



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77283** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/53 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 08316	(72) Винахідник(и): Дудар Ірина Олексіївна (UA), Лобода Олена Миколаївна (UA), Дріянська Вікторія Євгенівна (UA), Порошина Тетяна Вікторівна (UA), Мариненко Микола Іванович (UA), Красюк Едуард Костянтинівич (UA), Крот Віктор Федорович (UA)
(22) Дата подання заявки: 06.07.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.02.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.02.2013, Бюл.№ 3	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕФРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. Дегтярівська, 17-В, м. Київ, 04050 (UA)

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки ефективності лікування діабетичної нефропатії включає оцінку зниження рівнів мікроальбумінурії, протеїнурії, швидкості клубочкової фільтрації до та після проведеного курсу лікування. Визначають рівні інтерлейкіну-1 β , інтерлейкіну-10, гамма-інтерферону та трансформуючого фактора росту β у сироватці крові пацієнтів у динаміці лікування. Розраховують співвідношення гамма-інтерферон/інтерлейкін-10 як показник імунізапальної активності. Якщо рівні інтерлейкіну-1 β , гамма-інтерферону та трансформуючого фактора росту β знижуються в 1,5 рази і більше від вихідного рівня або досягають контрольних значень, а рівень інтерлейкіну-10 підвищується та зменшується співвідношення гамма-інтерферон/інтерлейкін-10 до контрольних значень, то лікування оцінюють як ефективне. За відсутності змін рівнів активності цих ферментів після курсу лікування або за наявності негативної їх динаміки, лікування оцінюють як неефективне.

UA 77283 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до нефрології та ендокринології і може бути використана для оцінки ефективності лікування діабетичної нефропатії.

Діабетична нефропатія - пізнє ускладнення цукрового діабету, основою якого є мікроангіопатія судин клубочка з формуванням вузлового або дифузного гломерулосклерозу.

Актуальність проблеми діабетичної нефропатії обумовлена не тільки її широкою розповсюдженістю, але й відомими труднощами лікування. Оптимізація терапії діабетичної нефропатії та оцінка ефективності призначеного лікування є однією з пріоритетних задач нефрології та ендокринології.

Відомий спосіб оцінки ефективності лікування діабетичної нефропатії (1), взятий нами за прототип, який включає зниження рівня мікроальбумінурії та протеїнурії, визначення показника функціонального стану нирок, а саме швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), кількісне значення якої розраховують за формулою MDRD (мл/хв./1,73 м²):

$$\text{ШКФ} = 186 \times (\text{Креатинін сироватки, мкмоль/л} \times 0,0113)^{-1,154} \times (\text{вік, роки})^{-0,203},$$
 для жінок результат помножують на 0,742, до та після проведеного курсу лікування.

Недоліками цього способу є те, що він не враховує імунзапальної активності, яка має важливий вплив на прогресування діабетичної нефропатії.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищити точність та удосконалити спосіб оцінки ефективності лікування діабетичної нефропатії шляхом оцінки зниження рівня мікроальбумінурії та рівня протеїнурії, рівнів швидкості клубочкової фільтрації до та після проведеного курсу лікування, а також визначення імунзапальної активності (рівні інтерлейкіну-1 β , інтерлейкіну-10, гамма-інтерферону та трансформуючого фактора росту β) у сироватці крові в динаміці лікування цукрознижуючими препаратами, інгібіторами ангіотензинперетворюючого ферменту та/або блокаторами рецепторів до ангіотензину II, антигіпертензивними препаратами, низькобілковою дієтою, статинами, антианемічними препаратами та сулодексидом, що надасть можливість не тільки визначати клінічну ефективність та вплив на функцію нирок за рівнем швидкості клубочкової фільтрації, але й визначати вплив даного способу лікування на плазматичні маркери імунзапалення сироватки крові - про- та протизапальні цитокіни, що підвищує точність оцінки ефективності лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб оцінки ефективності лікування діабетичної нефропатії, що включає оцінку зниження рівнів мікроальбумінурії, протеїнурії, швидкості клубочкової фільтрації до та після проведеного курсу лікування, згідно з корисною моделлю, додатково визначають рівні інтерлейкіну-1 β , інтерлейкіну-10, гамма-інтерферону та трансформуючого фактора росту β у сироватці крові пацієнтів у динаміці лікування, а також розраховують співвідношення гамма-інтерферон/інтерлейкін-10, як показник імунзапальної активності, і, якщо рівні інтерлейкіну-1 β , гамма-інтерферону та трансформуючого фактора росту β знижуються в 1,5 рази і більше від вихідного рівня або досягають контрольних значень, а рівень інтерлейкіну-10 підвищується та зменшується співвідношення гамма-інтерферон/інтерлейкін-10 до контрольних значень, то лікування оцінюють як ефективне, а за відсутності змін рівнів активності цих ферментів після курсу лікування або за наявності негативної їх динаміки, лікування оцінюють як неефективне.

