View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Directory of Open Access Journals

Elkhader I., Casellas F., López Vivancos J., [et al.] // PLoS One. – 2014. – V. 9 (4). – Mode of access: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3991704

11. Regulation of an antioxidant blend on intestinal redox status and major microbiota in early weaned piglets / J. Xu, C. Xu, X. Chen, X. Cai, S. Yang, Y. Sheng, et al. // Nutrition. – 2014. – V. 30. – P. 584-589.

12. The gut microbiota modulates host amino acid and glutathione metabolism in mice (Electronic resource) / Mardinoglu A., Shoaie S., Bergentall M., [et al.] / Molecular Systems Biology. – 2015. – V. 11 (10). – Mode of access : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4631205/

Надійшла до редакції 27.01.2017
Прийнята до друку 15.02.2017

© Колесник М. О., Дріянська В. Є., Величко М. Б., Драннік Г. М., Петрина О. П., Непомнящий В. М., 2017

УДК: 612.017.1:616.611-002-036.12+616.61-008.6

М. О. КОЛЕСНИК, В. Є. ДРІЯНСЬКА, М. Б. ВЕЛИЧКО, Г. М. ДРАННІК, О. П. ПЕТРИНА, В. М. НЕПОМНЯЩИЙ

АСОЦІАТИВНІ ЗВ'ЯЗКИ HLA З ВИСОКИМ РІВНЕМ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ

M. KOLESNYK, V. DRIYANSKA, M. VELYCHKO, G. DRANNIK, O. PETRINA, V. NEPOMNYASCHIY

ASSOCIATION OF HLA AND PROINFLAMMATORY CYTOKINES OF BLOOD IN PATIENTS WITH GLOMERULONEPHRITIS

Державна установа «Інститут нефрології Національної академії медичних наук України»

SI "Institute of Nephrology NAMS of Ukraine"

Ключевые слова: *антигены гистосовместимости, провоспалительные цитокины, хронический гломерулонефрит, нефротический синдром.*

Key words: *HLA, proinflammatory cytokines, chronic glomerulonephritis, nephrotic syndrome.*

Резюме. *Вступление. Цитокины и HLA играют важную роль в иммуногенезе многих заболеваний, поэтому анализ этих показателей и их ассоциативных связей у больных гломерулонефритом (ГН) может определить их значение как дополнительных прогностических маркеров.*

Цель работы - определить особенности ассоциаций высокого уровня сывороточных провоспалительных цитокинов (TNF α, MCP-1, IL-18) и определенных HLA в фенотипе для дальнейшего обоснования иммуногенеза хронического гломерулонефрита с нефротическим синдромом (ХГН, НС) и установления дополнительных маркеров прогнозирования его течения.

Материалы и методы. Изучали распределение HLA-антигенов у 264 больных с ХГН, НС и 350 здоровых доноров путем типирования лимфоцитов с помощью стандартного микролимфоцитотоксического теста (Терасаки). Методом ИФА исследовали в сыворотке крови уровень MCP-1 у 39, IL-18 – 40 та TNF-α - 96 больных («Invotrogen», «Вектор Бест», РФ).

Результаты. Показана ассоциация у взрослых больных ХГН, НС с HLA-A23, -24, -B8, -38, -41, -44, -DR1, -4, -w52 (RR≥2); причинная роль с абсолютным риском (АР, σ≥0,1) установлена для HLA-A24, -B8, -DR 1, -4, -w52. Относительный риск (ОР) развития хронической почечной недостаточности (ХПН) высокий при наличии в фенотипе HLA-10, -29, -30, -41, -51, -DR4; АР - HLA-A10.

У пациентов с ХГН, НС достоверно повышены уровни сывороточных провоспалительных цитокинов – TNF-б, IL-17, MCP-1, которые наиболее высоки для TNF-α при наличии в фенотипе HLA-A23, -A28, -B44 (ОР ХГН, НС), -A10 (АР ХПН), для IL-18 - A24 (АР ХГН, НС) и A10 (АР ХПН). MCP-1 наиболее высокий у взрослых носителей антигенов риска ХГН, НС – относительного B41 и абсолютного - A28, B8, а также предиктора развития ХПН B41, что можно учитывать как прогнозонегативный маркер.

Заключение. Установлены ассоциации между сывороточными уровнями некоторых цитокинов и HLA у больных ХГН, НС. Считаем целесообразным изучать HLA и провоспалительныу цитокины TNF-α, IL-18 и MCP-1 в крови в качестве дополнительных негативных прогностических предикторов для дифференцированного подхода к лечению.

