УДК 616.61-008.6-036.12-097

ОСОБЛИВОСТІ HLA-АНТИГЕНІВ У ХВОРИХ НА ПІЄЛО- ТА ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ, ЇХ АСОЦІАТИВНІ ЗВ»ЯЗКИ З ПРОЗАПАЛЬНИМИ ЦИТОКІНАМИ

ДРІЯНСЬКА В.В.

ДУ «Інститут нефрології АМН України»;
ДУ «Інститут урології АМН України», Київ, Україна

У фізіології імунної системи значна роль належить антигенам головного комплексу гістосумісності, які забезпечують функціональну взаємодію практично всіх імунокомпетентних клітин. Схильність до захворювання може бути зв'язана з комбінацією різних HLA (human leucocyte antigens), які експресуються в різних локусах (класу 1 і /або класу 11). Антигени системи HLA, набір яких забезпечує унікальність клітин індивідума, дозволяє організму розпізнавати чужерідні антигени і усувати їх [3, 4, 16]. Ефективність цього процесу може залежати як від характеристики HLA-фенотипу, так і від зв'язаного з ним стану імунітету, в тому числі здатності клітин до продукції цитокінів [6, 12].

Для статистичної оцінки зв'язку HLA-антигенів і захворювань використовують показник відносного ризику захворювання RR, який дозволяє визначити ступінь ризику розвитку захворювання у носіїв антигену HLA в порівнянні з індивідами, що не несуть даний антиген. Аналіз наявних даних свідчить про те, що переважна більшість HLA-асоційованих хвороб є в тій чи іншій мірі імунопатії, при яких проявляється аутоімунний або імунодефіцитний компонент.

Вивчення механізмів зв'язку між системою HLA і різними нирковими патологіями, яке було започатковане в області трансплантології нирки, знайшло широке поширення при багатьох патологічних станах, в першу чергу імунозапальної природи [10, 14, 20]. Дослідники передбачають цілий ряд механізмів, за допомогою яких гени, контролюючі імунну відповідь, здатні контролювати схильність або стійкість до захворювання, в тому числі хвороб нирок, за участю як аутоімунних, так і імунодефіцитних причин. Так, патогенез гломерулонефриту включає різні реакції клітинної і гуморальної ланок імунітету на чужі та свої антигени і закінчується утворенням цитотоксичних лімфоцитів, імунних комплексів, аутоантитіл з пошкодженням нирок [5, 17], при пієлонефриті аналогічні механізми сприяють знищенню бактеріального антигену, а слабка реакція на бактеріальний антиген у нирці з незадовільною його елімінацією сприяє виникненню хронічного пієлонефриту. В цих механізмах важлива роль у HLA-антигенів, пов'язана як з розпізнаванням антигенів, так і активністю Т-хелперів, ПК-клітин та макрофагів, що розглядається як прояв асоціативного зв'язку на клітинному рівні [1, 2].

Проте, публікацій щодо асоціації рівня продукції вищенаведених медіаторів імунітету з HLA-фенотипом у хворих на хвороби нирок не знайдено. В той же час, цікавими є дослідження асоціації здатності до продукції цитокінів і такої генетичної системи як МНС, припускаючи наявність зв'язку генетичних продуктів, розміщених на відповідних хромосомах.

Одним із перших досліджень, які присвячені вивченю алельних варіантів генів цитокінів людини, були роботи про поліморфізм генів фактору некрозу пухлин альфа [15]. Подібний інтерес пояснюється локалізацією його генів в кластері генів МНС, алельний поліморфізм яких досконало вивчений [16]. Показано нерівноважне зчеплення між алелями генів головного комплексу гістосумісності і алелями гена ФНПб, який лежить в середині кластеру генів III класу МНС між HLA-B і HLA-DR генами. Дослідники показали асоціацію гену ФНП-б з різними запальними і інфекційними станами людини, які проявляються тільки через нерівноважне зчеплення з алелями генів HLA системи [9, 18].

Мета роботи - визначити особливості розподілу HLA-A, B антигенів у хворих на хвороби нирок (пієлонефрит та гломерулонефрит) та асоціації цих антигенів з продукцією прозапальних цитокінів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Обстежено 298 хворих на хворобу нирок – 120 з них з гострим пієлонефритом (ПН) та 208 – хронічним гломерулонефритом (ГН), які лікувалися в ДУ «Інститут нефрології НАМН України» та ДУ «Інститут урології НАМН України». Контрольна група – 350 здорових осіб, мешканців м. Києва.