Відома негативна роль трансформуючого фактора росту β 1 у прогресуванні діабетичної нефропатії за рахунок стимуляції фіброзу. Інтерлейкін-1 β та інтерферон- γ індукують і підтримують проліферацію мезангіальних клітин клубочка, а також активують у вогнищі запалення синтез колагену III і IV типів (невластивих нормальному мезангіуму) та фібронектина, що супроводжується посиленням продукції екстрацелюлярного матриксу. Інтерлейкін-10, навпаки, пригнічує клітинну проліферацію і в клубочку, і в інтерстиції за рахунок зменшення синтезу інтерлейкіну-1 β моноцитами/макрофагами. Зменшення синтезу інтерлейкіну-10 Т-хелперами 2 типу на тлі підвищеного синтезу прозапальних цитокінів, зокрема інтерлейкіну-1 β та інтерферону- γ , не тільки клітинами інфільтрату, але і фібробластами, створює умови для склерозування клубочка і, відповідно, погіршення функції нирки.

Спосіб оцінки ефективності лікування діабетичної нефропатії виконують наступним чином: визначають вихідні рівні цитокінів у сироватці крові пацієнтів імунферментним методом з використанням тест-систем у відповідності з інструкцією виробника. Оптичну щільність визначають на спектрофотометрі при 405-620 нм. На підставі показників оптичної щільності стандартів з відомими концентраціями речовини автоматично проводять перерахунок показників у одиниці концентрації. Результати виражають в одиницях маси (пг) на одиницю об'єму (мл). Також розраховують співвідношення інтерферон- γ /інтерлейкін-10. Через 3 міс. проводять контрольне вимірювання. Якщо терапія ефективна, тобто рівні інтерлейкіну-1 β , інтерферону- γ та трансформуючого фактора росту β знижуються, а рівень інтерлейкіну-10

підвищується та зменшується співвідношення інтерферон- γ /інтерлейкін-10, хворому рекомендують продовжити призначену терапію за виключенням сулодексиду, прийом сулодексиду повторюють через 6-12 міс. У разі неефективності лікування (за відсутності змін рівнів активності цих ферментів або за наявності негативної їх динаміки) призначають іншу

5

Апробація способу, що заявляється, проведена у Київському міському науково-практичному центрі нефрології та гемодіалізу і лабораторії імунології ДУ "Інститут нефрології НАМН України" у 35 пацієнтів віком від 47 до 68 років з верифікованим діагнозом - діабетична нефропатія та

10

хронічна хвороба нирок II-III ст. та у 25 осіб, які за результатами клінічних і додаткових досліджень визнані практично здоровими (група контролю). Критеріями включення до дослідження є наявність діабетичної нефропатії та хронічної хвороби нирок II-III ст. У хворих проводять аналіз динаміки частоти та ступеня прояву клінічних ознак, вивчають рівні добової протеїнурії та швидкості клубочкової фільтрації до та після лікування, проводять аналіз зміни рівнів інтерферону- γ , інтерлейкіну-1 β , інтерлейкіну-10, трансформуючого фактора росту - β 1 в сироватці крові та співвідношення інтерферон- γ /інтерлейкін-10. Оцінюють такі клінічні ознаки як астеничний синдром, головний біль, запаморочення голови, перебої та біль в ділянці серця, болі в попереку, дизуричні явища, набряки, задишка, порушення сну, порушення зору, шум у вухах, порушення апетиту, нудота, блювота, спрага, свербіння шкіри, судоми. Ступінь прояву оцінюють у балах за допомогою вербальної шкали: 0 - ознака не спостерігається, 1 - легкий ступінь, 2 - середній ступінь, 3 - високий ступінь прояву симптому.

15

20

Рівні цитокінів у хворих достовірно перевищують норму, тому задовільним результатом лікування є зниження прозапальних (ІЛ-1 β , γ -ІФ) та просклеротичного ТФР- β , а також співвідношення γ -ІФ/ІЛ-10 в бік норми здорових донорів, результати обстеження яких надані в таблиці.

