

## ИММУНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА IGA-НЕФРОПАТИИ У БОЛЬНЫХ АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ С УЧЕТОМ ВОЗРАСТА

И.А. Ракитянская, Т.С. Рябова

Больница Святого Великомученика Георгия, Санкт-Петербург

**Immuno-morphological aspects of the pathogenesis iga-nephropathy in patients with adenovirus infection with regard to age**

I.A. Rakityanskaya, T.S. Ryabova

Hospital of Holy Martyr George, Saint-Petersburg

**Резюме.** В последние годы активно изучается роль вирусной инфекции в развитии IgA-нефропатии. В нашем исследовании проведен анализ биопсийного материала почечной ткани у 117 больных IgA-нефропатией на присутствие аденовирусного антигена. Показано присутствие аденовирусной инфекции в почечной ткани у больных IgA-нефропатией независимо от возраста: у 52 % больных до 60 лет и у 33 % больных старше 60 лет. Выявлено, что присутствие аденовируса в гломерулярной зоне влияет на выраженность глобального склероза в обеих возрастных группах ( $p < 0,05$ ), а у лиц моложе 60 лет присутствие аденовируса в интерстиции коррелирует с выраженностью дистрофии эпителия канальцев ( $p = 0,014$ ). Также показано, что присутствие аденовируса в интерстиции коррелирует с количеством клеток фенотипа CD19/ $\lambda$  ( $p = 0,004$ ) и CD19/ $\kappa$  ( $p = 0,002$ ), интенсивностью экспрессии IL-10 ( $p = 0,029$ ) и мембраноатакующего комплекса C5b-C9 ( $p = 0,011$ ) в гломерулярной зоне у больных моложе 60 лет. У больных старше 60 лет влияния аденовирусной инфекции почечной ткани на локальный иммунный ответ выявлено не было. На основании полученных результатов, сделан вывод, что наличие аденовирусной инфекции в почечной ткани играет роль в патогенезе IgA-нефропатии.

**Ключевые слова:** IgA-нефропатия, аденовирусная инфекция, морфология, возраст.

### Введение

В последние 15 лет IgA-нефропатия является самой часто встречающейся морфологической формой гломерулонефрита в мире [1]. В связи с этим вопросы этиологии данного заболевания являются наиболее актуальными. Большинство исследователей поддерживает наиболее популярную точку зрения об этиологической роли вирусной инфекции (цитомегаловирус, вирус Эпштейна – Барр, вирус гепатита В и С) в патогенезе IgA-нефропатии.

Врожденная иммунная система сохраняется филогенетически и является первой линией защиты организма от патогенных микроорганизмов.

**Abstract.** In recent years, examines the role of viral infection in the development of IgA-nephropathy. In our study, an analysis of renal biopsy tissue from 117 patients IgA-nephropathy in the presence of adenoviral antigen. Shown the presence of adenovirus infection in kidney tissue in patients with IgA-nephropathy, regardless of age: 52 % of patients 60 years and 33 % of patients older than 60 years. Revealed that the presence of adenovirus in the glomerular zone of influence on the severity of global sclerosis in both age groups ( $p < 0.05$ ) and in patients younger than 60 years the presence of adenovirus in the interstitium correlated with the severity of degeneration of the epithelium of tubules ( $p = 0.014$ ). It also shows that the presence of adenovirus in the interstitium correlated with cell phenotype CD19 /  $\lambda$  ( $p = 0,004$ ) and CD19 /  $\kappa$  ( $p = 0,002$ ), intensivnostyu expression of IL-10 ( $p = 0,029$ ) and membranoatakuyuschego complex S5b-C9 ( $p = 0.011$ ) in the glomerular zone in patients younger than 60 years. In patients older than 60 years, the influence of adenoviral infection of renal tissue to a local immune response have been identified.

