

RUOLO DEGLI ANTIGENI HLA NELLA SUSCETTIBILITÀ / PROTEZIONE ALLA NEFRITE LUPICA.

Dott.ssa Ana Lleò De Nalda

Vincitrice premio di studio Milano settembre 2002

Lo scopo di questa ricerca è quello di indagare a livello genomico l'esistenza di associazioni tra geni HLA di classe II e l'insorgenza o la protezione nei confronti della nefrite lupica oltre a valutarne forza e significatività.

L'importanza di questa ricerca risiede nel probabile coinvolgimento degli antigeni HLA di classe II nella patogenesi del LES, e più in generale nelle altre malattie autoimmunitarie, dato il ruolo centrale che queste molecole hanno nei processi di attivazione cellulare, presentazione dell'antigene ai linfociti T-helper e, in ultima analisi, nella modulazione della risposta immunitaria.

MATERIALE E METODI:

Abbiamo tipizzato a livello genomico per gli antigeni HLA di classe II 244 pazienti affetti da LES, di cui 71 presentavano un coinvolgimento renale, seguiti presso l'ambulatorio di Immunologia Clinica del Dipartimento di Medicina Interna dell'Università degli Studi di Milano, e 284 controlli che costituiscono il nostro panel di riferimento HLA.

I pazienti, 24 maschi e 220 femmine, di età compresa tra 15 e 75 anni (mediana 33), con malattia datante da 6 mesi a 35 anni (mediana 12 anni), sono stati seguiti con visite periodiche all'incirca quadrimestrali (o più ravvicinate in rapporto alle esigenze cliniche). Tab.1

La diagnosi di LES è stata posta in base alla presenza di quattro o più criteri ARA (*American Rheumatism Association*). La valutazione della compromissione renale è stata effettuata, nei casi possibili, mediante biopsia renale quando compariva una proteinuria persistente >0.5 g/die e/o alterazioni del sedimento urinario sospette per nefropatia. Le glomerulonefriti sono state suddivise, in base al quadro istologico, seguendo la classificazione proposta dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). Tab.2

RISULTATI:

- Dai risultati ottenuti si rileva che la distribuzione degli alleli HLA-DRB (frequenze fenotipiche) rilevanti in 244 pazienti affetti da LES rispetto ai 284 controlli, costituenti il nostro panel di riferimento HLA, un aumento significativo dell'allele HLA-DRB1*0301 (RR=2.30; $p<10^{-3}$) e dell'allele HLA-DRB1*0701 (RR=1.63; $p<0.02$), mentre non vi è un aumento significativo della frequenza dell'allele HLA-DRB1*1501 (RR=1.46; $p=n.s.$). Tab.3

- Per quanto riguarda la distribuzione degli alleli HLA-DQ e HLA-DP, nei pazienti affetti da LES è stato rilevato un incremento significativo della frequenza dell'allele HLA-DQA1*0201 (RR=1.8; $p < 10^{-3}$) ed una diminuzione significativa degli alleli HLA-DQA1*0301 (RR=0.7; $p < 10^{-3}$) e HLA-DPB1*0201 (RR=0.5; $p=0.002$). Si è anche osservato un aumento lieve, ma non significativo, della frequenza dell'allele HLA-DPB1*0402 (RR=1.3; $p=n.s$). Tab.4
- La presenza di nefropatia è associata in maniera significativa all'allele HLA-DQA1*0101 (RR=2.82; $p < 0.005$) e in modo non significativo all'allele HLA-DRB1*1501 (RR=1.8; $p=n.s$). Si è anche osservata una associazione significativa negativa (effetto protettivo) con l'allele HLA-DQA1*0102 (RR=0.3; $p < 0.005$). Fig. 1
- La presenza contemporanea degli alleli HLA-DRB1*1501 e DQA1*0101, ha un effetto moltiplicativo sul rischio di sviluppare glomerulonefrite lupica (RR=65.9, $p < 10^{-3}$). Al contrario la presenza, insieme all'allele HLA-DRB1*1501, dell'allele HLA-DQA1*0102 ha un effetto di protezione sull'insorgenza della nefrite lupica, annullando l'effetto del DRB1*1501 (RR=0.1, $p < 10^{-3}$). Fig. 2
- La distribuzione dei diversi quadri di glomerulonefrite nei pazienti affetti da LES, raggruppati in base alla positività dell'allele HLA-DRB1*1501 evidenzia che l'80% dei pazienti con fenotipo HLA-DR15 sono risultati affetti da glomerulonefrite proliferativa diffusa (classe IV), e il 20% da glomerulonefrite proliferativa focale (classe III). Tra i soggetti HLA-DR15 negativi, i due tipi di glomerulonefrite rappresentavano soltanto il 19% e il 21% rispettivamente, mentre nei 23% dei soggetti è stata documentata una forma di glomerulonefrite mesangiale (classe II) e nel 37% dei casi un a forma di glomerulonefrite membranosa (classe V). Fig. 3