25

Таблиця

Рівень цитокінів в сироватці крові здорових донорів (пг/мл)

Цитокіни сироватки крові					Статистичний показник
ІЛ-1 β	γ -ІФ	ІЛ-10	γ -ІФ/ІЛ-10	ТФР β	
94,9 \pm 0,6	20,2 \pm 0,4	19,9 \pm 0,6	1,3 \pm 0,03	56,6 \pm 0,9	M \pm m
94,9 \pm 4,2	20,2 \pm 3,3	19,9 \pm 4,7	1,3 \pm 0,21	56,6 \pm 6,5	M \pm 1,5 σ
90,7-99,1	16,9-23,5	15,2-24,6	1,09-1,51	50,1-63,1	від - до

Результати досліджень показали, що в групі контролю рівень інтерферону- γ в сироватці крові з урахуванням середньої арифметичної величини та її похибки (M \pm m) дорівнював 20,2 \pm 0,4 пг/мл, σ =2,2, інтерлейкіну-1 β - 94,9 \pm 0,6, σ =2,8, інтерлейкіну-10 - 19,9 \pm 0,6, σ =3,1, трансформуючого фактора росту β 1 - 56,6 \pm 0,9, σ =4,3, співвідношення інтерферон- γ /інтерлейкін-10 - 1,3 \pm 0,03, σ =0,14 відповідно. Межі фізіологічних або контрольних коливань для рівнів інтерферону- γ з урахуванням середнього квадратичного відхилення величини, що характеризує ступінь варіювання будь-якого показника, становлять 20,2 \pm 3,3 пг/мл, тобто від 16,9 до 23,5 пг/мл; межі фізіологічних або контрольних коливань для рівнів інтерлейкіну-1 β - 94,9 \pm 4,2 пг/мл, тобто від 90,7 до 99,1 пг/мл; межі фізіологічних або контрольних коливань для рівнів інтерлейкіну-10 - 19,9 \pm 4,7 пг/мл, тобто від 15,2 до 24,6 пг/мл; межі фізіологічних або контрольних коливань для рівнів трансформуючого фактора росту β 1 - 56,6 \pm 6,5 пг/мл, тобто від 50,1 до 63,1 пг/мл; межі фізіологічних або контрольних коливань для співвідношення інтерферон- γ /інтерлейкін-10 1,3 \pm 0,21, тобто від 1,09 до 1,51 відповідно.

30

35

40

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1. Хворий М., 55 років, тематична карта № 24. Діагноз: Цукровий діабет 2 типу, компенсований. Хронічна хвороба нирок II ст.: діабетична нефропатія, виражена стадія. Ішемічна хвороба серця: стенокардія напруги стабільна I функціональний клас, серцева недостатність I ст. Звернувся зі скаргами на загальну слабкість, втомлюваність (вираженість симптомів оцінено в 2 бали), головний біль (2 бали). Анамнез захворювання: артеріальна гіпертензія близько 10 років, з артеріальним тиском до 180/100 мм рт.ст., стенокардія близько 3-4 років, стабільний перебіг. Близько 6 років цукровий діабет 2 типу з підвищенням рівня глюкози крові до 9 ммоль/л. Ураження нирок 4 роки. При об'єктивному дослідженні: загальний стан середньої тяжкості, гіперстенік, шкіра блідо-рожевого кольору, підшкірно-жирова клітковина

