



УКРАЇНА

(19) UA (11) 65082 (13) U

(51) МПК

G01N 33/53 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ІМУНОТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ З НЕФРОТИЧНИМ СИНДРОМОМ

1

2

(21) u201105549

(22) 04.05.2011

(24) 25.11.2011

(46) 25.11.2011, Бюл.№ 22, 2011 р.

(72) МАЛАШЕВСЬКА НІНА МИХАЙЛІВНА, ДРІЯНСЬКА ВІКТОРІЯ ЄВГЕНІВНА, ВЕЛИЧКО МАРИНА БОРИСІВНА, ПЕТРИНА ОЛЕНА ПЕТРІВНА, ЛІКСУНОВА ЛЮДМИЛА ОЛЕКСАНДРІВНА, САВЧЕНКО ВІКТОРІЯ ЄВГЕНІВНА

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕФРОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ"

(57) Спосіб оцінки ефективності імунотерапії хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом, який полягає у визначенні імунологічних показників крові, який відрізняється тим, що додатково визначають сироватковий рівень ФНП- α , ТФР- β та коефіцієнт ФНП- α /ТФР- β , і зниження цих показників в динаміці лікування вважають додатковими прогнозопозитивними маркерами ефективності лікування.

Спосіб оцінки ефективності імунотерапії хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом належить до медицини, а саме до нефрології. Він може бути використаний для оцінки ефективності лікування та прогнозу подальшого перебігу хронічної хвороби нирок I-II ст., хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом.

Імунне запалення в нирці являє собою первинну ланку у розвитку тубуло-інтерстиційних змін, що знаменують подальший фіброз та склероз ниркової тканини. Процес фіброзування є морфологічною основою розвитку ниркової недостатності. Виходячи з цього, прогресування хронічного гломерулонефриту є наслідком неспинного імунного запалення, що врешті спричиняє фіброзування ниркової тканини та розвиток незворотніх змін в нирці. Це обумовлено порушенням імунного гомеостазу, що проявляється дисбалансом в системі клітинного та гуморального імунітету. Тому визначення імунних механізмів уражень нирок, в тому числі про- і протизапальних цитокінів, та розробка методів диференційованої імунотерапії цих порушень є одним з перспективних напрямків сучасної нефрології.

Сучасна імунотерапія хронічного гломерулонефриту направлена на корекцію основних імунних порушень, що спричинили патологічний процес і відіграють ключову роль у подальшому порушенні в системі гомеостазу організму хворого. Дослідниками проводились численні спроби ви-

явити клініко-лабораторні критерії прогнозування відповіді на терапію, але отримані результати не завжди задовольняють клініцистів.

Відомий спосіб прогнозування перебігу хронічного гломерулонефриту (1), який включає визначення імунних показників крові на прикладі прозапального IL-1 β та протизапального IL-10. Але отримані останнім часом дані щодо IL-10, в тому числі і нами, не дозволяють характеризувати його роль як позитивну внаслідок протизапальних якостей. Так, при аналізі цього цитокіну, пацієнти з торпідним перебігом хвороби під впливом терапії демонстрували більш високий фоновий рівень IL-10 в крові, а в процесі лікування не отримано достовірної асоціації з перебігом захворювання.

Деякими іншими дослідниками показано, що підвищення секреції IL-10 підвищує число IgA-продукуючих В-лімфоцитів кісткового мозку, що є негативним фактором для нирок [3]. За даними Chadban S.J. [4], лікування хвороби нирок в експерименті за допомогою IL-10 призвело до негативних наслідків через його стимулюючий ефект на гуморальну відповідь, проліферацію макрофагів та експресію їх Fc-рецепторів.

Відомий спосіб оцінки ефективності лікування та прогнозування перебігу хронічного гломерулонефриту (2), взятий нами за прототип, де як фактор оцінки прогнозу хронічного гломерулонефриту використовують показники клітинного імунітету

(19) UA (11) 65082 (13) U

CD54, CD95 та коефіцієнт співвідношення γ -інтерферону до IL-10 (2).

Недоліком даного способу є те, що також використовується рівень такого неоднозначного лімфокіну як ІЛ-10, а також спосіб ускладнюється використанням не тільки імуноферментного, але й імунофлуоресцентного методу для визначення проапоптотичних маркерів (CD95) та молекул адгезії (CD54), що робить спосіб більш тривалим та коштовним.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб оцінки ефективності лікування для прогнозу перебігу хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом та збереженою функцією нирок шляхом дослідження рівнів в крові прозапального фактору некрозу пухлин - ФНП- α , протизапального (і просклеротичного) трансформуючого фактору росту - ТФР- β , а також їх співвідношення - ФНП- α /ТФР- β , як важливих про-/протизапальних медіаторів імунопатогенезу.

