хворобу активності комплексу ферментів, які відносяться до різних класів та мають різну внутрішньоклітинну локалізацію - L-γ-глутаміл-трансферази та лужної фосфатази, що пов'язані з мембраною тубулярного епітелію, цитоплазматичних ферментів L-лейцинариламідинази та лактатдегідрогенази, лізосомного ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази, а також псевдохолінестерази та нейтральної L-глюкозидази в залежності від наявності або відсутності у хворих активного пієлонефриту.

Недоліки способу полягають в одночасному визначенні активності семи ферментних показників, що значно ускладнює процес його виконання, подовжує час обстеження хворих, до того ж вміст багатьох із досліджуваних ферментів крім нирок у великій кількості є і в інших органах та тканинах організму, ураження яких може сприяти підсиленому виходу їх спочатку в сироватку крові, а потім і підвищенню їх екскреції з сечею, тобто має місце відсутність органоспецифічних властивостей цих ферментних тестів щодо паренхіми нирки та як наслідок - недостатня їх діагностична чутливість та інформативність. Крім того, дослідження проводили у сечі хворих на сечокам'яну хворобу, перебіг якої ускладнився активним пієлонефритом, а пієлонефрит як інфекційно-запальний процес сам по собі сприяє підвищенню інтенсивності ферментурії, тобто використання кількісних величин активності ферментних показників у сечі хворих для діагностики наявності ішемічних зсувів у паренхімі нирок з об'єктивних причин не може бути коректним та інформативним.

Відомий також спосіб діагностики ішемії паренхіми нирки [2], взятий за прототип, шляхом визначення у паренхімі нирки експериментальних тварин (кролів), у яких моделювали розвиток хронічного ішемічного процесу, рівнів активності канальцевого лізосомного ферменту β-галактозидази.

Недоліком способу є неможливість використання його безпосередньо в умовах клініки, тому що сама по собі біопсія нирки не є безпечним оперативним втручанням, а також тому, що у хворих на сечокам'яну хворобу з частковою обструкцією сечоводу конкрементом ішемічні розлади найчастіше розвиваються під час ниркової кольки і характеризуються переважно гострим, а не хронічним перебігом.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб діагностики ішемії паренхіми нирки у хворих на односторонній уродитаз шляхом визначення у сечі пацієнтів з частковою обструкцією сечоводу рівня активності ферменту лізосомного походження N-ацетил-β-D-глюкозамінідази, що надасть можливість виконання способу неінвазивним методом та скорочення часу визначення ферменту завдяки відсутності необхідності проводити хворому біопсію нирки, аналізу отриманих результатів та в залежності від кількісних величин рівнів активності цього ферменту порівняно з контрольними значеннями, діагностують ішемію паренхіми нирки та визначають подальшу лікувальну тактику ведення цих хворих як у ранньому, так і в більш пізньому періодах.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб діагностики ішемії паренхіми нирки у хворих на односторонній уродитаз, що включає визначення в сечі рівня активності канальцевого лізосомного ферменту, згідно з корисною моделлю, у хворих на односторонній уродитаз із частковою обструкцією сечоводу визначають рівень активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі з сечового міхура після фізіологічного сечовипускання, та при збільшенні показників

ферменту за верхню межу контрольних значень - 17,1 мкмоль/год./ммоль креатиніну - діагностують ішемію паренхіми нирки.