45

50

розвинена задовільно, набряків немає, периферичні лімфатичні вузли не пальпуються. Над поверхнею легень при порівняльній перкусії - ясний легеневий звук, при аускультатії - везикулярне дихання. Частота дихальних рухів 18 за хвилину. Межі відносної серцевої тупості не змінені. При аускультатії серця: ритм правильний, частота серцевих скорочень 82 удари за хвилину, тони серця приглушені, 1 тон на верхівки не змінено, акцент 2 тону над аортою. Пульс: ритм правильний, частота 82 удари за хвилину, дефіциту пульсу немає, задовільного наповнення, напруги та величини. Рівень артеріального тиску 150/95 мм рт. ст. Язик чистий, рожевий, вологий. Живіт не збільшений, овальної форми, при пальпації м'який, безболісний. Печінка, селезінка не пальпуються. Симптом Пастернацького негативний з обох боків. Випорожнення та діурез в нормі. Результати досліджень наступні: у крові - еритроцити $4,2 \times 10^{12}/л$, гемоглобін 121 г/л, лейкоцити $5,14 \times 10^9/л$, гранулоцити 54,3 %, лімфоцити 40,6 %, моноцити 5,1 %, ШОЕ 7 мм/годину; сечовина 5,6 ммоль/л, креатинін 88 мкмоль/л; АсАТ 0,25, АлАТ 0,58, тимолова проба 0,9, білірубін 10,15/2,8 мкмоль/л; глюкоза - 6,1 ммоль/л; глікозильований гемоглобін 6,3 %; загальний холестерин 4,63 ммоль/л, коагулограма - в нормі. Добова протеїнурия 0,8 г/добу, загальний аналіз сечі - без особливостей. Розрахована за формулою (1) швидкість клубочкової фільтрації 83 мл/хв./1,73 м. При рентгенологічному обстеженні органів грудної клітки - легені без видимої патології. Діафрагма рухлива, синуси вільні. Серце збільшено вліво, аорта подовжена, пульсації ритмічні. Електрокардіографічне дослідження - ритм синусовий, правильний, положення електричної осі серця нормальне. Ознаки гіпертрофії лівого шлуночка. Консультація окуліста: міопія I ст, пресбіопія, ангіопатія сітківки по гіпертензивному типу. Пацієнту було призначено: цукорзнижуюча терапія (діабетон MR 1 т. \times 1), моноприл 10 мг на добу, бісопролол 5 мг на добу та індапамід 2,5 мг на добу, сулодексид по 600 LRU (ліпопротеїнліпазних одиниць) внутрішньом'язево 10 днів, потім по 250 LRU (ліпопротеїнліпазних одиниць) \times 2 рази по 3 місяці. Через 3 місяці хворий скарж не пред'являє, було відзначено покращення функціонального стану нирок (швидкість клубочкової фільтрації 96,8 мл/хв./1,73 м², добова протеїнурия 0,2 г/добу), достатній антигіпертензивний ефект (рівень артеріального тиску 135/80 мм рт. ст.). При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що до лікування імуноферментне дослідження виявило підвищений рівень інтерферону- γ 148,8 пг/мл, після лікування - 81,6 пг/мл відповідно, тобто відбулося зменшення рівня, що був до лікування, приблизно у 2 рази. Рівень інтерлейкіну-1 β до лікування був підвищений до 172,5 пг/мл, після лікування - 98,4 пг/мл відповідно, тобто відбулося зменшення рівня, що був до лікування, майже у 2 рази. Рівень інтерлейкіну-10 підвищився більш ніж в 1,5 рази - з 31 до 55,6 пг/мл. Рівень трансформуючого фактора росту β 1 зменшився з 120,3 до 68 пг/мл після лікування. Співвідношення інтерферону- γ /інтерлейкін-10 зменшилося після лікування від 4,8 до 1,47. Це свідчить про позитивний вплив використаної терапії і достатню ефективність лікування. Хворій рекомендовано продовжити призначену терапію за виключенням сулодексида, прийом сулодексида повторити через 6-12 міс., диспансерне спостереження за місцем проживання.

Приклад 2. Хвора Б., 51 рік, тематична карта № 51. Діагноз: цукровий діабет 2 типу, компенсований. Хронічна хвороба нирок II ст.: діабетична нефропатія, виражена стадія. Ішемічна хвороба серця: Стенокардія напруги стабільна II функціональний клас. Серцева недостатність II А ст. Скарги при звертанні: загальну слабкість, втомлюваність (вираженість симптомів оцінено в 2 бали), головний біль (3 бали), шум у вухах (2 бали), серцебиття та задуха (2 бали) при звичайному фізичному навантаженні. Анамнез захворювання: артеріальна гіпертензія близько 11 років, з артеріальним тиском (АТ) до 190/100 мм рт. ст. Стенокардія близько 4 роки, стабільний перебіг. Близько 9 років цукровий діабет 2 типу з підвищенням рівня глюкози крові до 11,1 ммоль/л. Ураження нирок 6 років. При об'єктивному дослідженні: загальний стан середньої тяжкості, гіперстенік, шкіра блідо-рожевого кольору, підшкірно-жирова клітковина розвинена задовільно, набряків немає, периферичні лімфатичні вузли не пальпуються. Над поверхнею легень при порівняльній перкусії - ясний легеневий звук, при аускультатії - везикулярне дихання. Частота дихальних рухів 18 за хвилину. Межі відносної серцевої тупості не змінені. При аускультатії серця: ритм правильний, частота серцевих скорочень 78 ударів за хвилину, тони серця приглушені, 1 тон на верхівки не змінено, акцент 2 тону над аортою. Пульс: ритм правильний, частота 78 ударів за хвилину, дефіциту пульсу немає, задовільного наповнення, напруги та величини. Рівень артеріального тиску 160/95 мм рт. ст. Язик чистий, рожевий вологий. Живіт не збільшений, овальної форми, при пальпації м'який, безболісний. Печінка, селезінка не пальпуються. Симптом Пастернацького негативний з обох боків. Випорожнення та діурез в нормі. Результати досліджень наступні: у крові - еритроцити $5,8 \times 10^{12}$, гемоглобін 121 г/л, лейкоцити $7,6 \times 10^9$, гранулоцити 61,3 %, лімфоцити 35,6 %, моноцити 3,1 %, ШОЕ 9 мм/годину; сечовина 6,6 ммоль/л, креатинін 77 мкмоль/л; АсАТ 0,28, АлАТ 0,34,

