



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113601** (13) **C2**
(51) МПК (2016.01)
G01N 33/48 (2006.01)
A61B 10/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2016 02335	(72) Винахідник(и): Возіанов Сергій Олександрович (UA), Черненко Василь Васильович (UA), Мигаль Людмила Якимівна (UA), Нікуліна Галина Григорівна (UA), Желтовська Наталія Ігорівна (UA), Черненко Дмитро Васильович (UA), Клюс Андрей Леонідович (UA), Негрей Лариса Миколаївна (UA), Сербіна Ірина Євгенівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 11.03.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.02.2017	
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.10.2016, Бюл.№ 19	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.02.2017, Бюл.№ 3	
	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ УРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. Ю. Коцюбинського, 9-а, м. Київ, 04053 (UA)
	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 99243 C2, 25.07.2012 UA 71211 U, 10.07.2012 UA 37485 U, 25.11.2008 UA 38591 A, 15.05.2001

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ ТУБУЛЯРНОГО ЕПІТЕЛІЮ НИРКИ У ХВОРИХ НА ФОСФОРНОКИСЛИЙ НЕФРОЛІТІАЗ

(57) Реферат:

Винахід належить до галузі медицини, зокрема до урології, нефрології та клінічної біохімії, і може бути використаним для оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз, прогнозування перебігу хвороби та оцінки ефективності її лікування. Спосіб оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки включає визначення канальцевих лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази у сечі з ниркової миски, яку отримують під час оперативного втручання або під час катетеризації, додатково розраховують співвідношення рівнів активності цих ферментів та при збільшенні величин цього співвідношення за середні контрольні значення на 10-15 % ступінь ішемічного ушкодження тубулярного епітелію з боку ураження нирки конкрементом у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз оцінюють як перший або початковий, при збільшенні на 20-30 % - як другий або помірний та при збільшенні на 40-60 % - як третій або виражений.

UA 113601 C2

Спосіб належить до галузі медицини, зокрема до урології, нефрології та клінічної біохімії, і може бути використаним для оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз, прогнозування перебігу хвороби та оцінки ефективності її лікування.

5 Сечокам'яна хвороба в Україні - надзвичайно поширена урологічна патологія (становить майже 40 %). Щорічно реєструють зростання близько 2 % кількості первинних хворих на сечокам'яну хворобу, що перебувають на обліку.

Фосфорнокислий нефролітіаз, як відомо, займає провідне місце за частотою рецидивування та тяжкістю перебігу хвороби серед усіх видів сечокам'яної хвороби. Саме серед хворих на 10 фосфорнокислий нефролітіаз процеси рецидивування каменеутворення найбільш поширені - 40-70 %, іноді досягаючи понад 10 епізодів протягом життя. Наявність хронічного запального процесу в нирках значно погіршує перебіг хвороби. У групі фосфорнокислих ниркових каменів виділяють до восьми різних за складом конкрементів: основні з них - ті, що вміщують магній (струвїт та інші), та ті, що вміщують кальцій (апатит та інші), але найбільш агресивними щодо 15 процесів рецидивування є конкременти, до складу яких входить струвїт. Найбільш часто зустрічаються струвїтні камені, що складаються із фосфату магнію амонію з карбонатом кальцію або без нього. Їх також називають "інфекційними каменями" у зв'язку з їх асоціацією з бактеріями, що розщеплюють сечовину, що і обумовлює швидке зростання каменів. Отже, до особливостей перебігу фосфорнокислого нефролітіазу на відміну від оксалатного та уратного 20 належить швидке формування конкрементів без явної клінічної симптоматики у більшості хворих, значна тривалість ушкоджуючої дії конкременту(тів) на паренхіму нирки взагалі та канальцевий нефротелій, зокрема, ці конкременти не схильні до самостійного відходження на тлі ниркової коліки, тобто вони, як правило, не викликають обструкції сечоводу, що є більш притаманним для оксалатного та уратного нефролітіазу. Перелічені патологічні зміни, що 25 розвиваються у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз, супроводжуються розладами інтраренальної гемодинаміки, порушенням мікроциркуляції, виникненням та прогресуванням гіпоксичних (ішемічних) процесів, що безумовно ушкоджують паренхіму нирки, особливо при довготривалій дії. Виразність цього ушкодження у різних пацієнтів з різних причин може коливатися від початкового ступеня до помірного та вираженого, що й обумовлює актуальність 30 своєчасної оцінки ступеня ішемічних розладів в паренхімі нирок у цієї категорії хворих та відповідно своєчасного лікування у післяопераційному періоді. Отже, розмежування ступенів ішемічних розладів у паренхімі нирки у цих хворих є необхідним для подальшої диференціації лікувальної тактики індивідуально у кожного хворого.