Дріянська Вікторія Євгенівна
kirin@inephrology.kiev.ua

Summary. *Introduction. Cytokines and HLA are of important part of immunogenesis of many diseases, therefore the analysis of these indices and this associations in dependence of glomerulonephritis (GN) can define their value as the additional prognostic markers.*

Aim of the work is to determine the peculiarities of associations the high serum levels of proinflammatory cytokines (TNF α, MCP-1, IL-18) and some HLA in phenotype to substantiate of chronic glomerulonephritis with nephrotic syndrome (CGN, NS) immunogenesis and to ascertain the additional prognostic markers.

Materials and methods. There was studied the HLA-antigens distribution in the 264 CGN, NS adult patients and 350 healthy donors by typing the lymphocytes with the aid of standard microlymphocytotoxic test (Terasaki's test). Using IFA, the level of the proinflammatory cytokines was studied in the blood serum - MCP-1 in 39, IL-18 – 40 and TNF-α - 96 patients.

Results. HLA-A23, -24, -B8, -38, -41, -44, DR1, -4, -w52 in adults patients have associations (RR≥2) CGN, NS; the attributive risk (σ≥0,1) to develop GN detected in patients have A24, B8, DR 1, 4, w52. The relative risk (RR) to develop chronic renal failure (CRF) is in detection of HLA-10, -29, -30, -41, -51, DR4; attributive risk (AR) - A10.

The CGN, NS patients showed statistically higher level of the serum proinflammatory cytokines – TNF-б, IL-17, MCP-1 with more high indices of the TNF-α in patients with HLA-A23, -A28, -B44 (RR of CGN, NS), -A10 (AR of CRF), IL-18 - A24 (AR of CGN, NS) ma A10 (AR of CRF). The highest levels of MCP-1 detected in adults case have risk antigens - relative B41, attributive - A28, B8, and predictor of CRF B41, wich may be negative marker for prognosis.

Conclusion. It was to determine associations the serum levels of some cytokines and HLA in patients with CGN, NS. We think it appropriate to study HLA and proinflammatory cytokines TNF-α, IL-18 and MCP-1 in blood as additional negative prognostic predictors for the differentiating approach to treatment.

ВСТУП. Важливою проблемою сучасної медицини є збільшення хворих з патологією нирок у загальній структурі захворюваності, в тому числі серед молодого працездатного населення [20]. Питання, пов'язані з механізмами розвитку уражень нирок, перш за все, імунними, є актуальними та мають важливу практичну спрямованість [14, 17]. Великий інтерес викликають питання генетичної детермінованості патологій, в тому числі гломерулонефриту (ГН).

Відомо, що здатність імунної системи реагувати на антиген генетично контролюється, і важливе місце у формуванні імунної відповіді займають гени головного комплексу гістосумісності – human leucocyte antigens (HLA) [3, 6]. Імунна відповіді є однією з головних фізіологічних функцій генів HLA, які впливають на її регуляцію, а також процесів апоптозу. Пошук генетичних основ схильності до захворювань дозволив визначити певні механізми зв'язку ряду HLA з деякими захворюваннями, що сприяло розробці нових методів їх профілактики та лікування.

Механізми зв'язку між системою HLA і різноманітними нирковими ураженнями вивчались при багатьох патологічних станах, в першу чергу імунно-запальної природи. Дослідники підтвердили безпосередньо регулюючий вплив антигенів системи HLA на перебіг імунної відповіді при ГН, а також виявили, наприклад, достовірно більшу поширеність антигенів HLA-A19, B8, B14, B41 у хворих на ХГН [12], що частково узгоджується і з нашими результатами. Показано, що розвиток термінальної стадії хронічної хвороби нирок (ХХН) в різні строки від початку захворювання асоціюється з різними алелями HLA [7].

Головним питанням імуногенетики залишається проблема реалізації ефекту генів імунної відповіді. Відомо, що імуногенетична діагностика дозволяє виявити індивідів з високим ступенем ризику розвитку симптомів об'єктивного характеру. Незважаючи на те, що досягнення останніх років у галузі генетики імунної відповіді знайшли відображення на практиці, дослідження цього питання знаходяться у фазі розвитку. Прикладом того є "феноменологічний" напрямок імуногенетики, позначений як "якість" імунної відповіді. Він визначає та конкретизує вклад до кінцевого ефекту імунної відповіді активності різних компонентів імунного статусу людини, що знаходиться під асоційованим з HLA-генетичним контролем. І саме тому питання, добре вивчене в рамках концепції про генетичний контроль сили імунної відповіді і важливості в ньому поліморфізму генів головного комплексу гістосумісності, знову виникло при дослідженні генів, які кодують структуру цитокінів і їх антагоністів, а також їх рецепторних молекул, асоційованих з клітинною мембраною.