Відомо, що прозапальний цитокін ФНП- α відіграє суттєву роль у регуляції проліферації Т- та В-клітин, цитотоксичних лімфоцитів, фагоцитозу, індукує синтез ІЛ-1, ІЛ-6, адгезивних молекул, впливає на механізми апоптозу. Важлива роль у прогресуванні та виникненні гломерулярного пошкодження належить ендогенним антизапальним медіаторам, до яких відноситься ТФР- β , який стимулює постійний аномальний ріст фібробластів та збільшення їх активності, індукує утворення екстрацелюлярних матриксних протеїнів, що спричиняє просклеротичний ефект.

Визначення цих факторів дає більш повне уявлення про активність перебігу імунного запалення та пошкоджуючої дії у хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом, що спонукає до правильного вибору методу імуносупресивної терапії.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб оцінки ефективності імунотерапії хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом, що

включає дослідження імунних показників крові, згідно з корисною моделлю, як фактор оцінки ефективності лікування та прогнозу хронічного гломерулонефриту використовують динаміку рівнів в сироватці крові ФНП- α і ТФР- β та коефіцієнту їх співвідношення (ФНП- α /ТФР- β як важливих про-/протизапальних медіаторів імунопатогенезу.

Запропонований спосіб виконують наступним чином: хворому на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом та збереженою функцією нирок натщесерце проводять забір крові з літрової вени та імуноферментним методом в сироватці визначають за допомогою відповідних моноклональних антитіл рівень ФНП- α і ТФР- β та коефіцієнт ФНП- α /ТФР- β .

Апробацію запропонованого способу проведено у клініці ДУ "Інститут нефрології НАМІ України" на 47 хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом та збереженою функцією нирок. За наслідками лікування пацієнтів розподілено на групи: група 1 з повною або частковою клініко-лабораторною ремісією - 22 хворих (зникнення набряків, зниження рівня протеїнурії <3,5 г/добу, нормалізація або незначні зміни протеїнограми) та група 2 з відсутністю ефекту та прогресуванням гломерулонефриту, тобто, торпідним перебігом - 25 хворих (рівень протеїнурії \geq 3,5 г/добу, гіпопротеїнемія, зниження функції нирок). Результати оцінюють через 1,5 міс. від її початку.

Проведений аналіз змін рівнів цитокінів до та після лікування у хворих залежно від перебігу гломерулонефриту. В групі з частковою клініко-лабораторною ремісією (група 1) відмічено достовірне зниження їх середніх рівнів в динаміці терапії; зміни цих показників в групі з торпідним перебігом (група 2) були недостовірними (таблиця 1)

Таблиця 1

Показники рівнів цитокінів крові ФНП- α і ТФР- β , а також їх співвідношення у хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом з частковою клініко-лабораторною ремісією (група 1) та торпідним перебігом (група 2)

Показники цитокінів крові	Групи хворих					
	з частковою клініко-лабораторною ремісією (n=22)		статистичний показник	з торпідним перебігом (n=25)		статистичний показник
	до лікування	після лікування		до лікування	після лікування	
ФНП- α (пг/мл)	63,0 \pm 5,2	46,5 \pm 4,7	0,022*	53,9 \pm 5,6	49,8 \pm 6,1	0,927
ТФР- β (пг/мл)	94,9 \pm 4,9	80,9 \pm 3,5	0,039*	100,1 \pm 5,6	88,7 \pm 3,6	0,096
ФНП- α /ТФР- β (%)	0,78 \pm 0,09	0,68 \pm 0,08	0,019*	0,58 \pm 0,13	0,68 \pm 0,15	0,583

* різниця статистично достовірна

Якщо в групі з частковою клініко-лабораторною ремісією в динаміці лікування ФНП- α не змінюється в 9 %, ТФР- β - в 18 % випадків, то коефіцієнт ФНП- α /ТФР- β не змінюється у 4,5 %, а знижується, відповідно, у 95,5 % пацієнтів, що до-

зволяє вважати це співвідношення найбільш інформативним для прогнозування позитивної реакції на проведену терапію.

Наводимо приклади застосування запропонованого способу.