Серед усіх органів сечовидільної системи нирки, як відомо, є найбільшим джерелом 35 ферментів, які виявляються у сечі. Ось чому визначення ферментативної активності сечі, особливо враховуючи органоспецифічність щодо нирок деяких із них (таких як N-ацетил-β-D-глюкозамінідаза та β-галактозидаза лізосомного походження, що переважно локалізовані у канальцевому сегменті нефрону), є найбільш інформативним методом, що об'єктивно відбиває не тільки стан гіпоксично-ішемічних порушень у тубулярному епітелії нирки, але й його ступінь.

40 Відомий спосіб діагностики ішемічного ушкодження канальцевого нефротелію у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз (1), який включає визначення рівнів активності канальцевих лізосомних ферментів N-ацетил-β-D-глюкозамінідази та β-галактозидази у сечі із ниркової миски під час оперативного втручання (ішемію паренхіми нирки діагностують при збільшенні рівнів активності цих ферментів за верхню межу їх контрольних значень).

45 Недоліком способу є те, що даний спосіб не передбачає диференціацію ступенів ішемічного ушкодження канальцевого нефротелію у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз, що безумовно обмежує використання цього способу у певного кола цих хворих.

Відомий також спосіб діагностики ступеня ішемічного ушкодження паренхіми нирки у хворих на сечокам'яну хворобу із обструкцією сечоводу, взятий за прототип (2), що полягає у 50 визначенні рівнів активності N-ацетил-β-D-глюкоза-мінідази та β-галактозидази у сечі з ниркової миски з боку ураження, яку отримують під час катетеризації нирки або під час оперативного втручання з приводу обструкції нирки, та в залежності від кратності збільшення рівнів активності цих ферментів порівняно з контрольними значеннями, діагностують перший, другий та третій ступені ішемічного ушкодження паренхіми нирки.

55 Недоліком способу є те, що ступінь ішемічного ушкодження паренхіми нирки діагностують у хворих на сечокам'яну хворобу із обструкцією сечоводу, тобто у хворих на щавлевокислий або сечокислий нефролітіаз, а, як вже зазначалось, хворі на фосфорнокислий нефролітіаз мають свої особливості перебігу хвороби: камені доволі великих розмірів, що не мають схильності до самостійного відходження та блокування нирки, схильність до частого рецидивування та 60 розвитку хронічного запального процесу в нирках. Крім того, діагностика ступеня ішемічного

ушкодження паренхіми нирки шляхом оцінки кратності змін рівнів активності одночасно двох ферментів, кратність змін яких різна, певною мірою затруднює інтерпретацію отриманих результатів.

