

© Кравчун П.Г., Граматюк А.Н.

УДК 616.12-008.46+616.61-036.12-074:547.96:612.

**Кравчун П.Г., Граматюк А.Н.**

## **ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА И ИНТЕРЛЕЙКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ АГ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ У НИХ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК**

**Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)**

**gramatyuk@ukr.net**

Работа является фрагментом научно-исследовательской работы кафедры внутренней медицины № 2 и клинической иммунологии и аллергологии Харьковского национального медицинского университета МЗ Украины «Профибротические иммуновоспалительные факторы и анемический синдром как маркеры прогноза у больных с хронической сердечной недостаточностью при ишемической болезни сердца и сахарным диабетом в рамках кардиоренального континуума», № гос. регистрации 0111U003389; 2014 - 2016).

**Вступление.** Одной из причин высокой заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) являются нерешенные проблемы первичной и вторичной профилактики, то есть несвоевременное выявление и коррекция факторов риска, поражений органов-мишеней, ассоциированных нарушений. То же можно отнести и к хронической болезни почек (ХБП), которая нередко не только осложняет сердечно-сосудистую (СС) патологию, но и в свою очередь повышает риск развития СС катастроф [1-3].

Существуют разноречивые мнения о частоте почечного поражения при артериальной гипертонии. Так, Шустов С.Б. и соавт. (1997) утверждают, что смертности больных артериальной гипертонией от почечной недостаточности практически не наблюдается. Однако анализ современных регистров больных на заместительной почечной терапии (гемодиализ и перитонеальный диализ) показывает, что среди причин развития терминальной хронической почечной недостаточности артериальная гипертония занимает второе место после сахарного диабета, опережая первичные болезни почек [4].

Необходим поиск доступных для анализа факторов, способствующих формированию и прогрессированию гипертонической нефропатии. Обнаружение у больного предикторов развития и прогрессирования почечного поражения позволит эффективно осуществлять первичную и вторичную нефропротекцию, замедляя тем самым развитие и прогрессирование нефросклероза.

Апоптотический каскад задействован в патогенез АГ, результатом чего является формирование кардиальной и эндотелиальной дисфункции. Апоптотическая гибель клеток контролируется взаимодействием проапоптотических и противоапоптотических факторов. Одними из экзогенных факторов, которые запускают апоптоз, являются «Рецепторы смерти» семейства провоспалительного цитокина - фактора некроза

опухолей- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), в число которых входят ФНО-Р1, Fas (Fibloblast associated), DR3 (Death Receptor 3), DR4, DR5, DR6 и другие. В случае Fas-зависимого апоптоза, рецептор Fas (FasR (CD95, APO-1)) индуцирует апоптотический сигнал путем связывания со своим лигандом - Fas лигандом (FasL (CD95L)), так называемая «FasR / FasL «система» [5,6].

В связи с вышеизложенным, **целью** нашего клинического **исследования** было изучение активности маркеров апоптоза FasL (CD95L) и ФНО- $\alpha$  у пациентов АГ в зависимости от наличия у них сопутствующей ХБП.

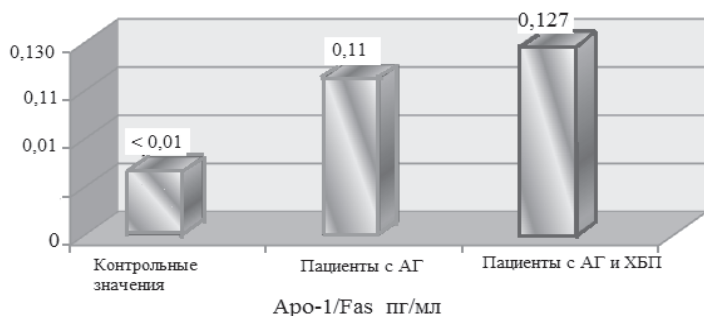
**Объект и методы исследования.** В исследование было включено 120 больных (78 женщин и 42 мужчины) все обследованные были разделены на 2 группы: в 1-ю группу вошли 67 пациентов с артериальной гипертонией, во 2-ю — 53 больных с артериальной гипертонией и хронической болезнью почек. Хроническая болезнь почек (ХБП) диагностировали по современным критериям ХБП (K/DOQI, 2006). Артериальная гипертония 1–3-й степени на основании критериев ВОЗ (1999) была определена у всех пациентов, ожирение I–III стадии по критериям Международной группы по ожирению IOTF (1999) — у 16 пациентов (17,2 %).