тимолова проба 0,8, білірубін 15,2/3,8 мкмоль/л; глюкоза - 7,1 ммоль/л; глікозильований гемоглобін 7,1 %; загальний холестерин 5,8 ммоль/л, коагулограма - в нормі. Добова протеїнурія 1,4 г/добу, загальний аналіз сечі - без особливостей. Розрахована за формулою (1) швидкість клубочкової фільтрації -71,8 мл/хв./1,73 м². При рентгенологічному обстеженні органів грудної клітки - легені без видимої патології. Діафрагма рухлива, синуси вільні. Серце збільшено вліво, аорта подовжена, пульсації ритмічні. Електрокардіографічне дослідження - ритм синусовий, правильний, положення електричної осі серця нормальне. Ознаки гіпертрофії лівого шлуночка. Консультація окуліста: міопія II ст, пресбіопія, ангіопатія сітківки по гіпертензивному типу. Пацієнту було призначено: цукорзнижуюча терапія (діабетон MR 1 т. × 2), лозартан 50 мг на добу та верапаміл-ретард 240 мг на добу, сімвастатин 10 мг, сулодексид по 600 LRU (ліпопротеїнліпазних одиниць) внутрішньом'язево 10 днів, потім по 250 LRU (ліпопротеїнліпазних одиниць) × 2 рази по 3 місяці. Через 3 місяці клінічний стан хворого дещо покращився: загальна слабкість та втомлюваність не турбують, головний біль (1 бал), шум у вухах (1 бал), серцебиття та задиха (1 бал) при звичайному фізичному навантаженні, функціональний стан нирок без суттєвих змін (швидкість клубочкової фільтрації 71,8 мл/хв/1,73 м², добова протеїнурія 0,9 г/добу), антигіпертензивний ефект недостатній (рівень артеріального тиску 145/90 мм рт. ст.). При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що до лікування імуноферментне дослідження виявило підвищений рівень інтерферону-γ 107,5 пг/мл, після лікування - 108,2 пг/мл відповідно. Рівень інтерлейкіну-1β до лікування був підвищений до 112,8 пг/мл, після лікування - 110 пг/мл відповідно. Рівень інтерлейкіну-10 не змінився та становив 55,6 пг/мл. Рівень трансформуючого фактора росту β1 майже не змінився та залишився підвищеним - з 110 до 106,5 пг/мл після лікування. Співвідношення інтерферон-γ/інтерлейкін-10 після лікування майже не змінилося - від 1,94 до 1,95. Лікування у даному випадку було визнано неефективним та підбрано іншу схему лікування.

Таким чином, запропонований спосіб надасть можливість не тільки визначати клінічну ефективність та вплив на функцію нирок за рівнем швидкості клубочкової фільтрації, але й визначати вплив даного способу лікування на плазматичні маркери імунозапалення сироватки крові - про- та протизапальні цитокіни, що дозволить вчасно та адекватно корегувати терапію та гальмувати прогресування діабетичної нефропатії.

Джерела інформації:

1. Березовський О. Є. Використання низькомолекулярних гепаринів у хворих на діабетичну нефропатію: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.02 "Внутрішні хвороби" / О. Є. Березовський. - Харків, 2007. - 20 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб оцінки ефективності лікування діабетичної нефропатії, що включає оцінку зниження рівнів мікроальбумінурії, протеїнурії, швидкості клубочкової фільтрації до та після проведеного курсу лікування, який **відрізняється** тим, що додатково визначають рівні інтерлейкіну-1β, інтерлейкіну-10, гамма-інтерферону та трансформуючого фактора росту β у сироватці крові пацієнтів у динаміці лікування, а також розраховують співвідношення гамма-інтерферон/інтерлейкін-10 як показник імунозапальної активності, і, якщо рівні інтерлейкіну-1β, гамма-інтерферону та трансформуючого фактора росту β знижуються в 1,5 рази і більше від вихідного рівня або досягають контрольних значень, а рівень інтерлейкіну-10 підвищується та зменшується співвідношення гамма-інтерферон/інтерлейкін-10 до контрольних значень, то лікування оцінюють як ефективне, а за відсутності змін рівнів активності цих ферментів після курсу лікування або за наявності негативної їх динаміки, лікування оцінюють як неефективне.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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