В основу винаходу поставлена задача удосконалити спосіб оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз шляхом визначення рівнів активності каналцевих лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази у сечі, яку отримують під час оперативного втручання або під час катетеризації нирки, розрахунку їх співвідношення і, залежно від величин збільшення цього співвідношення за середні контрольні значення (у відсотках) діагностують ступінь ішемічного ушкодження тубулярного епітелію з боку ураження нирки конкрементом як перший або початковий, другий або помірний та третій або виражений та визначають індивідуальну тактику протирецидивного ведення кожного хворого у післяопераційному періоді.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз, який включає визначення каналцевих лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази у сечі з ниркової миски, яку отримують під час оперативного втручання або під час катетеризації, згідно з винаходом, додатково розраховують співвідношення рівнів активності цих ферментів та при збільшенні величин цього співвідношення за середні контрольні значення на 10-15 % ступінь ішемічного ушкодження тубулярного епітелію з боку ураження нирки конкрементом у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз оцінюють як перший або початковий, при збільшенні на 20-30 % - як другий або помірний та при збільшенні на 40-60 % - як третій або виражений, що може бути використаним для більш об'єктивної диференціації метаболічних розладів у цих хворих, прогнозування подальшого перебігу хвороби у післяопераційному періоді та своєчасного застосування метафілактичних заходів лікування ішемічних ушкоджень.

Спосіб оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз виконують наступним чином: у сечі із ниркової миски, яку отримують під час оперативного втручання, визначають активність β -галактозидази, для чого в пробірку беруть 0,2 мл профільтрованої сечі і додають до них 0,3 мл 0,1 М цитратного буферу (рН 4,0) та 0,2 мл субстрату, який включає 5,0 мМ розчину р-нітрофеніл- β -D-галакто-піранозиду у 0,1 М цитратному буфері (рН 4,0). При визначенні активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в пробірку беруть 0,2 мл профільтрованої сечі і додають до них 0,3 мл 0,1 М цитратного буферу (рН 4,15) та 0,2 мл субстрату, який включає 10 мМ розчину 4-нітрофеніл-2-ацетамідо-2-дезоксі- β -D-глюкопіранозиду у 0,1 М цитратному буфері (рН 4,15). Подальший хід виконання ферментативних реакцій в пробах є загальним для визначення активності обох ферментів. Проби інкубують 30 хвилин при 37 °С, потім реакцію зупиняють додаванням 0,8 мл 0,1 М розчину вуглекислого натрію. Оптичну щільність пара-нітрофенолу, що утворився, вимірюють на фотоелектрокалориметрі при 400 нм у кюветах з товщиною шару 3 мм проти контрольної проби, у яку розчин субстрату вносять після припинення ферментативної реакції. Мірою активності ферменту є кількість р-нітрофенолу, що утворився в результаті ферментативної реакції. Кількість пара-нітрофенолу визначають за калібрувальною кривою, побудованою за стандартним розчином, що вміщує у пробі від 0,01 до 0,1 мкмоль р-нітрофенолу. Активність β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази сечі розраховують у мкмольх р-нітрофенолу, що утворився протягом 1 години, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі, вміст якого визначають загальновідомим методом за кольоровою реакцією Яффе з пікриновою кислотою. Розраховують співвідношення величин активності β -галактозидази до величин активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази.

Апробація способу, що заявляється, проведена у відділах сечокам'яної хвороби, екстракорпоральної урології та літотрипсії та у лабораторії біохімії ДУ "Інститут урології НАМН України" у 106 хворих, які перебували в ДУ "Інститут урології НАМН України" протягом 2010-2015 рр. Переважний вік хворих перебував в межах 40-60 років. Первинно виявлений нефролітіаз був у 28 пацієнтів (26,4 %), рецидивний - у 78 (73,6 %). Тривалість хвороби коливалась від 1 до 8 років, кількість випадків рецидивування за цей період становила від 3 до 6, в середньому $3,8 \pm 0,9$ епізодів. Всі хворі за перебігом хвороби, необхідністю майже термінової допомоги (ступінь активності хронічного запального процесу) та мінеральним складом виділеного конкременту були поділені на 3 групи: 1-ша група - 52 хворих зі змішаними конкрементами (серед них 38 випадків - 73 % - рецидивів), яким виконувалася перкутанна нефролітотрипсія з внутрішнім та зовнішнім дренажуванням нирки; 2-га група - 20 хворих з кальцієвмісними конкрементами - гідроксилапатит (17 випадків) та брушит (3 випадки), яким виконувалася екстракорпоральна ударнохвильова літотрипсія, 11 пацієнтів (55,0 %) з цієї групи хворіли на рецидивний нефролітіаз; 3-я група - 34 хворих з магнієвмісними конкрементами - струвіт (30

