



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **107452**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/53 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 11392	(72) Винахідник(и): Колесник Микола Олексійович (UA), Дріянська Вікторія Євгенівна (UA), Величко Марина Борисівна (UA), Петрина Олена Петрівна (UA), Ліксунова Людмила Олександрівна (UA), Непомнящий Валентин Миколайович (UA), Драннік Георгій Миколайович (UA)
(22) Дата подання заявки: 19.11.2015	(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: 10.06.2016	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.06.2016, Бюл.№ 11	

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування перебігу хронічного гломерулонефриту включає дослідження HLA-фенотипу. В сироватці крові додатково досліджують вміст прозапальних цитокінів.

UA 107452 U

Спосіб належить до медицини, а саме до нефрології, і може бути використаний для визначення факторів ризику перебігу хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом.

Збільшення числа хворих з хронічною хворобою нирок і пошук способів запобігання її розвитку, а також уповільнення прогресування лишається однією з найбільш сучасних проблем медицини. Актуальними та такими, що мають важливу практичну спрямованість, є дослідження механізмів розвитку імунних уражень нирок, і великий інтерес викликають питання їх генетичної детермінованості, що обґрунтовує необхідність визначення предикторів виникнення гломерулонефриту та формування його хронічного перебігу. Відомо, що антигени головного комплексу гістосумісності (HLA) грають важливу роль в підвищенні ризику деяких захворювань. Виявлення таких асоціацій спонукає до розробки нових підходів до профілактики і лікування хронічного гломерулонефриту.

Відомий спосіб (1), який включає тестування HLA-A і HLA-B антигенів у дітей з хронічним гломерулонефритом та виявлена більша частота HLA-B12 в порівнянні з контрольною групою здорових дітей, і у них рецидив захворювання був частішим, ніж в групі без цього антигену.

Недоліком способу є визначення антигенів-провокаторів для виникнення та рецидивування хронічного гломерулонефриту у дітей, а не дорослих осіб, без урахування особливостей фенотипів як хворих, так і групи порівняння здорових донорів саме української популяції (імуногенетики вважають необхідним визначати асоціації між системою HLA і патологічним станом в рамках популяцій і етнічних груп, частота розподілу антигенів в яких може суттєво відрізнятись).

Відомий також спосіб прогнозування виникнення захворювання нирок (2), взятий за прототип, який включає виявлення асоціацій HLA-антигенів з хронічною хворобою нирок, що дозволяє прогнозувати виникнення хронічного гломерулонефриту та пієлонефриту, показано також, що антигени-провокатори хронічного гломерулонефриту - A23, A24, A28, A29, B8, 38, 44, протектори - B12 та B16, в той же час, HLA забезпечують функціональну взаємодію практично всіх імунокомпетентних клітин, і зв'язок системи HLA з захворюваннями обумовлений в тому числі асоціацією між певними генами цього комплексу і станом імунітету.

Недоліком способу є те, що автори не враховують асоціації HLA з системою цитокінів і тому не надають можливості комплексної оцінки прогнозування не тільки виникнення хронічного гломерулонефриту, але й виявлення, на основі додаткових прогностичних предикторів, пацієнтів з ризиком незадовільної відповіді на лікування та, відповідно, хронічного торпідного перебігу захворювання.