Based on these results, it is concluded that the presence of adenovirus infection in the kidney plays a role in the pathogenesis of IgA-nephropathy

**Key words:** IgA-nephropathy, Adenovirus, morphology, age.

Нарушения врожденного иммунитета играют роль в механизмах патогенеза заболеваний почек и, в частности, в развитии IgA-нефропатии, способствуя повреждению почечной ткани. Огромный интерес к врожденному иммунитету проявился в связи с открытием Toll-like рецепторов (TLRs), которые относятся к большому семейству основных рецепторов врожденной иммунной системы, вызывают инфекцию, регулируют воспаление и иммунный ответ в ткани и играют роль в развитии заболеваний почек [2]. Стимуляция TLRs активирует множество генов, что приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ),

хемокинов и факторов роста, которые могут стимулировать развитие воспалительной реакции в почечной ткани [3, 4].

В патогенезе IgA-нефропатии изменения регуляции врожденного иммунитета, вероятно, играют определенную роль за счет нарушения элиминации антигена слизистой и длительного антигенного воздействия. Механизм повреждения почек при инфекции включает в себя прямое попадание инфекционного антигена, в результате формируется и осаждается комплекс антиген – антитело в почечной ткани с последующим развитием иммунологической реакции [5]. В результате срабатывает синтез IgA и в совокупности с другими факторами в конечном итоге приводит к повреждению почечной ткани при IgA-нефропатии.

Вопрос об этиологических факторах, участвующих в развитии IgA-нефропатии, постоянно обсуждается в литературе. В 1980–1990-е гг. была показана роль простудных заболеваний в развитии IgA-нефропатии. Так, в 1991 г. T. Linne et al. обнаружили инфекцию верхних дыхательных путей у 79,2% детей с IgA-нефропатией. В мире изучение заболеваний верхних дыхательных путей началось с 1953 г., а аденовирусы (AdenoV) впервые были выделены американскими учеными в 1954 г. из ткани миндалин и лимфатических узлов, полученных от детей и взрослых с заболеваниями верхних дыхательных путей, сопровождавшихся конъюнктивитами. С 1956 г. в практику вошел термин «аденовирусы», а болезни, вызываемые данной группой вирусов, получили название аденовирусных заболеваний. Позднее AdenoV был выявлен при иммунофлюоресцентной микроскопии биоптата почки в области мезангия и вдоль капиллярных петель клубочков у больных IgA-нефропатией, а также в сочетании с рецидивирующим тонзиллитом [6]. Аденовирусы относятся к ДНК-вирусам, а идентифицировать вирусную ДНК может TLR9, локализованный эндосомально. У человека TLRs9 экспрессируются на плазматитоидных дендритных клетках (DC), В-лимфоцитах и играют решающее значение для продукции I типа IFN (IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$ ) [7], синтеза цитокинов (включая IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 и TNF- $\alpha$ ), которые могут прямо подавлять и контролировать репликацию вируса, уничтожать инфицированные клетки [8]. Местная экспрессия цитокинов и хемокинов участвует в развитии локального воспаления, способствует притоку антиген-презентирующих клеток и иммунных эффекторных клеток [9].

Аденовирусная ДНК также индуцирует апоптоз мезангиальных клеток (MCs), который является механизмом предотвращения репликации вируса и распространения инфекции в почечной ткани [10]. MCs являются функционально и структурно дифференцированными, поддерживают структуру

гломерулярной капиллярной петли, контролируют клубочковую гемодинамику и очищают почечную ткань от макромолекул, которые не могут пройти гломерулярный мембранный фильтр. MCs запускают специфический противовирусный иммунный ответ на иммунную идентификацию вирусной ДНК, индуцируя экспрессию набора антивирусных генов провоспалительных цитокинов, хемокинов, I типа IFN в клубочках. Подоциты, клубочковые эндотелиальные клетки и MCs индуцируют экспрессию антивирусных генов в ответ на узнавание вирусной ДНК (олигодезоксинуклеотид CpG-DNA) [11]. Однако развитие или обострение существующей IgA-нефропатии является необратимым процессом при экстраренальной вирусной инфекции. Активация противовирусного иммунного ответа в гломерулярных клетках может вызывать развитие или обострение гломерулярной патологии. Комплекс вирусной ДНК запускает общую программу антивирусного ответа в MCs и в интраренальном гломерулярном компартменте, что в совокупности может объяснить развитие IgA-нефропатии при экстраренальной вирусной инфекции.