На сьогодні, на генетично-молекулярному рівні, визначено новий рівень контролю варіабельності функціонування імунної системи, а саме антиген-неспецифічної регуляції імунної відповіді. Показано, що у формуванні імунної відповіді окрім генів HLA важливе місце займають поліморфні гени цитокінів, гени їх рецепторів та антагоністів; великі кластери генів цитокінів розміщені на 5 та 6 хромосомах людини [6, 10].

Одним із перших досліджень, які присвячені вивченю алельних варіантів генів цитокінів людини, були роботи про поліморфізм генів фактору некрозу пухлин альфа (TNF-α) [6]. Інтерес пояснюється локалізацією його генів в кластері генів MHC, алельний поліморфізм яких досконало вивчений. Показане нерівноважне зчеплення між алелями генів головного комплексу гістосумісності і алелями гену TNF-α, який розташований в серединні кластеру генів III класу MHC між HLA-B і HLA-DR генами. Дослідники показали асоціацію гену TNF-α з різними запальними і інфекційними станами людини, які проявляються тільки дякуючи нерівноважному зчепленню з алелями генів HLA

системи. Вказується на те, що асоціація алельних варіантів імунорегуляторних генів відображає їх зчеплення з генами HLA, що може бути корисним для об'єктивного вивчення визначення ролі генів цього локусу в можливому генетичному походженні великого числа захворювань людини і зокрема тяжкість запальних проявів при деяких імуноопосередкованих захворюваннях [6, 16].

Виявлено різноспрямоване реагування імунної системи як адаптивне, так і імунопатологічне (аутоімунне, гіперреактивне та імунодепресивне). Встановлені позитивні асоціативні зв'язки антигенів HLA I класу (HLA B14, HLA B8 і HLA B35) і генів HLA II класу (HLA DQA1*0103, HLA DRB1*03 і HLA DRB1*11) з гіперреактивним і аутоімунним типом імунної відповіді [8].

В останні роки отримані дані, що доводять існування в генофонді європеоїдної раси позитивних та негативних асоціацій HLA- алелей та гаплотипів (наприклад, HLA-A1B8DR3) з кількістю та функціональною активністю CD4+, CD8+, ПК-клітин і макрофагів [1]. Розуміння під таким кутом зору взаємозв'язку між HLA-фенотипом суб'єкта і схильністю до синтезу імунокомпетентними клітинами цитокінів має не тільки теоретичне значення, але може бути практично доцільним, оскільки, на думку деяких авторів, є підставою для прогнозу перебігу клінічного процесу та призначення терапевтичних препаратів [6]. Висловлено припущення, що за імунологічними показниками, які характеризують тип імунної відповіді (високий–низький), можна прогнозувати характер клінічного процесу та його перебіг, а також планувати тактику лікування [6].

Таким чином, на цей час є багато повідомлень про зв'язок захворювань людини з алелями HLA-генів, а також з алельними варіантами генів цитокінів [6, 10, 11]. Проте, про реалізацію такого зв'язку у хворих на ГН, НС даних практично немає, але це важливо для прогнозування перебігу захворювання і вибору адекватної терапії.

Важливу роль в запальних та імунозапальних захворюваннях, в тому числі нирок, грають прозапальні цитокіни, що продукуються, головним чином, моноцитами/макрофагами (TNF-α, IL-18, MCP-1). Так, головним джерелом TNF-α є клітини моноцитарно-макрофагального ряду, ендотелію та гладенькі клітини, а також резидентні клітини деяких органів, в нирках цими клітинами є гломерулярні мезангіальні клітини і епітеліальні клітини канальців [18].

IL-18 - плейотропний, прозапальний цитокін, що продукується в основному макрофагами, а також Т- і В-лімфоцитами, дендритними клітинами, остеобластами, купферовими клітинами печінки, епітеліальними і ендотеліальними клітинами і стимулює продукцію IFN-γ, IL-1, -2, -17, молекул адгезії імунокомпетентними клітинами, збільшує проліферативну активність Т-лімфоцитів, підвищує активність НК-клітин [9]. Ці ефекти IL-18 дозволяють розглядати його як один із ключових факторів протиінфекційного захисту організму, і в деяких випадках він може виступати в якості патогенетичного фактора в формуванні захворювань, які супроводжуються гострим та хронічним запаленням, в тому числі нирок.