випадків, із них 29 з рецидивним нефролітіазом - 85,3 %) та н'юберіт (4 випадки), яким виконувалося відкрите оперативне втручання, а саме пієлолітотомія із зовнішнім дрениванням нирки, що було продиктовано розмірами конкременту (більше 2,0 см). Також було досліджено 25 практично здорових осіб з нормальними аналізами сечі та без захворювань нирок в анамнезі (група контролю). У всіх пацієнтів на момент обстеження перебіг хвороби не супроводжувався атаками гострого або загостренням хронічного пієлонефриту. Функція нирок, з яких видалявся конкремент, за даними радіоізотопної ренографії (РРГ), у хворих, що обстежувалися, була збережена.

Результати визначення рівнів активності β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази - ферментів лізосомного походження, у сечі із ниркової миски, яку отримують під час оперативного втручання або під час катетеризації нирки, а також величин їх співвідношення з урахуванням мінерального складу виділеного конкременту та залежно від ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз наведені в таблиці.

Таблиця

Активність β -галактозидази (β -Гал) та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ) у сечі із ниркової миски, яку отримують під час оперативного втручання або катетеризації нирки з боку ураження нирки каменем, у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз та величини співвідношення рівнів активності цих ферментів ($M \pm m$)

№ за/п	Групи хворих на фосфорнокислий нефролітіаз з (зі)	Ступінь ішемічного ушкодження нефротелію	Активність ферментів (мкмоль/год./ммоль креатиніну)		Співвідношення β -Гал до НАГ
			β -Гал	НАГ	
1	змішаними конкрементами	I ступінь, n=52	13,5 \pm 0,93	18,4 \pm 0,98	0,73 \pm 0,029
2	кальцієвмісними каменями	II ступінь, n=20	17,2 \pm 1,24	27,7 \pm 1,29	0,62 \pm 0,033
3	магнієвмісними конкрементами	III ступінь, n=34	19,7 \pm 2,34	47,9 \pm 3,28	0,41 \pm 0,049
4	практично здорові (контроль), n=25		9,6 \pm 0,68	11,6 \pm 0,72	0,83 \pm 0,037
	P ₁₋₄ <		0,001	0,001	0,05
	P ₁₋₂ <		0,02	0,001	0,02
	P ₂₋₃ <		-	0,001	0,001

Як свідчать наведені у таблиці результати, встановлена статистично вірогідна різниця між першою групою хворих на фосфорнокислий нефролітіаз, тобто між групою хворих із I ступенем ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки та групою практично здорових осіб, що свідчить про те, що у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз вже з початковим ступенем ішемічного ушкодження паренхіми нирки зміни рівнів активності ферментів, мають місце та є досить вираженими ($p < 0,001$). Порівняльний аналіз між групами хворих (2-у та 1-у, 3-у та 2-у), тобто між групами пацієнтів із різним ступенем ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки, демонструє наявність вираженої та статистично доведеної залежності між інтенсивністю підвищення рівнів активності β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази у сечі з ниркової миски з боку ураження та ступенем ішемічного ушкодження паренхіми нирки конкрементом у цих хворих ($p < 0,001$ -0,02). Однак, слід зазначити, що інтенсивність змін рівнів активності ферментів, що досліджувалися, хоча і односпрямована, але різна. Так, виразність змін рівнів активності β -галактозидази значно менша, ніж виразність змін рівнів активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (табл.), що пояснюється різною внутрішньолізосомною локалізацією цих ферментів та обумовлює необхідність розрахунку їх співвідношення, зміни кількісних величин якого поміж групами з різним ступенем ішемічного ушкодження нефротелію конкрементом статистично достовірна ($p < 0,05$ -0,001). Вищезазначене підтверджує правильність методичного підходу до вибору статистично вірогідного показника у способі, що заявляється, щодо об'єктивності та інформативності оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз з боку ураження нирки конкрементом.