Спосіб діагностики ішемії паренхіми нирки у хворих на односторонній уролітіаз виконують наступним чином: у сечі хворого із сечового міхура, що отримана після фізіологічного сечовипускання, визначають рівень активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази, для чого в пробірку беруть 0,2 мл профільтрованої сечі і додають 0,3 мл 0,1 N цитратного буферу (pH 4,15) та 0,2 мл субстрату, який включає 10,0 мМ розчин 4-нітрофеніл-2-ацетамідо-дезоксид-β-D-глюкопіранозиду у 0,1 M цитратному буфері (pH 4,15), проби інкубують 30 хвилин при 37° C, ферментативну реакцію зупиняють додаванням 0,8 мл 0,1 M розчину вуглекислого натрію. Оптичну щільність p-нітрофенолу, що утворився, вимірюють на фотоелектроколориметрі при 400 нм проти контрольної проби, у яку розчин субстрату вносять після припинення ферментативної реакції. Активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі розраховують у мкмольх р-нітрофенолу, що утворився протягом 1 години, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну, вміст якого визначають за кольоровою реакцією Яффе з пікриновою кислотою і, якщо рівні активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі пацієнтів з сечового міхура, яку отримують після фізіологічного сечовипускання, є вищими за верхню межу контрольних значень, тобто вищими за 17,1 мкмоль/год./ммоль креатиніну, діагностують ішемію паренхіми нирки з боку ураження.

Апробація способу, що заявляється, проведена у відділах рентген-ендоурології та літотрипсії, судинної урології та у лабораторії біохімії ДУ "Інститут урології НАМН України" у 67 хворих віком від 18 до 65 років (29 чоловіків та 38 жінок) з верифікованим діагнозом - сечокам'яна хвороба, перебіг якої було ускладнено частковою обструкцією сечоводу конкрементом (дослідна група) та у 25 практично здорових осіб із нормальними аналізами сечі та без захворювань нирок в анамнезі (група контролю). У всіх пацієнтів камені були локалізовані з одного боку та не супроводжувалися атаками гострого або загостренням хронічного пієлонефриту. Функція нирок у хворих, що обстежувалися, була збережена.

Отримані результати показали, що в групі контролю рівні активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі, що була отримана із сечового міхура після фізіологічного сечовипускання, з урахуванням середньої величини та її похибки ($M \pm m$) у середньому становили $11,64 \pm 0,72$ мкмольх р-нітрофенолу, що утворився протягом 1 год. інкубації при 37,0° C із розрахунку на 1 ммоль креатиніну, середнє квадратичне відхилення - σ , величина, що характеризує варіабельність результатів, дорівнювала 3,61. Для визначення меж рівнів активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі практично здорових осіб дотримувалися рекомендацій В.В. Власова [3], який запропонував для встановлення меж референтних інтервалів використовувати формулу $M \pm 1,5 \sigma$. З урахуванням величин середнього квадратичного відхилення ($1,5 \sigma$) межі коливань для рівнів активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі осіб групи контролю становлять 6,2-17,1 мкмоль/год./ммоль креатиніну. Отже, у тих випадках, коли рівні активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі хворих реєструються вищими за 17,1 мкмоль/год./ммоль креатиніну, діагностують ішемію паренхіми нирки. У хворих на односторонній уролітіаз з частковою обструкцією сечоводу (дослідна група), рівні активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази сечі за середніми даними дорівнювали $19,87 \pm 1,41$ мкмоль/год./ммоль креатиніну, що є статистично вірогідно щодо відповідних результатів у сечі осіб з контрольної групи ($p < 0,001$). Отримані результати підтверджують правильність підходу до встановлення меж розподілу рівнів активності ферменту, що досліджувався, для порівняння між показниками пацієнтів дослідної групи (хворі на односторонній уролітіаз) та показниками групи контролю. Точність способу, тобто помилка у двох паралельних визначеннях, не перевищує $\pm 5,3 \%$.