Одна з головних ролей у процесі запалення належить моноцитарному хемотаксичному протеїну-1 (MCP-1), який забезпечує накопичення моноцитів/макрофагів, лімфоцитів у вогнищі запалення, активацію ендотеліальних та гладом'язевих клітини судин, регуляцію основних етапів гострого і хронічного запалення в нирці, накопичення екстрацелюлярного матриксу, що є причиною розвитку тубулоінтерстиціального фіброзу і прогресування хронічної хвороби нирок (ХХН) [15]. Профіброгенна дія MCP-1 забезпечується шляхом активації синтезу макрофагами TGF-β, в результаті цього відбувається трансформація фібробластів у міофібробласти, які здатні продукувати велику кількість компонентів екстрацелюлярного матриксу [13]. Японські дослідники [19] показали підвищення екскреції MCP-1 з сечею хворих на різні форми ГН, що корелювало зі ступенем активності тубулоінтерстиціального ушкодження і фіброзу. За даними наших попередніх досліджень хворих на ХГН, НС, існує кореляційний зв'язок між рівнями в сироватці крові MCP-1 і TGF-β, (Tau=-0,462, p=0,03) [4].

МЕТА роботи – дослідити асоціативні зв'язки між особливостями HLA в фенотипі хворих на ГН з нефротичним синдромом (НС) та продукцією прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-18, MCP-1) з метою визначення додаткових прогностичних маркерів його перебігу.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ. Вивчали розподіл HLA-антигенів у 264 хворих на ХХН I-II стадії: ГН, НС з підтвердженим морфологічним діагнозом та 350 здорових донорів. Досліджували показники сироваткових рівнів MCP-1 у 39, IL-18 – 40 та TNF-α - 96 хворих.

HLA визначали за допомогою стандартного мікролімфоцитотоксичного тесту на планшетах Терасакі з застосуванням спеціальної панелі анти-HLA сироваток (20 антигенів локусу А, 31 – В і 9 – DR). Лімфоцити, що підлягали типуванню, виділяли з гепаринізованої периферичної крові шляхом центрифугування у градієнті щільності фіколверографіна. Групу контролю склали 350 здорових донорів з м. Києва.

Достовірність різниці у частоті визначення HLA-антигенів, що порівнювалися, оцінювали за допомогою критерію хі-квадрат для таблиць 2х2. У випадках, коли один з показників був менше 10, для оцінки достовірності різниці використовували точний метод Фішера. Величину відносного ризику захворювання (RR) визначали за коефіцієнтом:

RR = аб/вг, де а - кількість хворих, позитивних за даним антигеном, б – кількість осіб у контролі, негативних за даним антигеном, в – кількість хворих,

негативних за даним антигеном, г – кількість осіб у контролі, позитивних за даним антигеном. При цьому значимими вважали показники RR>2,0 [2].

Етіологічну фракцію (абсолютний або атрибутивний ризик, σ) підраховували за формулою: σ= х – у/1 – у, де х – частота антигену у хворих, а у – частота у здорових. Даний показник дає змогу об"єктивно оцінити причинну роль у етіопатогенезі захворювання одного з декількох антигенів-провокаторів, для яких RR складав >2,0. Достовірним вважали показник σ більший 0,1 [2].

Рівень прозапальних (TNF-α, IL-18, MCP-1) цитокінів в сироватці крові визначали за допомогою ІФА на аналізаторі «SunRise TouchScreen», використовували тест-системи DRG (США) та „Вектор Бест" (РФ). Для аналізу особливостей їх продукції залежно від HLA-фенотипу для кожного з вивчених медіаторів групи хворих ділили на групи з найвищими його показниками (1 гр – більш ніж в 2 рази вище норми) та більш низькими (2 гр), показали розподіл антигенів в цих групах та достовірність різниці їх зустрічаємості (р) за допомогою пакета програм "SPSS for Windows. Версія 11" та "MedStat". Для статистичної обробки використовувались параметричні критерії статистики (тест Ст'юдента) або непараметричні (критерій Уілкоксона). Достовірною вважали різницю при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Наші попередні дослідження показали, що предикторами розвитку ГН, НС в дорослому віці є наявність в фенотипі А23, А24, А28; В8, В38, В41, В44; DR1, DR4, DRw52, з яких етіологічну фракцію обумовлюють А24, А28, В8, DR1, DR4, DRw52. Прогнозонегативними, що асоціюють з втратою функції нирок для дорослих хворих, можна вважати А10, А29, В41, В51, DR4 (з яких В41 та DR4 обумовлюють і відносний ризик розвитку ГН) [5].