**Цель исследования** — изучение влияния аденовирусной инфекции почечной ткани на клиническую картину, выраженность морфологических изменений ткани и формирование местного иммунного ответа у больных IgA-нефропатией разных возрастных групп.

#### Материалы и методы

В исследование были включены 117 больных IgA-нефропатией от 19 до 74 лет, средний возраст составил  $36,37 \pm 1,56$  лет (женщин — 29%, мужчин — 71%). Диагноз был подтвержден методом световой и иммунофлюоресцентной микроскопии биоптатов ткани почек, полученных путем прижизненной пункционной биопсии. IgA-нефропатия при геморрагическом васкулите Шенлейн — Геноха в исследование не включалась. Кроме диагностической световой и иммунофлюоресцентной микроскопии (МБ Микромед-2, Россия), у всех больных было проведено иммунофлюоресцентное исследование почечного биоптата с использованием моноклональных антител к аденовирусу (NCL-ADENO, «Novocastra Laboratories Ltd», Великобритания) с использованием Fitc-метки («Dako», Германия). Также у всех больных определяли количество клеток в составе гломерулярного и интерстициального инфильтрата с помощью моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD71, CD25, CD19/ $\lambda$ , CD19/ $\kappa$ , TdT+ -клетки, APO-FAS/CD95, HLA-DR-DP-DQ/CD8 с Fitc-меткой («Dako» Германия), экспрессию цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 в клубочке и в интерстиции, используя моноклональные антитела («R&D systems» США) и экспрессию мембра-

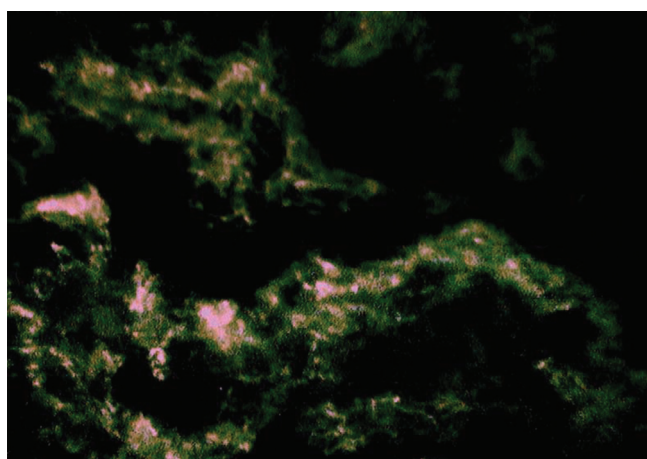
ноатакующего комплекса комплемента (C5b-C9) с использованием моноклонального антитела с Fc-меткой («Dako», Германия). Использовался непрямой метод с мышинной сывороткой, меченой Fc («Dako», Германия). Оценивалась интенсивность свечения экспрессии цитокинов в баллах (0–3).

Длительность заболевания от первой клинической манифестации до проведения морфологического исследования и постановки диагноза составила  $37,20 \pm 8,8$  месяцев, т.е. около 3 лет. В ходе исследования больные были разделены на две возрастные группы: 1 группу составили 98 пациентов в возрасте до 60 лет включительно (средний возраст  $36,92 \pm 1,96$  года); 2 группу – 19 пациентов от 60 лет и старше (средний возраст  $68,80 \pm 1,44$  лет).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием параметрических и непараметрических критериев с помощью программы «Statistica for Windows», версия 6. Критический уровень достоверности принимали равным 0,05.