Распределение пациентов по диагнозам ХБП: хронический пиелонефрит 67%, хронический гломерулонефрит 11%, диабетическая нефропатия 18% и прочее 5%.

У всех больных определяли содержание в сыворотке крови липидов уровень общего холестерина, триглицеридов и холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) измеряли на биохимическом анализаторе А15, Италия. Маркер апоптоза Apo-1/Fas в плазме крови определяли иммуноферментным методом, используя тест-системы фирмы Sigma, США. ФНО- $\alpha$  изучали при помощи набора фирмы «Вектор-Бест» с инструкцией производителя.

Статистическая обработка полученных данных проведена методами непараметрической статистики с использованием пакета статистических программ Statistica 8.0 for Windows (Statsoft, USA).

**Результаты исследований и их обсуждение.** Патогенез как АГ и ХБП достаточно сложный, мультифакториальный и не до конца понятен. Значимое превышение нормальных значений Apo-1/Fas и ФНО- $\alpha$  установлено у пациентов на всех стадиях ХБП (**рис.**). Уровень ФНО- $\alpha$  существенно превышал



**Рис. Урівень Аро-1/Fas у пацієнтів з АГ в залежності від наявності ХБП і у осіб контрольної групи.**

фізіологічний тільки починаючи з ХБП 3-й ст., однак мав тенденцію до підвищення і на 2-й ст. ХБП. Отримані результати свідчать про те, що на всіх стадіях ХБП надмірно активований як Аро-1/Fas так і ФНО- $\alpha$ . При проведенні дисперсійного аналізу встановлено сильна кореляція ( $r=0,812$ ) між вираженістю протеїнурії і сукупністю показувачів.

Зв'язок маркерів активності апоптозу і одного з основних факторів прогресування ХБП

**Таблиця**

### Клініко-біохімічні показувачі у обстежуваних пацієнтів

Показувач	Аро-1/Fas, пг/мл	ФНО- $\alpha$ , пг/мл
Пацієнти з АГ+ХБП СКФ > 90 мл/хв (n=19)	$0,134 \pm 0,012^*$	$42,5 \pm 3,9^*$
Пацієнти з АГ+ХБП СКФ 89–60 мл/хв (n=21)	$0,125 \pm 0,011^*$	$47,1 \pm 3,5^*$
Пацієнти з АГ+ХБП СКФ < 60 мл/хв (n=13)	$0,120 \pm 0,01^*$	$56,2 \pm 4,1^*$
Пацієнти з АГ (n=67)	$0,11 \pm 0,003$	$34,5 \pm 2,7$

**Примітка:** \* —  $< 0,05$  порівняно з групою з АГ; СКФ — швидкість клубочкової фільтрації.

також свідчить про залученні мітохондріального механізму в патогенез нефросклерозу. Мітохондріальні і імунні процеси грають важливу роль не тільки в патогенез склеротических змін, але і беруть участь в формуванні різних форм патології нирок. Зниженню механізмів апоптозу відводять важливу роль і при різних нефропатіях, таких як гломерулонефрити, полікістоз нирок, діабетическа нефропатія [11, 12]. Значесні зміни рівня Аро-1/Fas і ФНО- $\alpha$  відзначалися залежно від швидкості клубочкової фільтрації (табл.).

**Висновки.** Аналіз результатів показав, що у пацієнтів з артеріальною гіпертензією і різною хроніческою патологією нирок без зниження СКФ рівень маркера апоптозу Аро-1/Fas і інтерлейкіна ФНО- $\alpha$  значесно відрізняється від показувачів пацієнтів з АГ без супутньої ХБП. У пацієнтів з активною стадією нефротического синдрому, так і супроводжуваними помірною протеїнурією, рівень Аро-1/Fas і ФНО- $\alpha$  був достовірно вище, ніж у пацієнтів з мінімальною протеїнурією або при її відсутності (частична/повна ремісія нефротического синдрому). Отримані дані дозволяють передбачити, що при протеїнуричному апоптозі ведучим є саме Fas-опосередований його шлях і супутні імунні порушення.