На сьогодні, на генетично-молекулярному рівні, визначено новий рівень контролю варіабельності функціонування імунної системи, а саме антиген-неспецифічної регуляції імунної відповіді, показано також, що у формуванні імунної відповіді, окрім генів HLA, важливе місце займають поліморфні гени цитокінів, їх рецепторів та антагоністів. Взаємозв'язок між HLA-фенотипом і схильністю до синтезу імунокомпетентними клітинами цитокінів є підставою для прогнозу перебігу захворювання та індивідуалізованого підходу до призначення терапевтичних препаратів, таким чином, особливість фенотипу системи HLA у пацієнта визначає схильність не тільки до хвороб нирок, в тому числі гломерулонефрит, але й до його хронічного перебігу з особливостями реакції на лікування.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб прогнозування перебігу хронічного гломерулонефриту шляхом визначення HLA і рівня прозапальних цитокінів крові та у разі наявності в HLA-фенотипі антигенів A23, A24, A28, B8, B38, B41, B44 і високого фонового рівня прозапальних цитокінів IL-17, TNF- α і MCP-1, що не знижуються в процесі терапії, відносять хворих до групи ризику негативної відповіді на лікування з більш складним перебігом хронічного гломерулонефриту.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб прогнозування перебігу хронічного гломерулонефриту, який включає дослідження HLA-фенотипу, згідно з корисною моделлю, в сироватці крові додатково досліджують вміст прозапальних цитокінів та у разі наявності в HLA-фенотипі одного (або більше) з антигенів A23, A24, A28, B8, B38, B41, B44 і високого фонового рівня хоча б одного з прозапальних цитокінів IL-17 (>25 пкг/мл), TNF- α (>60 пкг/мл) і MCP-1 (>250 пкг/мл), що не знижуються в процесі терапії, прогнозують незадовільну відповідь на лікування з більш складним перебігом хронічного гломерулонефриту.

Запропонований спосіб виконують наступним чином: проводять типування лімфоцитів крові і визначення розподілу комплексу антигенів I і II класів - HLA-A, B антигенів у хворих за методом стандартного лімфоцитотоксичного тесту на планшетах Терасакі із застосуванням спеціальної панелі анти-HLA сироваток (3), лімфоцити периферичної крові вилучають за методом A. Boyum, забір крові об'ємом 5-10 мл здійснюють шляхом венепункції у скляні силіконовані пробірки, в які містять розчин гепарину, розведеного середовищем 199 у відношенні 1:9, або антикоагулянт

ЕДТА, об'єм венозної крові розводять середовищем 199 у співвідношенні 1:1, м'яко піпетують для одержання однорідної консистенції розчину й акуратно нашаровують на розчин фікол-верографіну ($\beta=1,077$), весь об'єм розведеної венозної крові (10-20 мл) нашаровують на фікол-верографін, розлитий у дві центрифужні пробірки об'ємом 4-5 мл, після центрифугування за швидкості 1500 об./хв. на центрифугу ОПН-3 протягом 25 хвилин акуратно відбирають пастерівською піпеткою весь лімфоцитарний шар в інтерфазі та обробляють 0,83 % розчином NH_4Cl протягом 10 хвилин для повного лізису еритроцитів, одержані лімфоцити відмивають двічі середовищем 199 в об'ємі 8-10 мл, центрифугують 10 хвилин за $v=1500$ об./хв., одержаний лімфоцитарний осад розводять 3-5 мл середовища 199, клітини підраховують у камері Горяєва та доводять до концентрації $2-4 \times 10^6/\text{мл}$, HLA-фенотип хворих визначають за стандартним методом лімфоцитотоксичного тесту на планшетах Терасакі із застосуванням спеціальної панелі анти-HLA сироваток (20 антигенів локусу A, 31 - B і 9-DR), гістотипуючі сироватки розкапують в лунки планшетів Терасакі під вазелінове масло по 1 мкл та зберігають при $t=-20^\circ\text{C}$, лімфоцитарну суміш мікрошприцом закачують у планшетки по 1 мкл в кожну лунку та інкубують при $t+37^\circ\text{C}$ 30 хвилин, потім у кожну лунку додають по 5 мкл кролячого комплекменту та витримують 1 годину при $t+37^\circ\text{C}$, після інкубації вазелін витряхують і в кожну лунку закачують по 3 мкл 5 % трипанового синього, через 3 хв. закачують 5 мкл 40 % формальдегіду та через 15 хв. під мікроскопом проводять облік інтенсивності цитотоксичної реакції. Результати реакції трактують шляхом підрахунку % "мертвих" (профарбованих) лімфоцитів в кожній лунці.