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1. Хворий С.А.В., 31 рік, мед. карт. стац. хв. № 3372, знаходився на стаціонарному лікуванні у відділі рентген-ендоурології та літотрипсії у вересні 2011 р. Клінічний діагноз: сечокам'яна хвороба, камінь верхньої третини правого сечоводу. Був госпіталізований зі скаргами на нападоподібні болі у правому попереку. Об'єктивно: стан задовільний. Тони серця ясні, ритмічні. АД - 120/70 мм рт. ст., пульс - 68 уд./хв. В легенях везикулярне дихання. Живіт при пальпації - м'який, помірно болючий у правому підребер'ї, печінка, нирки, селезінка не пальпуються. С-м Пастернацького праворуч слабопозитивний. Загальний аналіз крові: Hb - 151,0 г/л, Ер - $5,3 \times 10^{12}$ /л, к. п. - 0,85, L - $7,6 \times 10 \%$, тромб. - $210 \times 10 \%$; ШОЕ - 6 мм/год. Біохімічні показники крові: глюкоза - 3,6 ммоль/л, сечовина - 4,7 ммоль/л (N - 3,3-8,3 ммоль/л), креатинін - 105,6 мкмоль/л (N - 71-134 мкмоль/л). Загальний аналіз сечі: жовта, мутнувата, кисла, білок - 0,03 г/л, L - 3-4 у п/з, ер. мало змінені негусто у п/з. На оглядовій урограмі - тень конкременту 0,7 см у верхній третині правого сечоводу. На в/в урограмі - функція та уродинаміка праворуч та ліворуч не порушені. УЗД - паренхіма нирок збережена, праворуч та ліворуч чашечко-мискова система не розширена.

Виконано ензимологічне дослідження за запропонованим способом: активність канальцевого лізосомного ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі з сечового міхура після фізіологічного сечовипускання становила 21,15 мкмоль/год./ммоль креатиніну, тобто перевищувала верхню межу контрольних значень (17,1 мкмоль/год./ммоль креатиніну), що свідчить про наявність ішемічних розладів у паренхімі правої нирки. Хворому виконана екстракорпоральна ударно-хвильова літотрипсія каменя верхньої третини правого сечоводу. Фрагменти конкременту відійшли з сечею. Рекомендовано: спостереження уролога за місцем проживання, режим, дієта, відвари сечогінних трав, канефрон по 2 табл. тричі в день протягом 3-х тижнів, уролесан по 1 капс. тричі в день протягом 7 днів, фумараг по 2 капс. тричі в день протягом 5 днів, а також запобігання фізичним навантаженням та переохолодженням протягом 1,5-2 місяців та санаторно-курортне лікування.

Приклад 2. Хворий Р.А.М., 25 років, мед. карт. стац. хв. № 3355, знаходився на стаціонарному лікуванні у відділі рентген-ендоурології та літотрипсії у вересні 2011 р. Клінічний діагноз: сечокам'яна хвороба, камінь нижньої третини правого сечоводу, хронічний пієлонефрит в стадії ремісії. Був госпіталізований зі скаргами на періодичні нападоподібні болі у правій поперековій ділянці з іррадіацією у нижню частину живота з правого боку протягом тижня. Об'єктивно: стан задовільний, тони серця звучні, ритмічні. АД; - 120/80 мм рт. ст., пульс - 72 уд./хв. В легенях везикулярне дихання, хрипів нема. Живіт при пальпації - м'який, на момент обстеження неболючий у всіх відділах, печінка, нирки, селезінка не пальпуються. С-м Пастернацького слабопозитивний праворуч. Загальний аналіз крові: Hb - 153,0 г/л, Ер - $6,1 \times 10^{12}/л$, к. п. - 0,87, L - $7,6 \times 10^9/л$, тромб. - $197 \times 10^9/л$; ШОЕ - 3 мм/год. Біохімічні показники крові: глюкоза - 3,65 ммоль/л, сечовина - 4,1 ммоль/л (N - 3,3-8,3 ммоль/л), креатинін - 85 мкмоль/л (N - 71-134 мкмоль/л). Загальний аналіз сечі: жовта, мутнувата, кисла, білок - (-), L - 6-8 у п/з, ер. 1-2 у п/з. На оглядовій урограмі - у проекції нижньої третини правого сечоводу тінь конкременту 0,8 см. На в/в урограмі - ліва нирка без особливостей, у нижній третині правого сечоводу конкремент до 0,8 см у діаметрі. УЗД - паренхіма нирок збережена, праворуч чашечко-мискова система помірно розширена.