Отже, враховуючи тільки перебіг хвороби, наявність та активність хронічного запального процесу в нирці та мінеральний склад виділеного конкременту, можна з деякою мірою вірогідності лише припустити ступінь ішемічних розладів у тубулярному епітелії нирки у даного

пацієнта. У той же час кількісні вирази рівнів активності у сечі із ниркової миски з боку ураження лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази, що мають виражені реноспецифічні властивості, та особливо кількісні вирази їх співвідношення можна вважати об'єктивними та інформативними маркерами ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у даного хворого на фосфорнокислий нефролітіаз.

Проведений індивідуальний аналіз отриманих результатів у сечі з ниркової миски, яку отримують під час катетеризації або оперативного втручання у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз показав: при збільшенні величин співвідношення рівнів активності лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази за середні контрольні значення ($0,83 \pm 0,037$) на 10-15 % ступінь ішемічного ушкодження тубулярного епітелію з боку ураження нирки конкрементом оцінюють як перший або початковий, при збільшенні на 20-30 % - як другий або помірний та при збільшенні на 40-60 % - як третій або виражений.

Точність способу, тобто помилка у двох паралельних визначеннях величин співвідношення рівнів активності β -галактозидази до рівнів активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази - $\pm 5,5$ %.

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1. Хворий Ш., 30 років, мед. к. стац. хв. № 942. Клінічний діагноз: сечокам'яна хвороба, фосфорнокислий двобічний нефролітіаз, хронічний пієлонефрит в стадії ремісії. Скаржиться на періодичний біль в поперековій ділянці зліва протягом останніх 2-х місяців. На сечокам'яну хворобу хворіє впродовж 5 років, мав 3 випадки видалення конкрементів. Хронічний пієлонефрит спостерігається впродовж 3 років, в сечі періодично висівають *E. coli*. Загальний аналіз крові: Hb-140,0 г/л, Ер - $4,8 \times 10^{12}$ /л, к.п. - 0,88, L- $5,1 \times 10^9$ /л, Тр - 211×10^9 /л; гематокрит - 41 %, ШОЕ - 7 мм/год. Біохімічні показники крові: креатинін - 67,5 мкмоль/л (N - 71-134 мкмоль/л), сечовина - 4,6 ммоль/л (N - 3,3-8,3 ммоль/л). Загальний аналіз сечі - реакція кисла, питома вага 1014, мутна, білок - 1,51 г/л, лейкоцити - 6-7 в полі зору, еритроцити - 3-5 в полі зору, бактерії - в незначній кількості. УЗД: права нирка розміром $12,4 \times 4,7$ см, паренхіма 1,7 см, чашечко-мискова система - незначно розширена миска, в мисці конкремент до 2,0 см; ліва нирка розміром $11,8 \times 5,6$ см, паренхіма 2,0 см, чашечко-мискова система не розширена, в мисці конкремент 1,5 см. За даними радіоізотопної ренографії (РРГ) функція обох нирок збережена (ПВ=65 %). Оглядова урографія: тіні конкрементів в проекції обох нирок. Екскреторна урографія: функція обох нирок збережена, визначається незначна ектазія порожнинної системи обох нирок.

Хворому виконана перкутанна нефролітотрипсія зліва, під час якої шляхом катетеризації була взята сеча для визначення активності β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази.

