



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **81807**

(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 2013 01206	(72) Винахідник(и):	Колесник Микола Олексійович (UA), Король Леся Вікторівна (UA), Мигаль Людмила Якимівна (UA), Степанова Наталя Михайлівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	01.02.2013	(73) Власник(и):	ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕФРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. Дегтярівська, 17-в, м. Київ, 04050 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.07.2013		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.07.2013, Бюл.№ 13		

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ПІЄЛОНЕФРИТ

### (57) Реферат:

Спосіб оцінки ефективності терапії жінок з рецидивуючим перебігом хронічного пієлонефриту, що включає визначення до та після лікування активності канальцевих ферментів лізосомного походження у біологічній рідині, причому як біологічну рідину досліджують сироватку крові, у якій визначають активність канальцевого ферменту мітохондріального походження трансамідази, та, якщо активність ферменту після курсу лікування не реєструють, терапію оцінюють як ефективну, якщо активність ферменту суттєво зменшується, але продовжує реєструватися, - як частково ефективну, а, якщо не змінюється або підвищується, терапію оцінюють як неефективну.

UA 81807 U



Спосіб належить до медицини, а саме до нефрології та урології, і може бути використаний для оцінки ефективності терапії жінок з рецидивуючим перебігом хронічного пієлонефриту та оптимізації на цій підставі схем їх адекватного лікування.

Інтерес до розвитку та прогресування хронічного пієлонефриту обумовлений тим, що це неспецифічне інфекційно-запальне ураження чашково-мискової системи з поширенням запалення на каналцевий епітелій та інтерстиціальну тканину нирок, що супроводжується розвитком ішемії паренхіми нирок, призводить до формування вогнищового нефросклерозу. Наслідком перелічених процесів є активація ферментних систем тубулярного відділу нефрону. Тобто, поява у біологічних середовищах (сироватці крові та сечі) ферментів, що взагалі не визначаються у здорових осіб, свідчить про наявність дисфункції каналцевого відділу нефрону, розвиток вторинної тубулопатії та відповідно про "зацікавленість" ниркової тканини в запальному процесі. Як відомо, у рамках сучасних протоколів основою протирецидивного лікування пієлонефритів є антимікробна терапія. Втім, результати аналізу ефективності етіотропної терапії цього широко розповсюдженого захворювання не завжди задовільні. Отже, актуальність проблеми хронічного пієлонефриту обумовлена не тільки його широкою розповсюдженістю, але й відомими труднощами лікування. Для вибору оптимальної схеми лікування хронічного пієлонефриту, особливо з рецидивуючим перебігом, та, відповідно, зниження частоти його рецидивування у кожному конкретному випадку, важливо мати об'єктивні критерії ефективності застосованої терапії, що базуються у першу чергу на об'єктивній оцінці функціонального стану саме паренхіми нирки.

Відомий спосіб оцінки ступеня порушень функції паренхіми нирок у вагітних, хворих на пієлонефрит (гострий, хронічний та поєднаний з нефропатією вагітних), що включає визначення сечової активності ферменту трансамідази у III триместрі вагітності, а також у післяпологовому періоді.

Недоліками цього способу є те, що вагітні жінки мають певні особливості реакції організму у відповідь на нейрогормональні перебудови метаболізму в цілому та, зокрема, у каналцевому відділі нефрону, що є головним місцем локалізації цього ферменту, тобто порівнювати результати, що отримані у вагітних жінок, з результатами невагітних жінок не може бути коректним.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивним перебігом (2), що взятий за прототип, який включає визначення у сечі до та після курсу лікування рівнів активності умовно реноспецифічних каналцевих ферментів лізосомного походження N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази та  $\beta$ -галактозидази та наступної оцінки ефективності терапевтичних заходів залежно від спрямованості змін їх величин.

До недоліку способу належить те, що активність цих ферментів визначають у сечі не тільки хворих з патологією нирок, а також у сечі практично здорових осіб. Крім того, одночасне визначення двох ферментів певною мірою подовжує, утруднює та підвищує собівартість обстеження.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищити точність та удосконалити спосіб оцінки ефективності терапії хворих на пієлонефрит шляхом визначення у сироватці крові до та після лікування активності умовно органоспецифічного щодо паренхіми нирок ферменту трансамідази (L-аргінін: гліцинамідотрансферази, КФ 2.1.4.1), яку у сироватці крові практично здорових осіб взагалі не визначають (не реєструють), що надає можливість своєчасно оцінити ефективність застосованої комплексної терапії та за необхідності індивідуально у кожній пацієнтки своєчасно відкоригувати протокол лікувальних заходів.