Рівень сигнальних молекул апоптозу - FasL (CD95L) в умовах асоціації артеріальної гіпертензії і ХБП ( $0,127 \pm 0,05$  пг/мл) достовірно перевищує рівень пацієнтів з артеріальною без діагнозу ХБП ( $0,11 \pm 0,003$  пг/мл;  $p < 0,05$ ) і в групі пацієнтів з наявністю ХБП залежить від швидкості клубочкової фільтрації.

**Перспективи дальнєших досліджень.** Вивчення ролі в патогенезі захворювання маркерів апоптозу Аро-1/Fas і аннексина А5 в крові хворих артеріальною гіпертензією з хроніческою патологією нирок.

## Література

1. Агєєв Ф.Т. Розповсюдженість артеріальної гіпертензії в Європейській частині РФ / Агєєв Ф.Т. // Кардіологія. - 2004. - № 11. - С. 50-53.
2. Кобалава Ж.Д. Значення різних методів оцінки функціонального стану нирок для стратифікації серцево-судинного ризику / Ж.Д. Кобалава, С.В. Виллевалде, В.С. Моїсєєв // Кардіологія. - 2007. - № 12. - С. 74-80.
3. Кузьмін О. Б. Хроніческою хвороба нирок і стану серцево-судинної системи / О. Б. Кузьмін // Нефрологія. - 2007. - Т. 11, № 1. - С. 28-37.
4. Кузьмін О.Б. Легка дисфункція нирок у хворих з есенціальною гіпертензією: клініческі прояви і лікарське лікування / О.Б. Кузьмін, М.О. Пугачєва, С. В. Чуб // Нефрологія. - 2004. - Т. 8, № 3. - С. 15-21.
5. Мікроальбумінурія інтегральний маркер кардіоренальних взаємозв'язків при артеріальній гіпертензії / Н. А. Мухін, С. В. Моїсєєв, В. В. Фомін [і др.] // Consilium Medicum. - 2007. - № 5. - С. 13-19.
6. Мухін Н.А. Зниження швидкості клубочкової фільтрації — загальнопопуляційний маркер несприятливого прогнозу / Н.А. Мухін // Терапевт. архів. - 2007. - № 6. - С. 5-10.
7. Chronic kidney disease as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality: A pooled analysis of community-based studies / D.E. Weiner, H. Tighiouart, M.G. Amin [et al.] // J. Am Soc Nephrol. - 2004. - Vol. 15, № 5. - P. 1307-1315.
8. Clinical significance of Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) expression in primary rectal cancer / X. F. Zhang, Y. Zhang, X. H. Zhang [et al.] // BMC Cancer. - 2009. - Vol. 6, № 9. - P. 134.
9. Devarajan P. Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury / P. Devarajan // Expert. Opin. Med. Diag. - 2008. - Vol. 2, № 4. - P. 387-398.
10. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice / G. De Backer, E. Ambrosioni, K. Borch-Johnsen [et al.] // Eur. Heart J. - 2003. - Vol. 24. - P. 1601-1610.

УДК 616.12-008.46 + 616.61-036.12-074: 547.96: 612.

### ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ МАРКЕРІВ АПОПТОЗУ І ІНТЕРЛЕЙКІНІВ У ПАЦІЄНТІВ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ЗАЛЕЖНО ВІД НАЯВНОСТІ У НИХ СУПУТНЬОЮ ХРОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ НИРОК

Кравчун П.Г., Граматюк А.Н.

**Резюме.** В результаті проведеного дослідження встановлено, що у пацієнтів з артеріальною гіпертензією (АГ) і різною хронічною патологією нирок (ХПН) рівень маркера апоптозу Apo-1 / Fas та інтерлейкіну ФНО- $\alpha$  достовірно ( $p \leq 0,05$ ) вищий від показників пацієнтів з АГ без супутньої ХПН. Отримані дані дозволяють припустити, що при протеїніндукованому апоптозі провідним є саме Fas-опосередкований його шлях і супутні імунні порушення. Рівень сигнальних молекул апоптозу - FasL (CD95L) в умовах асоціації артеріальної гіпертензії та ХХН ( $0,127 \pm 0,05$  пг/мл) достовірно перевищує рівень пацієнтів з артеріальною без діагнозу ХХН ( $0,11 \pm 0,003$  пг/мл;  $p < 0,05$ ) і в групі пацієнтів з наявністю ХХН залежить від швидкості клубочкової фільтрації.

**Ключові слова:** маркери апоптозу, артеріальна гіпертензія, хронічна хвороба нирок.

УДК 616.12-008.46+616.61-036.12-074:547.96:612.

### ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА И ИНТЕРЛЕЙКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ У НИХ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Кравчун П.Г., Граматюк А.Н.

**Резюме.** В результате проведенного исследования установлено, что у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) и различной хронической патологией почек (ХБП) уровень маркера апоптоза Apo-1/Fas и интерлейкина ФНО- $\alpha$  достоверно ( $p \leq 0,05$ ) отличается от показателей пациентов с АГ без сопутствующей ХБП. Полученные данные позволяют предположить, что при протеининдуцированном апоптозе ведущим является именно Fas-опосредованный его путь и сопутствующие иммунные нарушения. Уровень сигнальных молекул апоптоза - FasL (CD95L) в условиях ассоциации артериальной гипертензии и ХБП ( $0,127 \pm 0,05$  пг/мл) достоверно превышает уровень пациентов с артериальной без диагноза ХБП ( $0,11 \pm 0,003$  пг/мл;  $p < 0,05$ ) и в группе пациентов с наличием ХБП зависит от скорости клубочковой фильтрации.

**Ключевые слова:** маркеры апоптоза, артериальная гипертензия, хроническая болезнь почек.

UDC 616.12-008.46+616.61-036.12-074:547.96:612.

### Study Activity Markers of Apoptosis and Interleukin Hypertension Patients according of Whether they Have Underlying Chronic Kidney Disease

Kravchun P.G., Gramatiuk A.N.

**Abstract.** The aim purpose of our study was to evaluate the clinical activity of markers of apoptosis FasL (CD95L) and TNF- $\alpha$  in patients of hypertension, depending on whether they are related CKD.

**Materials and methods.** The study included 120 patients (78 women and 42 men), all surveyed were divided into 2 groups: Group 1 included 67 patients with hypertension, the 2nd - 53 patients with arterial hypertension and chronic kidney disease. Chronic kidney disease (CKD) diagnosed according to modern criteria of CKD (K / DOQI, 2006). Hypertension 1-3-th degree on the basis of WHO criteria (1999) was determined in all patients, obesity stage I-III according to the criteria of the International Panel on Obesity IOTF (1999) - in 16 patients (17.2%). The distribution of patients by diagnosis of CKD: chronic pyelonephritis 67%, 11% of chronic glomerulonephritis, diabetic nephropathy, 18% and 5% other. All patients analyzed for serum lipid levels of total cholesterol, triglyceride and high density lipoprotein (HDL) levels were measured at the biochemical analyzer A15, Italy. Apoptosis marker Apo-1 / Fas in the blood plasma was determined by ELISA using test systems from Sigma, USA. TNF- $\alpha$  was studied using a set covered by firms "Vector-Best" with the manufacturer's instructions.

Statistical analysis of the data obtained by the method of non-parametric statistics using the statistical software package Statistica 8.0 for Windows (Statsoft, USA).

**Results and discussion.** The pathogenesis of both hypertension and CKD quite complex, multifactorial and not fully understood. A significant excess of normal values Apo-1 / Fas and the TNF- $\alpha$  found in patients at all stages of CKD. The level of TNF- $\alpha$  greatly exceed physiological only since CKD 3rd st., But tended to increase on the 2nd century. CKD. These results indicate that, at all stages of CKD excessively activated both Apo-1 / Fas and the TNF- $\alpha$ . During the analysis of variance set a strong correlation ( $r = 0,812$ ) between the severity of proteinuria and a set of indicators. The study found that in patients with arterial hypertension (AH) and a variety of chronic kidney disease (CKD), the level of apoptosis marker Apo-1 / Fas and interleukin TNF- $\alpha$  significantly ( $p \leq 0.05$ ) is different from that of patients with hypertension without concomitant CKD. These data suggest that the protein induced apoptosis is a leading Fas-mediated pathway and its associated immune disorders. The level of apoptosis signaling molecules - FasL (CD95L) under association of hypertension and CKD ( $0,127 \pm 0,05$  pg / ml) was significantly higher than in patients without a diagnosis of arterial CKD ( $0,11 \pm 0,003$  pg / ml;  $p < 0,05$ ) and in the group of subjects with CKD depends on the rate of glomerular filtration.

**Keywords:** markers of apoptosis, hypertension, chronic renal disease.

Рецензент – проф. Скрипник І.М.

Стаття надійшла 03.06.2015 р.