Ензимологічне дослідження: активність каналцевих лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази у сечі з лівої нирки становить 13,14 та 17,81 мкмоль/год./ммоль креатиніну відповідно, величина співвідношення рівнів активності цих ферментів дорівнює 0,74, тобто перевищує середнє значення контролю ($0,83 \pm 0,037$) на 11,0 %, що свідчить про наявність 1-го або початкового ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію лівої нирки. Рекомендовано: диспансерне спостереження уролога за місцем проживання, режим, дієта з урахуванням особливостей фосфорнокислого літіаузу (виключення лужних мінеральних вод та цитрусових, різке обмеження молочних продуктів тощо), достатній водний режим - до 2,0-2,5 л/добу, протирецидивне лікування, запобігання фізичним навантаженням та переохолодженням. Контрольне обстеження через 1 місяць (УЗД, загальні аналізи сечі та крові).

Приклад 2. Хворий Д., 42 роки, мед. к. стац. хв. № 814. Клінічний діагноз: сечокам'яна хвороба, фосфорнокислий нефролітіаз, хронічний пієлонефрит в стадії ремісії. На сечокам'яну хворобу хворіє впродовж 7 років, мав 3 випадки видалення конкрементів. Скаржиться на періодичний ниючий біль в поперековій ділянці справа впродовж останніх 6 місяців. Хронічний пієлонефрит спостерігається впродовж 5 років, в сечі періодично висівають *Pseudomonas*. Загальний аналіз крові: Hb-141,0 г/л, Ер - $4,89 \times 10^{12}$ /л, к.п. - 0,87, L- $4,9 \times 10^9$ /л, Тр - 238×10^9 /л; гематокрит - 43 %, ШОЕ - 8 мм/год. Біохімічні показники крові: креатинін - 88,3 мкмоль/л (N - 71-134 мкмоль/л), сечовина - 4,2 ммоль/л (N - 3,3-8,3 ммоль/л). Загальний аналіз сечі - реакція кисла, питома вага 1010, мутна, білок - 0,18 г/л, лейкоцити - все поле зору, еритроцити 2-3 в полі зору, бактерії - в незначній кількості. За даними УЗД: права нирка розміром $11,4 \times 5,0$ см, паренхіма 1,6 см, в нижньому сегменті конкремент 1,2 см, ліва нирка розміром $10,2 \times 5,3$ см, паренхіма 1,5 см, чашечко-мискова система не розширена, інкрустована дрібними включеннями по 0,2-0,3 см без ехотині. За даними радіоізотопної ренографії (РРГ) функція обох нирок збережена (ПВ=74 %). Оглядова урографія: тінь конкременту 1,5 см в проекції правої нирки. Екскреторна урографія: функція обох нирок збережена, уродинаміка верхніх сечових шляхів з обох сторін не порушена. Хворому виконано сеанс екстракорпоральної ударнохвильової

літотрипсії справа, сеча для визначення активності β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази була взята шляхом катетеризації нирки. Ензимологічне дослідження: активність канальцевих лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази у сечі з правої нирки становить 16,89 та 27,52 мкмоль/год./ммоль креатиніну відповідно, величина співвідношення рівнів активності цих ферментів дорівнює 0,61, тобто перевищує середнє значення контролю ($0,83 \pm 0,037$) на 26,50 %, що свідчить про наявність II-го або помірного ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію правої нирки. Рекомендовано: диспансерне спостереження уролога за місцем проживання, режим, дієта з урахуванням особливостей фосфорнокислого нефролітіазу (виключення лужних мінеральних вод та цитрусових, різке обмеження молочних продуктів тощо), достатній водний режим - до 2,0-2,5 л/добу, метафілактична терапія - Ноцисталь (1 табл 3 рази/день - 1 міс.), при лейкоцитурії - абактеріальна терапія, запобігання фізичним навантаженням та переохолодженням. Контрольне обстеження через 1 місяць (УЗД, загальні аналізи сечі та крові).