### Результаты и обсуждение

Было изучено содержание аденовируса в почечной ткани больных IgA-нефропатией. Отложения частиц аденовируса выявлены в клубочках и интерстиции у 52% больных до 60 лет и у 33% больных старше 60 лет. На рисунке 1 показана локализация аденовируса в эпителиальных клетках канальцев у больных IgA-нефропатией.



**Рис. 1.** Локализация аденовируса в эпителиальных клетках канальцев у больных IgA-нефропатией. Иммунофлюоресцентное исследование биоптата почки («Novocastra Laboratories Ltd»). Ув.  $\times 1040$

Следующим этапом работы было проведение корреляционного анализа влияния присутствия частиц аденовируса в почечной ткани на клиничко-лабораторную картину заболевания (табл. 1).

**Влияние аденовирусной инфекции в почечной ткани на клиничко-лабораторную картину у больных IgA-нефропатией в разных возрастных группах**

Клиничко-лабораторные показатели	Локализация частиц аденовируса в почечной ткани больных	
	1 группа	2 группа
Артериальная гипертензия	Интерстиций: $r = 0,329$ ; $p = 0,031$	–
Отечный синдром	Клубочек: $r = 0,344$ ; $p = 0,025$	–
Протеинурия разовая	Интерстиций: $r = 0,344$ ; $p = 0,024$	–

Известно, что повышение продукции провоспалительных цитокинов макрофагами и фибробластами в пожилом возрасте лежит в основе процессов старения организма человека. На этом фоне развивается дисбаланс продукции про- и противовоспалительных цитокинов, который играет роль в развитии снижения функциональной активности иммунной системы у людей в пожилом возрасте [12] и приводит к развитию большинства возрастных заболеваний, в основе патогенеза которых лежит иммуновоспалительная реакция [13]. Таким образом, иммунное воспаление является основным фактором, приводящим к повреждению почечной ткани и развитию клиничко-лабораторных признаков IgA-нефропатии.

У больных в возрасте до 60 лет было выявлено достоверное влияние отложений частиц аденовируса в гломерулярной зоне на выраженность отека синдрома ( $p = 0,025$ ), а в интерстиции – на выраженность артериальной гипертензии ( $p = 0,031$ ) и разовой протеинурии ( $p = 0,024$ ). У больных старше 60 лет эти корреляционные связи выявлены не были. Таким образом, наличие аденовирусного антигена в почечной ткани (гломерулярной зоне или интерстициальном пространстве) оказывает влияние на клиничко-лабораторную картину заболевания только у больных моложе 60 лет. У больных старше 60 лет частота выявления аденовируса в почечной ткани значительно ниже (33%), что, по-видимому, приводит к отсутствию его влияния на клиничко-лабораторную картину и лабораторные показатели у пожилых больных при IgA-нефропатии.

Известно, что вирусные антигены, попадая в организм больного, вызывают определенные изменения, в первую очередь это затрагивает структуру почечной ткани, куда с током крови попадают инфекционные антигены. Нами был проведен анализ влияния аденовируса на морфологические изменения в ткани почки по данным световой микроскопии. Полученные корреляционные зависимости приведены в таблице 2.



Таблица 2

**Влияние аденовирусной инфекции в почке на морфологические изменения почечной ткани больных IgA-нефропатией в возрасте до и после 60 лет**

Исследуемый показатель	Локализация частиц аденовируса в почечной ткани больных	
	1 группа	2 группа
Глобальный склероз	Клубочек: $r = 0,532$ ; $p = 0,009$	Клубочек: $r = 0,477$ ; $p = 0,005$
Дистрофия эпителия канальцев	Интерстиций: $r = 0,374$ ; $p = 0,014$	—