Середній рівень TNF-α у обстежених хворих на ХГН, НС достовірно перевищував показники здорових донорів – 78,1 ± 2,5 проти 21,6 ± 1,0 (p < 0,001). Проаналізовано його рівні в крові у 96 протипованих пацієнтів, групи 1 і 2 розподілені наступним чином – до 1 гр увійшло 72, до 2 гр – 24 хворих; різниця між групами достовірна – відповідно, 88,21 [72,8,5; 102,6] проти 47 [25,5; 55] пкг/мл (p < 0,001).

Аналіз асоціативних зв»язків між особливостями антигенами гістосумісності та високою продукцією TNF-α виявив, що в групі хворих з найбільш високими рівнями цього прозапального цитокіну достовірно вище наявність в фенотипі антигенів А10, 23, 28, В14 і 44 (табл. 1), і всі вони (за винятком А10 і В14) обумовлюють відносний ризик захворювання, а А10 є предиктором ХНН. Антиген А11 демонструє тенденцію до більш високого рівню в 1 гр порівняно з усіма пацієнтами (p = 0,067) та достовірну різницю – з 2 гр (табл. 1).

Таблиця 1

Частота антигенів (аг) локусів HLA-A і -B у хворих на ХГН, НС з найбільш високими рівнями TNF-α в крові (1 гр) в порівнянні з такою у всіх пацієнтів (264) та хворих з менш високою (2 гр) продукцією цитокіну

HLA-A	частота аг (%) у здоров. n=350	частота аг (%) у хворих n=264	RR (P 3-2)	частота аг (%) в 1 гр n=72	P 5-3	частота аг (%) в 2 гр n=24	P 7-3	P 5-7
1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1	28,0	25,7	0,89	11,1	p=0,007	25,0	p=0,873	p=0,211
A10	17,1	14,0	0,80	30,5	P=0,039	25,0	p=0,556	p=1,000
A11	16,3	21,6	1,43	33,3	p=0,067	8,3	p=0,148	p=0,020
A23	2,3	7,5	3,48 (p=0,004)	16,7	p=0,042	0	p=0,251	p=0,026
A24	6,3	13,2	2,27 (P=0,005) ^	13,9	p=0,952	12,5	p=0,834	p=0,865
A28	8,0	15,1	2,05 (P=0,009) ^	30,6	p=0,009	25,0	p=0,364	p=0,795
B14	7,14	12,5	1,86 (p=0,165)	27,8	p=0,006	16,0	P=0,795	p=0,403
B38	0,9	4,9	5,97 (p=0,004)	8,5	p=0,436	0	P=0,484	p=0,253
B44	0,3	6,8	24,32 (p<0,001)	19,4	p=0,007	8,3	p=0,889	p=0,315

Середній рівень IL-18 у хворих на ХГН, НС не відрізнявся від здорових донорів – 267 [132,6; 572,8] проти 204 [176,4; 308,3] (p > 0,05). Проаналізовано його рівні в крові 40 протипованих пацієнтів, до груп 1 і 2 увійшло по 20 осіб, різниця між ними достовірна – відповідно, 576,1 [407,5; 817,3] проти 132,6 [106; 199] пкг/мл (p < 0,001).

Асоціативні зв'язки між певними антигенами гістосумісності та високою продукцією IL-18 представлені в таблиці 2. Виявлено, що у хворих з найбільш високими його рівнями достовірно частіше, ніж у всіх хворих, наявність в фенотипі антигенів А10, А24 і В44, але останній так само часто виявлявся і в 2 гр., а групи відрізнялись за частотою А24 як антигену абсолютного ризику ГН, НС (табл. 2).

Вважаємо, що асоціативні зв'язки антигенів-провокаторів ГН, НС - А23, А28, В44 з високою продукцією прозапального TNF-α, а А24, а також А10 (пре диктор термінальної стадії ХХН) – з IL-18 можуть бути додатковими факторами ризику для хворих з імунозапальним ураженням нирок і сприяти більш тяжкому перебігу.

Середній рівень МСР-1 у 48 обстежених хворих на ХХН, ГН, НС перевищував рівень здорових донорів – 262,1 ± 22,0 проти 110,6 ± 9,7 пкг/мл (р < 0,001). Проаналізовано показники МСР-1 в крові 39 протипованих пацієнтів, групи 1 і 2 розподілені наступним чином – до 1 гр увійшло 17, до 2 гр – 22 хворих; різниця між групами достовірна – відповідно, 387,8 ± 23,1 проти 132,8 ± 15,5 пкг/мл (р < 0,001).