Інтерпретація результатів реакції.

0-15 % "мертвих"- негативний результат;

16-20 % -" слабо позитивний результат (+);

21-50 %- " - позитивний результат (+ +);

51-75 % - " - виражений позитивний результат (+ + +);

76-100 %- " - різко позитивний результат (+ + + +).

Для виявлення антигенів-провокаторів достовірність різниці у частоті визначення HLA-антигенів, що порівнюють, оцінюють за допомогою критерію χ^2 -квадрат для таблиць 2×2 . Величину відносного ризику захворювання (RR) визначають за коефіцієнтом: $RR=a/b/g$, 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 вважають показники $RR>2,0$ (3).

Етіологічну фракцію (атрибутивний ризик, σ) підраховують за формулою:

$\sigma=x-y/1-y$,

де x - частота антигену у хворих, а у - частота у здорових.

Даний показник дає можливість об'єктивно оцінити причинну роль у етіопатогенезі захворювання одного з декількох антигенів-провокаторів, для яких RR складав $>2,0$. Достовірним вважають показник $\sigma>0,1$ (3).

У хворих також досліджують рівні прозапальних цитокінів крові IL-17, TNF- α і MCP-1 у сироватках методом ІФА з тест-системами наступним чином: до 96-лункових планшет додавали: по 100 мкл стандартів в відповідні лунки для побудови калібрувальної кривої, в інші лунки вносять по 100 мкл сироватки, що досліджувалася, в усі лунки додають по 50 мкл відповідних антицитокінових антитіл, планшети інкубують при кімнатній температурі протягом 2 годин, потім лунки 5 разів ретельно промивають буфером і видаляють залишки рідини, далі в кожну лунку вносять по 100 мкл кон'югату (стрептовідін-пероксидазу), включаючи "нульову" пробу, після чого проби інкубують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин, повторюють промивку планшети 5 разів та вносять до всіх лунок по 100 мкл ТМВ-субстрату (хромогену) агента, що утворює кольори, після інкубації протягом 12-15 хвилин зупиняють ферментативно-субстратну реакцію, додаючи в кожну лунку по 100 мкл H_2SO_4 , далі проводять визначення оптичної щільності стандартів та зразків сироваток на аналізаторі при 405-620 нм, на підставі показників оптичної щільності стандартів з відомими концентраціями речовини автоматично проводять перерахунок показників у одиниці концентрації. Результати виражають в одиницях маси (пкг) на одиницю об'єму (мл).

Апробація способу, що заявляється, проведена у відділі нефрології та діалізу і лабораторії імунології ДУ "Інститут нефрології АМН України" у 96 пацієнтів віком від 27 до 48 років з попереднім діагнозом гломерулонефрит, нефротичний синдром, які підтверджено морфологічно.

Дослідження прозапальних цитокінів у хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдром дозволили виявити їх вплив на перебіг захворювання і показати, що у

хворих з повною або частковою клініко-лабораторною ремісією середні рівні IL-17 до лікування достовірно нижче ($p < 0,05$), ніж у пацієнтів з торпідним перебігом хвороби, що дозволяє вважати їх додатковими фоновими прогностичними маркерами (4). У хворих із задовільним результатом терапії достовірно знижуються рівні TNF- α і MCP-1 як при проліферативних (відповідно, $p = 0,008$ і $0,038$), так і непроліферативних $p = 0,003$ і $0,028$) гломерулонефриту (4). Тобто, TNF- α і MCP-1 виступають предикторами позитивної відповіді пацієнтів на імуносупресивну терапію незалежно від форми гломерулонефриту, а високі фонові рівні IL-17 - додаткові прогнозонегативні маркери (4).

Для аналізу особливостей продукції цитокінів залежно від фенотипу, для кожного з вивчених медіаторів, групи хворих ділять на групу з найвищими його показниками (1 гр.) та більш низькими (2 гр.), аналізують розподіл антигенів в цих групах та достовірність різниці їх зустрічаємості (p). Дані аналізу приведені в таблиці.