Как видно из представленных данных, присутствие аденовируса в почке также коррелирует с развитием морфологических изменений ткани. Однако в большей степени это проявляется у больных до 60 лет. В этой группе отложения частиц аденовируса в гломерулярной зоне коррелируют с выраженностью глобального склероза клубочков ( $p = 0,009$ ), а присутствие их в интерстициальном пространстве коррелирует с выраженностью дистрофии эпителия канальцев ( $p = 0,014$ ). У пожилых больных наличие аденовируса в почке способствует развитию глобального склероза клубочков ( $p = 0,005$ ), но не оказывает влияния на развитие поражения интерстиция. В свою очередь, развивающиеся морфологические изменения в ткани почки коррелируют с клиническими проявлениями IgA-нефропатии и подтверждают роль аденовируса в развитии отека синдрома, в выраженности артериальной гипертензии и разовой протеинурии только в группе больных моложе 60 лет.

Следующим этапом работы было проведение корреляционного анализа влияния инфекционного антигена в гломерулярной зоне и интерстициальном пространстве почечной ткани на состав лимфоидного инфильтрата, экспрессию цитокинов и мембраноатакующего комплекса комплемента (табл. 3).

Таблица 3

**Влияние аденовирусной инфекции в почечной ткани на состав лимфоидного инфильтрата, экспрессию цитокинов и мембраноатакующего комплекса комплемента у больных IgA-нефропатией с учетом возраста**

Исследуемый показатель	Локализация частиц аденовируса в почечной ткани больных	
	1 группа	2 группа
CD19/λ	Интерстиций: $r = 0,428$ ; $p = 0,004$	—
CD19/κ	Интерстиций: $r = 0,460$ ; $p = 0,002$	—
IL-10	Клубочек: $r = 0,326$ ; $p = 0,029$	—
МАК(C5b-C9)	Клубочек: $r = 0,376$ ; $p = 0,011$	—

Как видно из данных таблицы 3, у больных в группе до 60 лет локализация аденовируса в клубочке коррелирует с интенсивностью экспрессии IL-10 ( $p = 0,029$ ) и мембраноатакующего комплекса C5b-C9 ( $p = 0,011$ ) в гломерулярной зоне, однако не влияет на выраженность экспрессии других исследуемых цитокинов (TNF-α, IL-1β, IL-6). При локализации аденовируса в интерстиции он коррелирует с количеством мононуклеаров В-ряда фенотипа CD19/λ ( $p = 0,004$ ) и CD19/κ ( $p = 0,002$ ) в интерстициальном пространстве и не влияет на количество мононуклеаров фенотипа CD3, CD4, CD8, CD71, CD25, TdT+, APO-FAS/CD95, HLA-DR-DP-DQ/CD8 в составе инфильтрата почечной ткани. В группе больных старше 60 лет аденовирус не влияет на состав лимфоидного инфильтрата, экспрессию цитокинов и мембраноатакующего комплекса C5b-C9, как в гломерулярной зоне, так и в интерстициальном пространстве.

Полученные в работе данные подтверждают роль аденовируса в индукции локального иммунного ответа при IgA-нефропатии. Ранее было показано, что у больных IgA-нефропатией в почечной ткани выявлено большое число CD19+ В-клеток (около 12% от общего числа инфильтрирующих клеток в ткани) [14]. Следовательно, CD19+ В-клетки, попадая в почки, секретируют не только IgA, но и воспалительные цитокины, что способствует развитию патологического поражения гломерулярных и тубулоинтерстициальных структур в почке и приводит к клиническим проявлениям IgA-нефропатии. Таким образом, влияние аденовируса на локальную иммунную реакцию выявлено только у больных моложе 60 лет, у пожилых больных наличие аденовируса в ткани выявляется реже (только у 33% больных) и его присутствие не оказывает влияние на локальный иммунный ответ. В совокупности полученные нами данные подтверждают общее состояние как системного, так и локального иммунного ответа, развивающегося у больных в пожилом возрасте.

### Выводы

1. Наличие аденовирусной инфекции в почечной ткани у больных IgA-нефропатией является этиологическим фактором развития заболевания независимо от возраста больного.