Частота антигену А28 в 1 гр майже в 2 рази перевищувала таку серед усіх хворих на ХГН, НС – 29,4 проти 15,5 %, але різниця статистично недостовірна (р = 0,295), так само як і при порівнянні груп 1 і 2 (р = 0,921) (табл. 3). В той же час, аналіз показав достовірне підвищення в групі з найвищим рівнем МСР-1 зустрічаємості А28 порівняно із здоровими донорами (р=0,044) (так само як і взагалі при порівнянні груп хворих на ХГН та здорових – р=0,012), а 2 гр. за цим показником не відрізнялась від норми (р=0,102). За локусом А звертає увагу більш низька частота в 1 гр антигену А2 порівняно з усіма хворими на ХГН (табл. 3), інших відмінностей між групами не було.

Таблиця 2

Частота антигенів (аг) локусів HLA-A і -B у хворих на ГН, НС з найбільш високими рівнями IL-18 в крові (1 гр) в порівнянні з такою у всіх пацієнтів (264) та хворих з менш високою (2 гр) продукцією цитокіну

HLA-A	частота аг (%) у здоров. n=350	частота аг (%) у хворих n=264	RR (P 3-2)	частота аг (%) в 1 гр n=20	P 5-3	частота аг (%) в 2 гр n=20	P 7-3	P 5-7
1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1	28,0	25,7	0,89	20	p=0,757	10	p=0,145	p=0,662
A10	17,1	14,0	0,80	30	P=0,05	10	p=0,865	p=0,234
A23	2,3	7,5	3,48 (p=0,004)	20	p=0,198	20	p=0,198	p=1,0
A24	6,3	13,3	2,27 (P=0,015) ^	50	p=0,001	0	p=0,070	<0,001
B8	13,4	28,7	2,56 (p<0,001) ^	20	p=0,597	20	p=0,597	p=1,0
B38	0,9	4,9	5,97 p=0,004	10	p=0,668	0	p=0,603	p=0,458
B44	0,3	6,8	24,32 p<0,001	25	P=0,05	30	p=0,015	p=1,0

Таблиця 3

Частота антигенів (аг) локусу HLA-A у хворих на ГН, НС з найбільш високими рівнями МСР-1 в крові (1 гр) в порівнянні з усіма пацієнтами (3) та хворими з менш високою (2 гр) продукцією цитокіну

HLA-A	частота аг (%) у здоров. n=350	частота аг (%) у хворих n=264	RR (P 3-2)	частота аг (%) в 1 гр n=17	P 5-3	частота аг (%) в 2 гр n=22	P 7-3	P 5-7
1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1	28,0	25,7	0,89	41,0	p=0,348	23,0	p=0,849	p=0,379
A2	49,4	47,7	0,94	17,6	p=0,021	27,3	p=0,092	p=0,743
A3	17,1	12,5	0,69	17,6	p=0,795	9,1	p=0,920	p=0,758
A9	20,0	11,3	0,51 (P=0,005)	17,6	p=0,757	4,5	p=0,448	p=0,429
A 10	17,1	14,0	0,80	17,6	p=0,952	18,0	p=0,826	p=0,706
A11	16,3	21,7	1,43	12,0	p=0,478	14,0	p=0,516	p=0,758
A19 (30+33)	10,0	12,7	0,84	5,9	p=0,826	14,0	p=0,944	p=0,796
A23	2,3	7,5	3,48 (P=0,009)	5,9	p=0,757	18,0	p=0,212	p=0,507
A24	6,3	13,2	2,27 (P=0,015) ^	17,6	p=0,912	23,0	p=0,419	p=0,992
A28	8,0	15,1	2,05 (P=0,009) ^	29,4	p=0,295	23,0	p=0,583	p=0,921

^ - σ>0,1

За локусом HLA-B виявлена висока частота антигену B8 в 1 гр – у 71% порівняно з 27% в 2 гр (р = 0,021), що достовірно відрізнялось як від усіх хворих (р = 0,002), так і здорових (р < 0,001) (табл.

4); різниця цих показників в 2 гр. була недостовірна – відповідно, p=0,912 та p=0,184 (табл. 4).

Співставлення хворих, у фенотипі яких присутній антиген B8 (19 хв) та ні (20 хв), показало достовірне підвищення середніх рівнів MCP-1 у хворих на ХГН з наявністю цього антигену, який обумовлює підвищений ризик захворювання (рис. 1).