Важливим є те, що визначають у сироватці крові жінок з рецидивуючим перебігом хронічного пієлонефриту активність саме трансамідази - ферменту, який у сироватці крові осіб без патології нирок взагалі не виявляють, на органному рівні цей фермент має переважну локалізацію в нирках, на клітинному - в епітелії проксимальних каналців нефрону, на субклітинному - у мітохондріях. На цій підставі певні органоспецифічні щодо нирок властивості трансамідази забезпечують більш точну, більш надійну та більш об'єктивну, а отже і більш інформативну діагностику стану паренхіми нирок, зокрема нефротелію тубулярного відділу нефрону. Важливим є також те, що своєрідна морфологічна будова проксимальних каналців паренхіми нирки сприяє виходу за межі клітини (сироватка крові, сеча) мітохондріальних ферментів навіть за умов мінімального ушкодження каналцевого епітелію.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб оцінки ефективності терапії хворих на пієлонефрит, що включає визначення до та після лікування активності каналцевих ферментів лізосомного походження у біологічній рідині, згідно з корисною моделлю, як біологічну рідину досліджують сироватку крові, у якій визначають активність каналцевого ферменту

мітохондріального походження трансамідази, та, якщо після курсу лікування активність ферменту не реєструють, терапію оцінюють як ефективну, якщо активність ферменту суттєво зменшується, але продовжує реєструватися, - як частково ефективну, а, якщо не змінюється або підвищується, терапію оцінюють як неефективну.

5 Спосіб оцінки ефективності терапії хворих на пієлонефрит виконують наступним чином: для аналізу використовують уранішню кров із ліктьової вени натщесерце, венозну кров набирають бажано у пластикові пробірки (для запобігання абсорбції ферменту на склі) без коагулянтів, центрифугують при 1500 об/хв протягом 15-20 хв. Сироватка крові для аналізу повинна бути без слідів гемолізу.

10 Для визначення активності трансамідази в центрифужну пробірку вносять 0,35 мл 0,007М розчину L-канаваніну- $H_2SO_4$  (готують на 0,14 М фосфатному буфері, pH 7,5), 0,35 мл 0,007 М розчину L-орнітину-HCl (готують на 0,14М фосфатному буфері, pH 7,5) та здійснюють преінкубацію протягом 15 хв при 37 °С у водяній бані. Потім у дослідну пробу вносять 0,2 мл сироватки крові суміш інкубують протягом 60 хв при 37 °С. У контрольну пробу джерело ферменту (сироватку крові) додають після інкубації. Реакцію зупиняють додаванням 0,1 мл 50 % розчину трихлороцтової кислоти. Для осадження білків проби центрифугують при 3000 об./хв 20 хв. Потім 0,5 мл надосадової рідини із дослідної та контрольної проб відбирають у окрему пробірку, доводять водою до 1,0 мл та здійснюють колориметричне визначення L-аргініну, що утворився в результаті ферментативної реакції, за модифікованою реакцією Сакагучи. Для цього до 1,0 мл розчину, що вміщує L-аргінін у дослідній та контрольній пробах, додають 2,0 мл розчину 2N NaOH, енергійно струшують та приливають 1,0 мл 0,02 % розчину 8-оксихіноліну (готують перед застосуванням із 0,2 % спиртового розчину шляхом розведення водою у 10 разів), ретельно перемішують і вносять по 1,0 мл гіпоброміту натрію (готують шляхом додавання 0,05 мл бром до 100 мл 0,5N NaOH), негайно струшують та відразу 25 добавляють по 1,0 мл 40 % розчину сечовини (реактиви для здійснення реакції Сакагучи обов'язково тримають у холодильній камері). Колориметриують через 6-10 сек на фотоелектроколориметрі при 490 нм (кувети - 10 мм) проти води. Колір розчину, що утворився в результаті ферментативної реакції, при кімнатній температурі не є стійким, але є стійким протягом декількох годин, якщо проби помістити у льодяну баню. Активність трансамідази є пропорційною різниці екстинцій між дослідним та контрольним визначеннями. Вміст L-аргініну, що утворився під час ферментативної реакції, визначають за калібрувальним графіком. Активність ферменту виражають у ммольх L-аргініну, що утворився за 1 годину інкубації при 37 °С, із розрахунку на 1 л сироватки крові.