2. Влияние аденовируса на клинико-лабораторную картину заболевания показано только у больных моложе 60 лет.

3. Присутствие аденовируса в почечной ткани активно влияет на морфологические изменения у больных IgA-нефропатией в обеих возрастных группах, т.е. независимо от возраста.

4. Аденовирусная инфекция влияет на состав лимфоидного инфильтрата, экспрессию IL-10 и комплекса C5b-C9 у больных моложе 60 лет, после

60 лет аденовирусный антиген не оказывает влияния на местный иммунный ответ.

#### Литература

1. D'Amico, G. Idiopathic IgA nephropathy with segmental necrotizing lesions of the capillary wall / G. D'Amico [et al.] // *Kidney Int.* — 2001. — V. 59, № 2. — P. 682–692.
2. Smith, K.D. Toll-like receptors in kidney disease / K.D. Smith // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* — 2009. — V. 18, № 3. — P. 189–196.
3. Horng, T. TIRAP: an adapter molecule in the Toll signaling pathway / T. Horng, G.M. Barton, R. Medzhitov // *Nat. Immunol.* — 2001. — V. 2, № 9. — P. 835–841.
4. Fitzgerald, K.A. Mal (MyD88-adapter-like) is required for Toll-like receptor-4 signal transduction / K.A. Fitzgerald [et al.] // *Nature.* — 2001. — V. 6, № 413. — P. 78–83.
5. Akagi, S. Infection and chronic kidney disease / S. Akagi, H. Sugiyama, H. Makino // *Nippon Rinsho.* — 2008. — V. 66, № 9. — P. 1794–1798.
6. Tomino, Y. A case of IgA nephropathy associated with adeno- and herpes simplex viruses / Y. Tomino [et al.] // *Nephron.* — 1987. — V. 47, № 4. — P. 258–261.
7. Lund, J. Toll-like receptor 9-mediated recognition of Herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells / J. Lund [et al.] // *J. Exp. Med.* — 2003. — V. 198, № 3. — P. 513–520.
8. Wagner, H. The immunobiology of the TLR9 subfamily / H. Wagner // *Trends. Immunol.* — 2004. — V. 25, № 7. — P. 381–386.
9. Sadler, A.J. Interferon-inducible antiviral effectors / A.J. Sadler, B.R. Williams // *Nat. Rev. Immunol.* — 2008. — № 8. — P. 559–568.
10. Allam, R. Viral RNA and DNA trigger common antiviral responses in mesangial cells / R. Allam [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2009. — V. 20, № 9. — P. 1986–1996.
11. Winston, J.A. Nephropathy and establishment of a renal reservoir of HIV type 1 during primary infection / J.A. Winston [et al.] // *N. Engl. J.* — 2001. — V. 344. — P. 1979–1984.
12. van den Biggelaar, A.H. Impaired innate immunity predicts frailty in old age. The Leiden 85-plus study / A.H. van den Biggelaar [et al.] // *Exp. Gerontol.* — 2004. — V. 39. — P. 1407–1414.
13. De Martinis, M. Inflamm-ageing and lifelong antigenic load as major determinants of ageing rate and longevity / M. De Martinis [et al.] // *FEBS Lett.* — 2005. — V. 579. — P. 2035–2039.
14. Yuling, H. CD19+CD5+ B cells in primary IgA nephropathy / H. Yuling [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2008. — V. 19, № 11. — P. 2130–2139.

#### Авторский коллектив:

*Ракитянская Ирина Анисимовна* — научный консультант, клинический иммунолог СПб ГУЗ «Больница Святого Великомученика Георгия», д.м.н., профессор; тел.: 8-921-593-55-17, e-mail: tat-akyla@inbox.ru;

*Рябова Татьяна Сергеевна* — заведующая 2-м терапевтическим отделением СПб ГУЗ «Больница Святого Великомученика Георгия», к.м.н.; тел.: 8-921-405-98-85, e-mail: tita74@mail.ru.