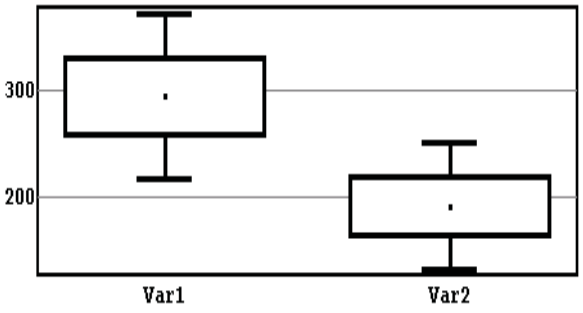

Рис. 1. Середні рівні MCP-1 в групі носіїв HLA-B8 (1) в порівнянні з іншими пацієнтами (2).

Частота B41 в 1 гр перевищувала аналогічну в 2 гр в 3 рази – відповідно, 29,4 та 9,1%, але різниця недостовірна (p=0,230) (вважаємо, за рахунок недостатньої кількості осіб в групах), але була достовірно вище в порівнянні як з усіма хворими (p=0,011) (табл. 4), так і здоровими донорами (p<0,001), тоді як для 2 гр. різниця цих показників недостовірна – відповідно, p=0,682 (табл. 4) та p=0,137.

Антиген B44 в 1 гр не виявлений, тому частота його зустрічаємості в 2 гр була більш високою (p=0,044) (табл. 4).

Таблиця 4

Частота антигенів (аг) локусу HLA-B у хворих на ГН, НС з найбільш високими рівнями MCP-1 в крові (1 гр) в порівнянні з такою у всіх пацієнтів (3) та хворих з менш високою (2 гр) продукцією цитокіну

HLA-A	частота аг (%) у здоров. n=350	частота аг (%) у хворих n=264	RR (P 3-2)	частота аг (%) в 1 гр n=17	P 5-3	частота аг (%) в 2 гр n=22	P 7-3	P 5-7
1	2	3	4	5	6	7	8	9
B8	13,4	28,7	2,56 (p<0,001) ^	71,0	p=0,002	27,0	p=0,542	p=0,021
B14	7,14	12,5	1,86 (p=0,165)	5,9	p=0,787	9,1	p=0,912	p=0,751
B38	0,9	4,9	5,97 (p=0,004)	5,9	p=0,712	4,5	p=0,682	p=0,572
B41	0,9	4,5	5,50 (p=0,007)	29	p=0,011	9,1	p=0,944	p=0,230
B44	0,3	6,8	24,32 (p<0,001	0	p=0,510	41,0	p<0,001	p=0,004

^ - σ>0,1

Виявлені асоціативні зв'язки антигенів-провокаторів ГН, НС з високою продуцією прозапального TNF-α, тому наявність у пацієнтів з HLA-A23, -A28, -B44, також -A10 (предиктора прогресування ХХН) високого рівню в крові цього цитокіну, а у осіб з A24 та A10 – ще й IL-18 є додатковими ризиками більш тяжкого перебігу захворювання.

Найбільш висока продукція прозапального хемокіну MCP-1 показана у носіїв антигенів ризику ГН, НС – відносного B41 та атрибутивного - A28, B8, а наявність в фенотипі предиктору прогресування ХХН B41 у хворих з високим рівнем MCP-1 посилює негативний прогноз для пацієнта.

ВИСНОВКИ:

1. Виявлені асоціативні зв'язки антигенів-провокаторів ГН, НС з високою продуцією прозапального TNF-α, тому наявність у пацієнтів з HLA-A23, -A28, -B44, також -A10 (предиктора прогресування ХХН) високого рівню в крові цього цитокіну, а у осіб з A24 та A10 – ще й IL-18 є додатковими ризиками більш тяжкого перебігу захворювання.
2. Найбільш висока продукція прозапального хемокіну MCP-1 показана у носіїв антигенів ризику ГН, НС – відносного B41 та атрибутивного - A28, B8, а наявність в фенотипі предиктору прогресування ХХН B41 у хворих з високим рівнем MCP-1 посилює негативний прогноз для пацієнта.
3. Отримані результати демонструють важливу роль антигенів A10, A23, A24, A28, B8, B41, B44 та прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-18, MCP-1), їх взаємозв'язку в розвитку та прогресуванні ХХН, ГН, НС, що спонукає до більш індивідуалізованої терапії хворих.

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Алексеев Л. П.* Межэтнические различия в генетическом контроле иммунного статуса человека / Л. П. Алексеев, В. В. Яздовский, Р. В. Хаитов // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. - 2000. - № 3. - С. 280-284.
2. *Зарецкая Ю. М.* Клиническая иммуногенетика / Ю. М. Зарецкая // М. : Медицина, 1983. – 103 с.