HLA-фенотип хворих визначали за методом стандартного лімфоцитотоксичного тесту на планшетах Терасакі з застосуванням спеціальної панелі анти- HLA сироваток (20 антигенів локусу А і 31 – В). Достовірність різниці у частоті визначення HLA-антигенів, що порівнювалися, оцінювали за допомогою критерію хі-квадрат для таблиць 2х2. 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 [4].

Етіологічну фракцію (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 можливість 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. Якщо RR ≤ 0,5, асоціацію розцінювали як достовірно негативну [4].

Крім аналізу різниці між частотою носіїв антигену в групі пацієнтів і в групі контролю та її статистичної значимості, яка дозволяє охарактеризувати силу асоціації між антигеном і хворобою, тобто ризик розвитку захворювання у носіїв антигену в порівнянні з тими, які даний антиген не несуть (критерій відносного ризику RR) і етіологічної фракції - σ, провели порівняння долі для двох груп, використовуючи кутове перетворення Фішера (з урахуванням поправки Йєйтса). За методом Фішера рахували лише ті показники, де RR>2 один з показників був менше 10 (різниця достовірна якщо p<0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

За аналізом локусу А у хворих на ПН виявлено достовірне підвищення, в порівнянні із здоровими особами, частоти HLA-A10 (майже в 2 рази) та А11 (35,4% порівняно з 11,4%, p < 0,05) (табл. 1). З захворюванням на хронічний гломерулонефрит асоційовані інші антигени - HLA-A23, A24, A28 (табл. 1).

При ПН має місце достовірне зменшення частоти зустрічаємості у хворих антигену А2 (20,8%) при порівнянні з групою здорових донорів, в якій частота цього антигену складала 56% (p<0,05) (табл. 1).

Таблиця 1

Частота зустрічаємості HLA-A антигенів та критерій відносного ризику (RR) у хворих на ПН та ГН в порівнянні з контрольними групами здорових донорів (К1 та К2)

HLA-A						
Антигени	Частота в групі %		RR	Частота в групі %		RR
	К1	ПН		К2	ГН	
А1	35,7	27,0	0,6	28,0	27,4	0,97
А2	56,0	20,8*	0,2	49,4	54,8	1,25
А3	12,8	12,5	0,9	17,1	12,0	0,66
А9	24,2	30,5	2,0	20,0	12,9	0,6
А10	13,5	25,0*^	2,1	17,1	13,9	0,8
А11	11,4	35,4*^	4,0	16,3	20,2	1,3
А19	6,4	6,2	0,9	4,8	4,3	0,9
А23	2,1	0	-	2,3	5,3*	2,37
А24	8,5	0	-	6,3	13,5*^	2,31/ p=0,008
А25	9,2	6,2	0,7	9,1	5,8	0,6
А26	7,8	6,2	0,7	6,3	4,3	0,67
А28	7,1	4,1	0,6	7,9	13,9*	2,0 p=0,041
А29	7,1	4,1	0,6	0,3	1,4*	4,9

*- різниця с контролем достовірна, ^ - етіологічна фракція

По локусу В відмічено достовірне підвищення частоти зустрічаємості при ПН антигенів В14 та В16 - 16,6% та 14,4% у порівнянні з 5% у здорових; а при ГН - В8, 38, 44 (табл. 2). Достовірно більш рідко у хворих на ПН виявлялись наступні HLA-антигени: В21, В35 та В40 (p≤0,05), а у пацієнтів з ХГН – В12 та В16 (табл. 2).

Таблиця 2

Частота зустрічаємості HLA-A антигенів та критерій відносного ризику (RR) у хворих на ПН та ГН в порівнянні з контрольними групами здорових донорів (К1 та К2)

HLA-B						
Антигени	Частота в групі %		RR	Частота в групі %		RR
	К1	ПН		К2	ГН	
B5	15,0	23,0	1,8	16,0	15,4	0,95
B 7	22,8	33,0	1,7	20,8	23,1	1,14
B 8	10,7	8,3	0,5	13,4	26,9*^	2,38/ p<0,001
B 12	20,0	14,5	0,7	20,8	11,5*	0,5 p=0,005
B 13	14,2	14,5	1,0	17,4	18,7	1,1
B 14	5,0	16,6*^	3,8	7,1	9,1	1,3
B15	9,2	6,2	0,6	9,4	5,3	0,52
B 16	5,0	14,5*^	3,2	9,4	2,4*	0,24/ p<0,001
B 17	13,5	25,0*	2,1	14,2	9,1	0,6
B18	5,0	8,3	1,7	8,2	3,8	0,44
B 21	6,4	2,0*	0,3	5,7	7,7	1,38
B 22	2,1	2,0	0,9	5,1	4,8	0,94
B 27	10	6,2	0,6	8,2	10,6	1,31
B 35	22,0	12,5*	0,5	17,1	21,1	1,3
B 38				0,8	3,8*	5,1/ 0,038
B 40	12,1	6,2*	0,5	10,2	8,1	0,77
B 44				0,2	4,3*	15,04/ p=0,002