В 1 гр. з найбільш високою продукцією TNF- β (>60 пкг/мл, що в 2 рази перевищує норму) увійшло 72 хворих, а в 2 гр. з більш низьким рівнем - 24. Різниця між групами достовірна - відповідно, $88,21 [72,8,5; 102,6]$ проти $47 [25,5; 55]$ пкг/мл ($p < 0,001$). В 1 гр. хворих достовірно вище наявність в фенотипі антигенів, що обумовлюють відносний ризик захворювання - A23 ($p = 0,042$ та $p = 0,026$ порівняно з 2 гр.), A28 ($p = 0,009$), B44 ($p = 0,007$), а також B14 ($p = 0,006$). Дані наведені в таблиці.

Як свідчать наведені в таблиці дані різниця між групами достовірна і для рівня MCP-1 - відповідно, $387,8 \pm 23,1$ в 1 гр. (>250 пкг/мл, що в 2 рази вище норми) проти $132,8 \pm 15,5$ пкг/мл в 2 гр. ($p < 0,001$).

Частота антигену A28 в 1 гр. майже в 2 рази перевищувала таку серед усіх хворих на хронічний гломерулонефрит - $29,4$ проти $15,5$ %, а також порівняно з здоровими донорами ($p = 0,044$), а 2 гр. за цим показником не відрізнялась від норми ($p = 0,102$). За локусом HLA-B виявлена висока частота антигену B8 в 1 гр. - у 71 % порівняно з 27 % в 2 гр. ($p = 0,021$), що достовірно відрізнялось як від усіх хворих ($p = 0,002$), так і здорових ($p < 0,001$); різниця цих показників в 2 гр. була недостовірна - відповідно, $p = 0,912$ та $p = 0,184$. Співставлення хворих, у фенотипі яких присутній антиген B8 (19 хворих) та ні (20 хворих), показало достовірне підвищення середніх рівнів MCP-1 у хворих з наявністю цього антигену підвищеного ризику ХГН. Частота B41 в 1 гр. перевищувала аналогічну в 2 гр. в 3 рази - відповідно, $29,4$ та $9,1$ %, але різниця недостовірна ($p = 0,230$) (вражаємо, за рахунок недостатньо великих груп порівняння), але була достовірно вище в порівнянні як з усіма хворими ($p = 0,011$), так і здоровими донорами ($p < 0,001$), тоді як для 2 гр. різниця цих показників недостовірна - відповідно, $p = 0,682$ та $p = 0,137$.

Таблиця

Частота HLA-аг локусів A і B у хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом з найбільш високими рівнями відповідних цитокінів в крові (5) в порівнянні з такою у всіх пацієнтів (3), хворих з менш високою продукцією цього медіатора імунітету (6) та здоровими (2)

Про-запальні цитокіни	HLA-A	частота аг (%) у здоров. n=350	частота аг (%) у хворих n=264	показник відносного ризику RR p (3-2)	частота аг (%) в 1 гр.	частота аг (%) в 2 гр.	Статистичні показники p			
							p (5-3)	p (6-3)	p (5-6)	p (5-2)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
TNF- α	A23	2,3	7,5	3,48 ($p = 0,004$)	16,7	0	$p = 0,042$	$p = 0,251$	$p = 0,026$	$p < 0,001$
	A28	8,0	15,1	2,05 ($p = 0,009$) [^]	30,6	25	$p = 0,009$	$p = 0,364$	$p = 0,795$	$p < 0,001$
	B14	7,14	12,5	1,86 ($p = 0,165$)	27,8	16	$p = 0,006$	$p = 0,795$	$p = 0,403$	$p < 0,001$
	B44	0,3	6,8	24,32 ($p < 0,001$)	19,4	8,3	$p = 0,007$	$p = 0,889$	$p = 0,315$	$p < 0,001$
MCP-1	A28	8,0	15,1	2,05 ($p = 0,009$) [^]	29,4	23,0	$p = 0,044$	$p = 0,583$	$p = 0,921$	$p = 0,044$
	B8	13,4	28,7	2,56 ($p < 0,001$) [^]	71	27,0	$p = 0,002$	$p = 0,542$	$p = 0,021$	$p < 0,001$
	B41	0,86	4,5	5,50 ($p = 0,007$)	29	9,1	$p = 0,011$	$p = 0,682$	$p = 0,230$	$p < 0,001$
IL-17	A24	6,3	13,2	2,27 ($p = 0,015$) [^]	35,7	8,5	$p = 0,038$	$p = 0,460$	$p = 0,025$	$p < 0,001$
	A28	8,0	15,1	2,05 ($p = 0,009$) [^]	40,6	27,7	$p = 0,005$	$p = 0,096$	$p = 0,340$	$p < 0,001$
	B38	0,86	4,9	5,97 ($p = 0,004$)	6,2	8,5	$p = 0,006$	$p = 0,004$	$p = 0,952$	$p = 0,201$