3. *Карпентер Ч.* Главный комплекс гистосовместимости / Ч. Карпентер [и др.] // Внутренние болезни / Под ред. Э. Фаучи [и др.]. – М. : Практика Мак-Гроу-Хилл, 2002. – С. 2138-2146.
4. *Колесник М. О.* Особливості показників цитокінової ланки імунітету та їх прогностичне значення у хворих на хронічний гломерулонефрит / М. О. Колесник, В. Є. Дріянська, М. Б. Величко, Г. М. Драннік, В. С. Савченко // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – № 3 (39). – С. 28-35.
5. *Колесник М. О.* HLA-фенотип у хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом / М. О. Колесник [та ін.] // Журнал НАМН України. – 2014. - Т. 20, № 2. — С. 206-211.
6. *Коненков В. И.* Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов / В. И. Коненков, М. В. Смольникова // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 1-2. – С. 11-28.
7. *Короткова П. Ю.* Иммуногенетический анализ вариантов клинического течения и прогноза хронического гломерулонефрита в Западной Сибири / П. Ю. Короткова, М. Ф. Валентик, Е. А. Мовчан, В. С. Максимов [и др.] // Терапевтический архив. – 2006. – № 8. – С. 73-79.
8. *Лутай М. І.* Імунопатологічні реакції та імуногенетичні чинники при ішемічній хворобі серця / М. І. Лутай, Т. І. Гавриленко, Ж. М. Мінченко [и др.] // Журнал АМН України. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 245-261.
9. *Лындин А. А.* Клиническое значение определения интерлейкина-8 и интерлейкина-18 в сыворотке крови и моче у больных с нефротическим синдромом / А. А. Лындин, В. В. Длин, В. В. Малиновская [и др.] // Клиническая нефрология. – 2011. - № 4. – С. 31-35.
10. *Сенников С. В.* Роль альтернативного сплайсинга генов цитокинов в формировании полиморфной структуры цитокиновой сети / С. В. Сенников, А. Н. Силков, В. А. Козлов // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 3. – С. 389-400.
11. *Смирнов А. В.* Концепция факторов риска в нефрологии: вопросы профилактики и лечения хронической болезни почек / А. В. Смирнов, И. Г. Каюков, В. А. Добронравов // Нефрология. – 2008. – Т. 12, № 1. – С. 7 – 13.
12. *Шестаков А. Е.* Исследование ассоциации ряда генов-кандидатов с хроническим гломерулонефритом: автореф. дис. ... к. б. н.: 03. 02. 07. – Генетика / А. Е. Шестаков ; Гос. НИИ генетики и селекции пром. микроорганизмов. – М., 2006. – 28 с.
13. *Щёкотова А. П.* Моноцитарный хемотаттрактантный протеин-1, фагоцитоз, маркеры эндотелиальной дисфункции и фиброза при хроническом гепатите и циррозе печени / А. П. Щёкотова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 5. – С. 17-23.
14. *Щербань Т. Д.* Зміни активності цитокінів та міжклітинної адгезії нейтрофільних гранулоцитів у хворих з прогресуючими нефропатіями в динаміці лікування / Т. Д. Щербань, І. І. Топчій // Український терапевтичний журнал. – 2003. – № 3. – С. 50-52.
15. *Heymann F.* Monocytes and macrophages as cellular targets in liver fibrosis / F. Heymann, C. Trautwein, F. Tacke // Inflamm Allergy Drug Targets. – 2009. – Sep. 8 (4). – P. 307-18.
16. *James M. T.* Early recognition and prevetntion of CKD / M. T. James, B. R. Hemmelgarn, M. Tonelli // Lancet. – 2010. – V. 379. – P. 1296-1309.
17. *Kurts C.* Role of T cells and dendritic cells in glomerular immunopathology / C. Kurts, F. Heymann, V. Lukacs-Korneh [et al.] // Semin. Immunopathol. - 2007. - V. 29. - P. 317-335.
18. *Saulo K.* The role of vasoactive compounds, growth factors and cytokines in the progression of renal disease / K. Saulo, M. Jeremiah J // Kidney Int. - 2000. - Suppl. 75. - P.7-14.
19. *Wada T.* Monitoring urinary levels of Monocyte chemotactic and activating factor reflects disease activity of lupus nephritis / T. Wada // Kidney Int. - 1996. - 49. – P. 761-767.
20. *Wouters O. J.* Early chronic kidney disease diagnosis, management and models of care / O. J. Wouters, D. J. O'Donoghue, J. Ritchie [et al.] // Nat. Rev. Nephrol. – 2015. – 11 (8). – P. 491-502.

Надійшла до редакції 22.02.2017
Прийнята до друку 03.03.2017