*- різниця с контролем достовірна, ^ - етіологічна фракція

Таким чином, антигени-провокатори гострого ПН - А10, А11, В14, **В16** та В17, протектори - А2, В21, В35, В40, а антигени **А23** та **А24** не зустрічались в групі обстежених хворих взагалі. Для ХГН це зовсім інші антигени - **А23, А24**, А28, А29, В8, 38, 44, так само як і протектори - В12 та **В16**. Звертає увагу, що антиген **В16** є провокатором ПН, але протектором ГН, а відносний ризик ХГН обумовлюють антигени А23, А24, які не виявлялись у жодного обстеженого хворого на пієлонефрит, що свідчить не тільки про різний етіопатогенез цих хвороб нирок, але й про різні генетичні механізми підвищеної схильності до пієло- та гломерулонефриту.

Для визначення можливих зв’язків між HLA-антигенами та здатністю клітин до високої продукції прозапальних антигенів, які можуть грати важливу роль в запальних та імунозапальних захворюваннях, в тому числі нирок, провели аналіз асоціативних зв’язків між особливостями HLA-фенотипів та високою продукцією ФНП-б та ІЛ-18 у хворих на ХГН.

Дані цитокіни вивчали в зв»язку з їх важливими ефектами. Відомо, що головним джерелом ФНП-б є клітини моноцитарно- макрофагального ряду, клітини ендотелію та гладенькі клітини, а також резидентні клітини деяких органів, в нирках цими клітинами є гломерулярні мезангіальні клітини і епітеліальні клітини канальців [21].

ІЛ-18 - плейотропний, прозапальний цитокін продукується в основному макрофагами, а також Т- і В-лімфоцитами, дендритними клітинами, остеобластами, купферовими клітинами печінки, епітеліальними і ендотеліальними клітинами і стимулює продукцію г-ІФН, ФНП-б, ІЛ-1, ІЛ-2, молекул адгезії імунокомпетентними клітинами, збільшує проліферативну активність Т-лімфоцитів, підвищує активність НК-клітин [7, 13]. Ці ефекти ІЛ-18 дозволяють розглядати його як один із ключових факторів протиінфекційного захисту організму, і в деяких випадках може виступати в якості патогенетичного фактора в формуванні захворювань, які супроводжуються гострим та хронічним запаленням, в тому числі нирок.

Асоціативні зв’язки між особливостями антигенами гістосумісності та високою продукцією вивчених цитокінів (72 хворих із 197 обстежених) представлені в таблицях 3 і 4.

Таблиця 3

Частота виявлення HLA-аг локусів А і В (%) у здорових донорів (2), всіх хворих на ХГН, НС (3) та в підгрупі з найбільш високими рівнями ФНП-б в крові (4)

HLA-аг	Здорові (350)	Всі хворі (197)	Високий рівень ФНП-б (72)	Р 4-3
1	2	3	4	5
A1	28,0	27,9	11,1	<0,05
A2	49,4	56,4	19,4	<0,05
A3	17,1	11,7	8,3	>0,05
A10	17,0	13,0	28,0	<0,05
A11	16,3	20,8	33,3	<0,05
A19	10,6	10,6	13,9	>0,05
A23	2,3	5,1*	16,7	<0,05
A24	6,3	15,2*^	13,9	>0,05
A23+24	8,60	20,3*	31,0	>0,05 <0,1
A28	8,0	13,2	30,6	<0,001
B5 (51)	16,0	16,2	11,1	>0,05
B7	20,8	23,8	5,6	<0,05
B8	13,4	25,3*^	22,0	>0,05
B12	20,8	12,2	11,1	>0,05
B12 (44+45)	21,4	16,2	30,6	<0,05
B14	7,1	8,6	27,8	<0,001
B27	8,3	9,6	8,3	>0,05
B35	17,1	21,8	5,6	<0,05
B38	0,8	3,5*	8,5	>0,05
B44	0,3	3,5*	19,4	<0,05
B44+45	0,6	4,0*	25,0	<0,001

* - RR>2, ^ - σ>0,1

Таблиця 4

Частота виявлення HLA-аг локусів А і В (%) у здорових донорів (2), всіх хворих на ХГН, НС (3) та в підгрупі з найбільш високими рівнями ІЛ-18 в крові (4)