[^] - $\sigma > 0,1$ (етіологічна фракція хронічного гломерулонефриту)

Порівняння груп для IL-17 показує достовірну різницю середніх рівнів IL-17 - відповідно, $34,6 \pm 2,2$ в 1 гр. (32 хв. з рівнем >25 пкг/мл, що втричі вище норми) та $16,9 \pm 0,7$ пкг/мл в 2 гр. (47

хв.) ($p < 0,001$). В 1 гр. достовірно частіше, ніж в цілому у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом і нефротичним синдромом, виявляють HLA-A24 і A28 ($p < 0,05$), і різниця для A24 між 1 і 2 гр., рівень IL-17 в якій наближений до норми, достовірна ($p = 0,025$). Якщо співставити хворих, у фенотипі яких присутній антиген A24 (14 хворих) та ні (65 хворих), то різниця середніх рівнів IL-17 достовірна - відповідно, 26,4 [22,5; 31,9] та 20,5 [16,1; 27,7] ($p = 0,048$). В 1 гр. достовірно частіше, ніж у всіх обстежених хворих, виявляють також антиген-провокатор HLA-B38 ($p = 0,006$).

Таким чином, з найбільш високою продукцією прозапальних цитокінів як додаткових прогностичних маркерів перебігу хронічного гломерулонефрит, нефротичного синдрому та предикторів погіршення функції нирок асоціюють наступні HLA-провокатори захворювання: TNF- α - A23, A28, B44; MCP-1 - A28, B8, B41; IL-17-A24 і B38.

Наводимо приклади практичного застосування запропонованого способу.

Приклад 1. Хвора З., 62 роки, історія хвороби № 81. Типування виявило наявність у фенотипі - A2A3 B14B44 антигену-провокатора ХГН - B44; при обстеженні діагноз "Гломерулонефрит" був підтверджений даними нефробіопсії (морфологічна форма "Мезангіопроліферативний гломерулонефрит"). HLA-B44, так само як і другий антиген локусу В у хворого - B14 асоціюють, за запропонованим способом, зі здатністю клітин до високої продукції прозапального TNF- α , рівень якого в крові у хворого складав 115,3 пкг/мл. Рівень IL-17 у пацієнта (27,5 пкг/мл) був також вище запропонованої даним способом межі (> 25 пкг/мл). Аналіз підтвердив прогноз щодо більш складного перебігу захворювання - хвора була нечутлива до терапії стероїдами та цитостатиками, лікувалася селл-септом, але нефротичний синдром мав персистуючий перебіг без позитивної клінічної динаміки.