Приклад 3. Хворий Г., 54 роки, мед. к. стац. хв. № 1658. Клінічний діагноз: сечокам'яна хвороба, двобічні рецидивні коралоподібні камені нирок, камінь верхньої третини сечоводу справа, нефростома справа, стент справа, гідронефроз зліва, хронічний пієлонефрит в стадії ремісії. На сечокам'яну хворобу хворіє впродовж 12 років, мав 5 випадків видалення конкрементів. Останні 3 місяці скаржиться на постійний біль в поперековій ділянці справа, загальну слабкість, прискорене сечовипускання, наявність нефростомічного дренажу справа. Хронічний пієлонефрит спостерігається впродовж 10 років (останнє загострення - півроку тому), за останні 2 роки в сечі постійно висівають *Proteus vulgaris* або мікст - *Proteus vulgaris* + *E. coli*. Загальний аналіз крові: Hb-120,0 г/л, Ер - $4,5 \times 10^{12}$ /л, к. п. - 0,8, L- $8,1 \times 10^9$ /л, Тр - 346×10^9 /л; гематокрит - 36 %, ШОЕ - 14 мм/год. Біохімічні показники крові: креатинін - 144,0 мкмоль/л (N - 71-134 мкмоль/л), сечовина - 9,2 ммоль/л (N - 3,3-8,3 ммоль/л). Загальний аналіз сечі - реакція лужна, питома вага 1003, мутна, білок - 0,4 г/л, лейкоцити - густо покривають все поле зору, еритроцити - 3-4 в полі зору, бактерії - в значній кількості. За даними УЗД: права нирка розміром 12,2×5,2 см, паренхіма витончена 1,0 см, в нижньому сегменті коралоподібний конкремент 2,5 см; ліва нирка розміром 14,6×8,5 см, паренхіма 0,7 см, чашечко-мискова система розширена і виповнена коралоподібним конкрементом до 10,0 см. За даними радіоізотопної ренографії (РРГ) на фоні збереженої функції правої нирки спостерігається різке зниження функції лівої нирки (ПВ=51 %). Оглядова урографія: тіні коралоподібних каменів в проекції обох нирок та тінь каменю в правій верхній третині сечоводу справа. Тінь стенту справа. Антеградна пієлоуретерографія: візуалізується уретеропієлоектазія справа, множинні дефекти наповнення в проекції нижньої групи чашок правої нирки, тінь конкременту в проекції верхньої третини сечоводу справа.

Конкремент правої нирки був видалений відкритим оперативним шляхом, під час якого з миски правої нирки була взята сеча для визначення активності β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази.

Ензимологічне дослідження: активність канальцевих лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази у сечі з правої нирки становить 19,25 та 46,53 мкмоль/год./ммоль креатиніну відповідно, величина співвідношення рівнів активності цих ферментів дорівнює 0,41, тобто перевищує середнє значення контролю ($0,83 \pm 0,037$) на 51,0 %, що свідчить про наявність III-го або вираженого ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію правої нирки. Рекомендовано: диспансерне спостереження уролога за місцем проживання, режим, дієта з урахуванням особливостей фосфорнокислого літіазу (виключення лужних мінеральних вод та цитрусових, різке обмеження молочних продуктів тощо), достатній водний режим - до 2,0-2,5 л/добу, метафілактична терапія - Ноцисталь (1 табл 3 рази/день - 1 міс.), при лейкоцитурії - антибіотикотерапія, запобігання фізичним навантаженням та переохолодженням. Контрольне обстеження через 1 місяць (УЗД, аналізи сечі та крові).

З наведених прикладів видно, що застосування способу, що заявляється, дозволяє індивідуально у кожного хворого діагностувати ступінь ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки з боку ураження конкрементом, що поряд з даними інших клініко-лабораторних, інструментальних та візуалізаційних методів дослідження доцільно враховувати для оптимізації безпосередніх та віддалених результатів лікування. Також спосіб, що пропонується, за своєю інформативністю, об'єктивністю та доступністю виконання (при динамічному спостереженні у післяопераційному періоді використовується сеча після фізіологічного сечовипускання або, за необхідності, сеча, що одержана шляхом катетеризації нирки) може слугувати як індикатор відновлення функціональної здатності ураженої нирки, тобто бути маркером ефективності відновлення функціонального стану канальцевого епітелію нирки після видалення фосфорнокислого конкременту. Вагома перевага способу, що заявляється, - це застосований