Виконано ензимологічне дослідження за запропонованим способом: активність канальцевого лізосомного ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі з сечового міхура після фізіологічного сечовипускання становила 18,79 мкмоль/год./ммоль креатиніну, тобто перевищувала верхню межу контрольних значень (17,1 мкмоль/год./ммоль креатиніну), що свідчить про наявність ішемічних розладів в паренхімі правої нирки. Хворому виконана екстракорпоральна ударно-хвильова літотрипсія каменя нижньої третини правого сечоводу. Конкремент фрагментувався, осколки конкременту відійшли з сечею. Рекомендовано: диспансерне спостереження уролога за місцем проживання, режим, дієта, відвари сечогінних трав курсами по 10 днів на місяць, фітоліт по 2 табл. тричі в день протягом 4-х тижнів, запобігання фізичних навантажень та переохолоджень протягом 1,5-2 місяців та санаторно-курортне лікування. Контрольне обстеження через 3 місяці (УЗД, загальний аналіз сечі та загальний аналіз крові).

З наведених прикладів видно, що у хворих на сечокам'яну хворобу з частковою обструкцією сечоводу за допомогою тільки клініко-лабораторних показників та візуалізаційних методів обстеження діагностувати ішемію паренхіми нирки з боку ураження не уявляється можливим. Тільки застосування способу, що заявляється, дозволяє індивідуально у кожного хворого діагностувати ішемічні ушкодження паренхіми нирки з боку обструкції конкрементом, що поряд з даними інших клініко-лабораторних, інструментальних та візуалізаційних методів дослідження, необхідно враховувати для оптимізації безпосередніх та віддалених результатів лікування, а також для визначення обсягу та тривалості оперативного втручання.

Вагомою перевагою способу, що заявляється, є його неінвазивність, безпечність для хворого, доступність (для аналізу використовується сеча) та нескладність у виконанні, що дозволяє надавати клініцисту необхідну інформацію щодо ішемічного ушкодження паренхіми нирки індивідуально у кожного хворого на сечокам'яну хворобу.

Таким чином, спосіб діагностики ішемії паренхіми нирки у хворих на односторонній уролітіаз із частковою обструкцією сечоводу є неінвазивним, точним, нетривалим, безпечним для хворого та нескладним у виконанні, добре відтворюваним та діагностично інформативним: діагностична ефективність способу дорівнює 92,1 %.

Джерела інформації: при експертизі:

1. Диагностическое значение энзимуррии в оценке функции почек у больных мочекаменной болезнью / А.И. Неймарк, А. В. Фидиркин, Е. Н. Звягинцев, В. Н. Жуков // Урол. и нефрология. - 1997. - № 1. - С. 5-7.

2. Пат. № 36540, UA, МПК (2006) G01N33/48. Спосіб діагностики ішемії паренхіми нирки / Пирогов В. О., Мигаль Л. Я., Нікуліна Г. Г., Нікітаєв С. В., Негрей Л. М.; ДУ "ІУАМНУ"; № u 200807888, 10.06.2008; Оpub. 27.10.2008, Бюл. № 20. - 3 с. (прототип).

3. Власов В. В. Эффективность диагностических исследований. - М.: Медицина, 1988. - 180 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Спосіб діагностики ішемії паренхіми нирки у хворих на односторонній уролітіаз, що включає визначення в сечі рівня активності канальцевого лізосомного ферменту, який **відрізняється** тим, що у хворих на односторонній уролітіаз із частковою обструкцією сечоводу визначають рівень активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у сечі з сечового міхура після фізіологічного сечовипускання, та при збільшенні показників ферменту за верхню межу контрольних значень -
15 17,1 мкмоль/год./ммоль креатиніну - діагностують ішемію паренхіми нирки.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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