Приклад 2. Хворий Т., 19 років, історія хвороби № 93. Типування виявило наявність у фенотипі - A1A28 B7B8 - двох антигенів провокаторів (A28 і B8); при обстеженні діагноз "Гломерулонефрит" був підтверджений даними нефробіопсії (морфологічна форма "Фокально-сегментарний гломерулосклероз"). Звертає увагу, що обидва антигени, що обумовлюють абсолютний ризик захворювання (A28 і B8) асоціюють, за запропонованим способом та наведеними даними, зі здатністю клітин до високої продукції прозапального MCP-1 (у хворого в крові - 427,9 пкг/мл) і IL-17, а B8 - і TNF- α (у хворого - 103,5 пкг/мл). Аналіз підтвердив прогноз щодо більш складного перебігу захворювання - спочатку була часткова ремісія при використанні преднізолону, а потім рецидиви захворювання з тривалим їх перебігом.

Приклад 3. Хворий К., 32 роки, історія хвороби № 116. Типування виявило наявність у фенотипі - A10A28 B8B41 трьох антигенів провокаторів (A28, B8 і B41); при обстеженні діагноз "Гломерулонефрит" був підтверджений даними нефробіопсії (морфологічна форма "Фокально-сегментарний гломерулосклероз"). Звертає увагу, що всі три антигени, що обумовлюють відносний (A28, B41), а також і абсолютний ризик (B8) захворювання асоціюють, за запропонованим способом та наведеними вище даними, зі здатністю клітин до високої продукції прозапального MCP-1 (у хворого в крові - 362,4 пкг/мл), а A28-TNF- α і IL-17, показник якого в крові пацієнта (28,9 пкг/мл) був також вище запропонованого нами рівня для прогнозування перебігу (> 25 пкг/мл). Аналіз підтвердив прогноз щодо негативного перебігу захворювання - імунотропна терапія була неефективною (торпідний перебіг), з 2006 р. констатовано декілька рецидивів нефротичного синдрому з незадовільними результатами лікування і формуванням через 3 роки ниркової недостатності.

Таким чином, за допомогою визначення представлених показників (HLA та прозапальних цитокінів) можна прогнозувати більш складний перебіг хронічного гломерулонефриту у пацієнта та своєчасно використовувати індивідуалізовані схеми терапії для запобігання його прогресуванню та розвитку з часом хронічної ниркової недостатності.

Джерела інформації:

1. Thomson P. D. HLA antigens and atopic features in steroid responsive nephrotic syndrome of childhood / P. D. Thomson [et al.] // Lancet. - 1976. - 2. - P. 765-768.

2. Пат. № 80829 UA, МПК (2013.01) G01N 33/00, A61P 13/00 Спосіб прогнозування виникнення захворювання нирок / Колесник М. О., Гайсенюк Ф. З., Петрина О. П., Дріянська В. Є., Величко М. Б., Ліксунова Л. О., Драннік Г. М.; ДУ "ІННАМНУ" (UA), ДУ "ІУНАМНУ" (UA); № u201215016, 27.12.2012; Опуб. 10.06.2013, Бюл. № 11. - 4 с.

3. Зарецкая Ю. М. Клическая иммуногенетика / Ю. М. Зарецкая. - М.: Медицина, 1983. - 208 с.

4. Малашевська Н. М. Особливості цитокінової ланки імунітету залежно від форми та перебігу хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом / Н. М. Малашевська, В. Є.

Дріянська, Г. М. Драннік, М. Б. Величко, В. С. Савченко, В. М. Непомнящий, Л. О. Ліксунова // Імунологія та алергологія. - 2011. - № 1. - С. 25-30.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб прогнозування перебігу хронічного гломерулонефриту, що включає дослідження HLA-фенотипу, який **відрізняється** тим, що в сироватці крові додатково досліджують вміст прозапальних цитокінів та у разі наявності в HLA-фенотипі одного (або більше) з антигенів A23, A24, A28, B8, B38, B41, B44 і високого фонового рівня хоча б одного з прозапальних цитокінів
- 10 IL-17 (>25 пкг/мл), TNF- α (>60 пкг/мл) і MCP-1 (>250 пкг/мл), що не знижується в процесі терапії, прогнозують незадовільну відповідь на лікування з більш складним перебігом хронічного гломерулонефриту.

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

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