Приклад 1

Хворий К-к., і.х. №12, 46 років. Діагноз: Хронічна хвороба нирок I ст.: хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром. Скарги на виражену загальну слабкість, набряки верхніх та нижніх кінцівок, обличчя, підвищення АТ. Хворіє протягом 8 місяців. Лікування проводили з включенням преднізолону (60 мг), уд. доз циклофосфану (№9), отримано часткову клініко-лабораторну ремісію, білок сечі знизився від 4,86 до 0,70. Рівень цитокінів та їх співвідношення до та після курсу лікування представлені в таблиці 2.

Приклад 2

Хвора Ш-й., і.х. №6012, 29 років. Діагноз: Хронічна хвороба нирок I ст.: хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром, мезангіопроліферативний гломерулонефрит. Хворіє 3 роки, коли при 2-й вагітності вперше відмічено набряки, а через рік - протеїнурія на рівні нефротичного синдрому, після лікування преднізолоном - позитивна динаміка, білок в сечі не виявлено, досягнута повна клініко-лабораторна ремісія. Рівень цитокінів та

їх співвідношення до та після курсу лікування представлені в таблиці 2.

Приклад 3

Хворий К-й, і.х. №81, 32 роки. Хронічна хвороба нирок I ст.: хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром, фокально-сегментарний гломерулосклероз, тип NOS. Нефротичний синдром з набряками, артеріальною гіпертензією протягом 2 років. Після преднізолону + уд. доз циклофосфану, селсепту, сандимуну позитивного перебігу не досягнуто, білок сечі 12,2. Рівень цитокінів та їх співвідношення до та після курсу лікування представлені в таблиці 2.

Приклад 4

Хворий М-к., і.х. №111/3, 29 років. Діагноз: Хронічна хвороба нирок I ст.: хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром. Нефротичний синдром з набряками, підвищеним артеріальним тиском протягом останніх 3 років. Після уд. доз циклофосфану (№6), селсепту позитивного перебігу не досягнуто, білок сечі 4,98. Рівень цитокінів та їх співвідношення до та після курсу лікування представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Рівні ФНП- α і ТФР- β , а також їх співвідношення у хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом з повною або частковою клініко-лабораторною ремісією (приклад 1 і 2) та торпідним перебігом (приклад 3 і 4)

Приклади	Хворі	ФНП- α (пг/мл)		ТФР- β (пг/мл)		ФНП- α /ТФР- β (%)	
		до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
1	К-к	108,7	77,0	115,5	88,8	0,94	0,87
2	Ш-й	76,0	63,1	85,4	74,7	0,89	0,84
3	К-й	22,4	21,5	117,9	95,4	0,17	0,22
4	М-к	60,0	58,2	71,9	71,8	0,83	0,82

Як свідчать наведені дані, в динаміці лікування хворих, приклади 1 і 2 з позитивною динамікою та розвитком повної або часткової клініко-лабораторної ремісії, знижуються рівні досліджених цитокінів та їх співвідношення, тоді як у хворих, приклади 3 та 4 з відсутністю реакції на проводиму терапію рівні показників не змінюються, або відбувається зниження лише ТФР- β , що тільки погіршує коефіцієнт ФНП- α /ТФР- β в бік підвищення від 0,17 до 0,22 (приклад 3).

Таким чином, використання запропонованого способу дозволить при виявленому негативному прогнозі вчасно змінити, або посилити імуносупресивну терапію, уникнути ускладнень довготривалої та неефективної імуносупресії, прискорити час настання ремісії у хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом та, як наслідок, значно подовжити термін до настання хронічної ниркової недостатності. У 80 % випадків оцінка

стану досліджуваних показників підтверджувала прогноз перебігу хронічного гломерулонефриту.

Джерела інформації:

1. Власенко М.А. Состояние цитокиновой системы у больных хроническим гломерулонефритом / М.А. Власенко, Н.В. Ромасько // Український журнал нефрології та діалізу. - 2005. - №3. - С. 8-11.
2. Пат. №22358, UA, МПК(2006.01) G01N 33/53. Спосіб оцінки прогнозу перебігу хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом / Зуб Л.О., Дріянська В.Є., Дудар І.О.; ІНАМНУ; №u200611238, 25.10.2006; Опуб. 25.04.2007, Бюл. №5. - 3 с.
3. De Fijter I.W. Increased IL-10 production by stimulated whole blood cultures in primary IgA nephropathy / I.W. De Fijter [et al.] // Clin.Exp.Immunol. - 1998. - №11. - P. 429-434.
4. Chadban S.J. Interleukin-10: Is it good or bad for the kidney? // S.J. Chadban, D.J. Nikolic-Paterson // Nephrology. - 1998. - 4 (5-6). - P. 331-338.