35 Апробація способу, що заявляється, проведена у відділі нефрології та діалізу і у лабораторії біохімії ДУ "Інститут нефрології НАМН України" (у стаціонарі та амбулаторно під час консультаційних прийомів) у 77 жінок віком від 17 до 63 років з верифікованим діагнозом - хронічний пієлонефрит з рецидивуючим перебігом та у 20 практично здорових жінок того ж віку з нормальними аналізами сечі, без захворювань нирок в анамнезі (група контролю). Середній вік хворих становив  $31,5 \pm 4,1$  роки. Тривалість захворювання коливалась від 2 до 18 років і в середньому складала  $6,3 \pm 1,6$  років. Верифікацію діагнозу здійснюють на підставі оцінки скарг (відчуття болю, печії та дискомфорту під час сечовипускання, ніктурії, частого сечовипускання тощо), даних анамнезу, клініко-лабораторного (позитивний симптом Пастернацького, тривала субфебрильна температура тіла, загальна слабкість, лейкоцитоз, підвищення ШОЕ, лейкоцитурія тощо) та інструментального дослідження нирок. Визначають також рівні добової 45 протеїнурії, лейкоцитурії та бактеріурії. Критеріями включення до дослідження були наявність бактеріурії  $\geq 10^5$  КУО/мл та часте рецидивування (більше 3 разів на рік). Критеріями виключення пацієнток із дослідження були: вагітність та лактація, наявність ознак обструкції сечових шляхів, зниження швидкості клубочкової фільтрації. Ферментативні дослідження проводять до та після призначення хворим антибактеріальної терапії. Отримані результати свідчать, що у сироватці 50 крові здорових жінок активність трансамідази не реєструють.

Аналіз результатів дослідження активності трансамідази у сироватці крові жінок з рецидивуючим перебігом хронічного пієлонефриту до лікування показав, що активність трансамідази становить у них у середньому  $0,504 \pm 0,012$  ммоль/(год.л), що підтверджує діагноз хронічного пієлонефриту у цих пацієнток. Точність способу: похибка у двох паралельних 55 визначеннях активності трансамідази не перебільшує  $\pm 5,7$  %.

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1

60 Хвора Ф.Л.І., 31 р., тематична карта № 272. Діагноз: Хронічна хвороба нирок І ст.: неускладнений пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. Після призначення протягом 14 діб курсу антибактеріального лікування згідно з результатами встановленої чутливості виявленого

збудника скарги у хворі зникли; симптом Пастернацького - (-) з двох боків, у загальних аналізах крові та сечі патології не виявлено. Культуральне дослідження сечі росту мікрофлори не виявило. Хворій призначена профілактична терапія з використанням журавлини (500 мл морсу) впродовж 5 днів на тиждень протягом 6 місяців з наступним контрольним обстеженням. При застосуванні способу, що заявляється, виявляють, що до лікування активність трансамідази у сироватці крові становить 1,81 ммоль/(год.л), що свідчить про наявність активного запального процесу у паренхімі нирок, після лікування - активність трансамідази у сироватці крові становить 0, тобто не реєструється, що свідчить про позитивний вплив отриманого лікування на паренхіму нирки, а застосовану терапію оцінюють як ефективну. При плановому (контрольному) обстеженні через півроку рецидивів пієлонефриту не констатовано.

#### Приклад 2

Хвора К.А.П., 25 р., тематична карта № 305. Діагноз: Хронічна хвороба нирок І ст.: неускладнений пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. Після призначення протягом 14 діб курсу антибактеріальної терапії згідно до встановленої чутливості збудника, що був виявлений, скарги у хворі зникли; симптом Пастернацького - (-) з двох боків, у загальних аналізах крові та сечі патології не виявлено. Бактеріологічне дослідження сечі хоча і показало зниження титру КУО/мл у порівнянні з долікувальним періодом, але ріст мікрофлори продовжують виявляти. При застосуванні способу, що заявляється, виявляють, що активність трансамідази у сироватці крові до лікування становить 0,95 ммоль/(год.л), що свідчить про наявність активного запального процесу у паренхімі нирок, після лікування - активність трансамідази у сироватці крові становить 0,17 ммоль/(год.л), тобто активність ферменту суттєво зменшується, але продовжує реєструватися, що свідчить про частково позитивний вплив отриманого лікування на паренхіму нирки, а застосовану терапію оцінюють як частково ефективну. Хворій було рекомендовано продовжити антибактеріальне лікування згідно результатам бактеріального засіву сечі до повної ерадикації збудника та повторити запропоноване обстеження після закінчення терапії.