нами методичний підхід до його виконання: не тільки одночасне визначення рівнів активності двох ферментів з певними реноспецифічними властивостями, що мають лізосомну локалізацію, але по-різному пов'язані зі структурними компонентами цієї органели (β -галактозидаза розчинена у матриксі лізосоми, а N-ацетил- β -D-глюкозамінідаза є частково пов'язаною з її мембраною), безпосередньо у сечі з ниркової миски з боку ураження конкрементом (під час оперативного втручання або під час катетеризації нирки), а також розрахунок співвідношення рівнів активності цих ферментів, що значно спрощує інтерпретацію отриманих результатів та сприяє підвищенню на цій підставі діагностичних та прогностичних можливостей способу завдяки об'єктивній інформації щодо ступеня ішемічного ушкодження каналцевого епітелію нирки у кожного хворого окремо. Використання відносного показника усуває залежність кінцевого результату показників, що досліджувалися, від методів та умов визначення, одиниць виміру тощо. Крім того, в рамках стандартизації (уніфікації) лабораторного процесу використання відносних одиниць надає можливість співставлення результатів досліджень, які отримуються в різних лабораторіях, їх клінічної оцінки та можливості використання при ретроспективному аналізі отриманих раніше даних. До переваг способу також належить доступність біологічного матеріалу (сеча) та устаткування (фотоелектроколориметр), що дозволяє його використання у будь-якій клініко-діагностичній лабораторії.

Таким чином, спосіб оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз є точним, безпечним для хворого (для аналізу використовується сеча), нескладним у виконанні, не потребує великої кількості біологічного матеріалу, добре відтворюваним та інформативним, діагностична ефективність способу дорівнює 93,1 %. Спосіб може бути використаним для корекції та оптимізації лікувальної тактики ведення хворих на фосфорнокислий нефролітіаз у післяопераційному періоді індивідуально у кожного хворого.

Джерела інформації:

1. Заявка № u201508776, UA, МПК (2006.01): G01N 33/493, A61P 13/12. Спосіб діагностики ішемічного ушкодження каналцевого нефротелію у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз / Черненко В.В., Мигаль Л.Я., Нікуліна Г.Г., Черненко Д.В., Желтовська Н.І., Ключ А.Л., Негрей Л.М., Сербіна І.С., Савчук В.Й. (UA); ДУ "ІУ НАМНУ"; № u201508776, 11.09.2015.

2. Патент на винахід № 99243, UA, МПК(2012.01) G01N 33/50 (2006.01), A61B 10/00. Спосіб діагностики ступеня ішемічного ушкодження паренхіми нирки у хворих на сечокам'яну хворобу із обструкцією сечоводу / Возіанов С.О., Черненко В.В., Мигаль Л.Я., Нікуліна Г.Г., Ладнюк Р.Є., Желтовська Н.І., Ключ А.Л., Сербіна І.Є., Негрей Л.М., Савчук В.Й.; u201114393, 05.12.2011. Опубл. 25.07.2012. Бюл. № 14. - 6 с. (прототип).

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

Спосіб оцінки ступеня ішемічного ушкодження тубулярного епітелію нирки у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз, що включає визначення каналцевих лізосомних ферментів β -галактозидази та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази у сечі із ниркової миски, яку отримують під час оперативного втручання або під час катетеризації нирки, який **відрізняється** тим, що додатково розраховують співвідношення рівнів активності цих ферментів та при збільшенні величин цього співвідношення за середні контрольні значення на 10-15 % ступінь ішемічного ушкодження тубулярного епітелію з боку ураження нирки конкрементом у хворих на фосфорнокислий нефролітіаз оцінюють як перший або початковий, при збільшенні на 20-30 % - як другий або помірний та при збільшенні на 40-60 % - як третій або виражений.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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