HLA-аг	Здорові	Всі хворі	Високий рівень ІЛ-18	Р 4-3
1	2	3	4	5
A1	28,0	27,9	20	>0,05
A 10	17,0	13,0	30,00%	<0,05
A11	16,3	20,8	30,00%	>0,05
A24	6,3	15,2*^	50	<0,05
A23+24	8,60	20,3*	70%	<0,001

Продовження табл. 4

HLA-аг	Здорові	Всі хворі	Високий рівень ІЛ-18	Р 4-3
1	2	3	4	5
В8	13,4	25,3*^	20,0	>0,05
В38	0,8	3,5*	10	>0,05
В44	0,3	3,5*	20%	<0,05
В44+45	0,6	4,0*	40%	<0,05

* - RR>2, ^ - σ>0,1

Аналіз показав, що антигени, які часто зустрічаються у хворих з ПН - А10, А11, А28, В14, асоціюють з високою продуцією прозапального ФНП-б (більш ніж в 3 рази перевищує норму), а А10 - і ІЛ-18. Звертає увагу, що найбільш високий рівень ФНП і ІЛ-18 асоціює з антигенами А10, А23+24, В44, В44+45, які несуть атрибутивний ризик розвитку ХГН, що може ускладнювати перебіг цього захворювання.

Вважаючи, що здатність до високої продукції цитокінів може бути генетично асоційованою і не залежати від нозологічної форми захворювання (хоча і сприяти розвитку та варіантам його перебігу), можемо прогнозувати, що хворі на гострий пієлонефрит з наявністю його антигенів-провокаторів - А10, А11, А28, В14, які асоціюють з найбільш високою продуцією прозапального ФНП-б (а А10 - і ІЛ-18), тобто задовільною функціональною активністю імунокомпетентних клітин, що можуть сприяти вираженій протиінфекційній відповіді і, відповідно, меншому ризику хронізації захворювання. В той же час, асоціативний зв’язок антигенів-провокаторів ХГН - А23, 24, А28, А23+24, В44, В44+45 - з високою продуцією прозапальних ФНП і ІЛ-18 може бути додатковим фактором ризику для хворих з імунозапальним ураженням нирок і сприяти більш тяжкому перебігу ГН.

Таким чином, виявлені зв’язки між хворобами нирок (пієло- та гломерулонефрит) і особливостями фенотипу, а також асоціації між HLA-антигенами та високою продукцією прозапальних цитокінів дозволяють виявляти групи підвищеного ризику цих захворювань, прогнозувати їх перебіг та використовувати ці маркери для індивідуалізованих підходів до терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Возианов А. Ф. Анализ взаимосвязи между активностью синтеза цитокинов (гама–ИФ, ИЛ-10) и HLA-фенотипом у больных с хроническим мочеполовым хламидиозом / А. Ф. Возианов, Г. Н. Дранник, Т. С. Монтаг, В. В. Ващенко, В. Е. Дриянская // Український журнал дерматології, венерології, косметології. - 2002. - № 2(5). - С. 57-60.
2. *Гавриленко Т. І.* Сучасне обґрунтування участі імунопатологічних реакцій та генетична схильність до їх розвитку у хворих на ішемічну хворобу серця / Т. І. Гавриленко, Ж. М. Мінченко, О. А. Підгайна, Н. О. Рижкова // Імунологія та алергологія. - 2011. - № 1. - С. 93-94.
3. *Дранник Г. Н.* Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. - К.: ООО «Полиграф Плюс», 2010. - 552с.
4. *Зарецкая Ю. М.* Клическая иммуногенетика / Ю. М. Зарецкая. - М. : Медицина, 1983. - 208с.
5. *Корякова Н. Н.* Патогенетические особенности различных клинико-морфологических вариантов гломерулонефрита / Н. Н. Корякова // Нефрология. – 2005. – Т. 9, № 1. – С. 58-62.
6. *Лутай М. І.* Імунопатологічні реакції та імуногенетичні чинники при ішемічній хворобі серця / М. І. Лутай, Т. І. Гавриленко, Ж. М. Мінченко, О. А. Підгайна, О. М. Ломаківський, О. О. Дмитренко, Н. О. Рижкова, Л. В. Якушко // Журнал АМН України. - 2010. - Т. 16, № 2. – С. 245-261.
7. *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.
8. Связь между антигенами системы HLA и различными заболеваниями [Электронный ресурс] / Связь между антигенами системы HLA и различными заболеваниями - Режим доступа : http : // www.vechnayamolodost.Ru / pages / poplem / svjazmezha5b.html.
9. *Трухан Д. И.* Состояние гуморального иммунитета и антигены HLA при остром панкреатите / Д. И. Трухан // Хрургия. - 2000. - № 1.- С. 8-11.