#### Приклад 3

Хвора А.В.Г., 29 р., тематична карта № 278. Діагноз: Хронічна хвороба нирок І ст.: неускладнений пієлонефрит, рецидивуючий перебіг. Через 14 діб після застосування антибактеріальної терапії згідно до результатів встановленої чутливості виявленого збудника скарги у хворі відсутні, симптом Пастернацького - слабо позитивний з двох боків, загальні аналізи крові та сечі - без особливостей. Результати повторного бактеріологічного обстеження показали, що повної ерадикації виявленого у хворі збудника (*E. coli*) досягнуто не було. При застосуванні способу, що заявляється, виявлено, що активність трансамідази у сироватці крові до лікування становить 0,78 ммоль/(год.л), що свідчить про наявність активного запального процесу у паренхімі нирок, після лікування - активність трансамідази у сироватці крові становить 0,89 ммоль/(год.л), тобто має місце підвищення активності ферменту після курсу проведеного лікування, що свідчить про відсутність позитивного впливу отриманого лікування на паренхіму нирки, а застосовану терапію оцінюють як неефективну. Хворій було рекомендовано продовжити антибактеріальне лікування згідно результатам бактеріального засіву сечі до повної ерадикації збудника та повторити запропоноване обстеження після закінчення терапії.

З наведених прикладів видно, що у всіх жінок з рецидивуючим перебігом хронічного пієлонефриту за допомогою тільки загальних клініко-лабораторних показників (скарги, підвищення температура тіла, лейкоцитоз, підвищення ШОЕ, лейкоцитурія тощо), які характеризують загальну відповідь організму на патологічний чинник, а також тільки за наявності (відсутності) бактеріурії та її ступеня неможливо надати об'єктивну оцінку ефективності проведеного лікування щодо активності запального процесу безпосередньо в паренхімі нирки. Застосування ж запропонованого способу дозволяє вірогідно у кожної пацієнтки окремо оцінити вплив комплексної антибактеріальної терапії на активність запального процесу саме в паренхімі нирок, що необхідно враховувати щодо оптимізації подальшої терапевтичної тактики.

Найбільш вагомою перевагою способу, що заявляється, є той факт, що активність трансамідази у сироватці крові осіб без патології нирок взагалі відсутня, тобто її не реєструють, безпечність способу дозволяє за необхідності використовувати його неодноразово в процесі лікування.

Таким чином, спосіб оцінки ефективності терапії хворих на пієлонефрит є точним, чутливим, нескладним у виконанні, безпечним для хворого та дозволяє лікарю своєчасно та найбільш об'єктивно оцінити ефективність проведеного лікування та його вплив безпосередньо на

паренхіму хворого органу, спосіб є діагностично інформативним: діагностична ефективність дорівнює 87,7 %.

Джерела інформації:

5 1. Мигаль Л.Я. Трансамідиназа сечі як маркерний фермент патології нирок у вагітних, хворих на пієлонефрит / Л.Я. Мигаль, Л.В. Король, Л.С. Туманова, Н.Р. Шинкаренко // Лаб. діагностика.- 2005 - № 4 (34). - С. 24-27.

2. Патент на КМ UA № 32723 U, МПК 2009 G01N 33/493 (2008.01), A61P 13/12 (2008.01). Спосіб оцінки ефективності лікування хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивним перебігом / Н.М. Степанова, Л.Я. Мигаль, Л.В. Король; ДУ "ІН АМНУ"; № u 200800814, 23.01.2008. Опубл.  
10 26.05.2008, Бюл. № 10. - 4 с. (прототип).

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 Спосіб оцінки ефективності терапії жінок з рецидивуючим перебігом хронічного пієлонефриту, що включає визначення до та після лікування активності канальцевих ферментів лізосомного походження у біологічній рідині, який **відрізняється** тим, що як біологічну рідину досліджують сироватку крові, у якій визначають активність канальцевого ферменту мітохондріального походження трансамідинази, та, якщо активність ферменту після курсу лікування не  
20 реєструють, терапію оцінюють як ефективну, якщо активність ферменту суттєво зменшується, але продовжує реєструватися, - як частково ефективну, а, якщо не змінюється або підвищується, терапію оцінюють як неефективну.

---

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

---

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