10. *Шабалов Н. П.* Заболевания, ассоциированные с HLA-антигенами [Электронный ресурс] / Н. П. Шабалов - Режим доступа: http: www. vechnayamolodost. Ru / pages / poplem / svjazmezha5b. html.
11. *Школьник В. В.* Імунне запалення та ендотеліальна дисфункція як фактори розвитку гострого інфаркту міокарду / В. В. Школьник, О. А. Кочубей // Врачебная практика. – 2007. - № 3. – С. 6-8.
12. *Яздовский В. В.* Связь параметров иммунного статуса с HLA-фенотипом у здоровых лиц русской национальности / В. В. Яздовский, Л. П. Алексеев, В. М. Земсков [и др.] // Иммунология. - 1998. - № 3. - С. 20-24.
13. *Якушенко Е. В.* Интерлейкин – 18 и его роль в имунном ответе / Е. В. Якушенко, Ю. А. Лопатникова, С. В. Сенников // Медицинская иммунология. – 2005. – Т.7, № 4. - С. 355-564.
14. *Al-Elise A. A.* HLA DR alleles in Kuwaiti children with idiopathic nephritic syndrome / A. A. Al-Elise // Ped. Nephrol. – 2000. – V. 15 (1-2). - P. 79-81.
15. *Badenhoop K.* TNF-alpha gene polymorphisms: association with type b1 (insulin-dependent) diabetes mellitus / K. Badenhoop, G. Schwarz [et al.] // J. Immunogenet. – 1989. – V. 16. – P. 455-460.
16. *Bodmer J. G.* Nomenclature for factors of the HLA-system / J. G. Bodmer, S. G. E. Marsh, E. D. Albert [et al.] // Tissue Antigens. - 1994. – N. 44. – P. 1-18.
17. *Fogo A. B.* Nephrotic syndrome: Molecular and genetic basis / A. B. Fogo // Nephron. – 2000. – V. 85, N. 1. – P. 8-13.
18. *James M. T.* Early recognition and prevetntion of CKD / M. T. James, B. R. Hemmelgarn, M. Tonelli // Lancet. – 2010. – V. 379. – P. 1296-1309.
19. *Johnson D. R.* Locus-specific constitutive and cytokine-induced HLA class 1 gene expression / D. R. Johnson // J. Immunol. – 2003. – Vol.170, N. 10. – P. 1894-1902.
20. *Ritz E.* World Kidney Day Organising Committee. World Kidney Day : hypertension and chronic kidney diseases / E. Ritz, G. Bakris // Lancet. – 2009. – V. 373. – P. 1157-1158.
21. *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.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ HLA-АНТИГЕНОВ У БОЛЬНЫХ ПИЕЛО- И ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ, ИХ АССОЦИАТИВНЫЕ СВЯЗИ С ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЦИТОКИНАМИ

Дриянская В.В.

ГУ «Институт нефрологии НАМН Украины»;
ГУ «Институт урологии НАМН Украины»

Показаны особенности распределения HLA-A, B антигенов у больных пиелонефритом (ПН) и гломерулонефритом (ГН). Так, с ПН ассоциированы антигены A10, A11, B14, B16 и B17, протекторы - A2, B21, B35, B40; для ГН ассоциированы A23, 24, A28, A29, B8, 38, 44, а протекторы – B12, B16. Отмечены асоциации между наличием в фенотипе определенных некоторых HLA-антигенов и высоким уровнем провоспалительных цитокинов (ФНО-б, ИЛ-18).

Ключевые слова: HLA-антигены, пиелонефрит, гломерулонефрит, цитокины.

SUMMARY

PECULIARITIES OF HLA-PHENOTYPES IN PATIENTS WITH PYELO- AND GLOMERULONEPHRITIS, ASSOCIATIONS WITH PROINFLAMMATORY CYTOKINES

Driianska V.V.

Institute of Nephrology NAMS; Institute of Urology NAMS

The peculiar distribution of HLA-A, B antigens is shown in the patients having pyelonephritis (PN) and glomerulonephritis (GN). Thus, associated with PN are A10, A11, B14, B16 и B17; antigens-protectors - A2, B21, B35, B40; associated with GN are A23, 24, 28, B8, 38, 44; antigens-protectors – B12, B16. Associations of some HLA-antigens and high levels of proinflammatory cytokines (TNF-б, IL-18) were noted.

Key words: HLA-antigens, pyelonephritis, glomerulonephritis, cytokines.