CONCLUSIONI:

- I nostri risultati confermano, nella popolazione italiana, l'esistenza della già nota associazione significativa tra l'allele HLA DRB1*0301 e la suscettibilità al LES oltre che l'associazione tra nefrite lupica e allele HLA-DRB1*1501 (RR=1.8), anche se, nella nostra casistica, non viene raggiunta la significatività.
- Il dato nuovo, rispetto a quanto riportato in letteratura, e che conferma alcune nostre osservazioni preliminari, è il ruolo degli antigeni HLA-DQA1*01 nella suscettibilità a sviluppare la nefrite lupica. In particolare l'allele DQA1*0101 ha un forte potere nefritogeno (RR=2.82; $p < 0.005$) mentre l'allele DQA1*0102 ha un forte effetto protettivo sullo sviluppo della nefrite (RR=0.3; $p < 0.005$).
- Gli alleli HLA-DQA1*01 sono in *linkage disequilibrium* positivo con l'allele DRB1*1501. Analizzando i risultati dell'effetto delle combinazioni alleliche DRB1*/DQA1* si può osservare che l'allele HLA-DRB1*1501 ha in effetti un potere nefritogeno autonomo che viene enormemente amplificato dalla presenza contemporanea, in posizione cis o trans, dell'allele DQA1*0101 (RR=65.9; $p < 0.001$), mentre viene annullato dalla presenza contemporanea dell'altro allele DQA1*01, DQA1*0102 (RR=0.1; $p < 0.001$).

- La discrepanza dei dati esistenti in letteratura sulla base della diversa prevalenza degli aplotipi DRB1*1501, DQA1*0102, è suggerito dal fatto che le segnalazioni che associano il DRB1*1501 alla nefropatia lupica e alla suscettibilità al LES in generale, sono generalmente ottenute in pazienti caucasici nord americani, popolazione nella quale vi è la più elevata frequenza di aplotipi DRB1*1501, DQA1*non-0102.
- L'associazione tra il DRB1*1501 e un particolare tipo di nefropatia, la glomerulonefrite proliferativa diffusa, fa pensare che alla base di tale associazione ci sia un meccanismo patogenetico unitario. Una possibile chiave interpretativa viene da alcune osservazioni ottenute nel LES murino che legano lo sviluppo di nefropatia lupica al carattere di "basso" produttore di TNF- α , carattere che nei caucasici nord americani sembra essere veicolato sull'aplotipo DR15. Non ci sono invece dati interpretativi sul ruolo protettivo dell'allele DQA1*0102.

Tabella 1 Caratteristiche epidemiologiche di 244 pazienti italiani affetti da LES

età (anni)	33 (15-75)
età di esordio (anni)	26 (12-73)
durata della malattia (anni)	12 (0.6-35)
% sesso femminile	90.2
% familiarità per LES	8.6
% familiarità per altre malattie autoimmuni	12.7

Tabella 2 Distribuzione delle differenti classi di glomerulonefrite nei 71 pazienti sottoposti a biopsia renale

	n	%
Classe II (mesangiale)	13	18.3
Classe III (proliferativa focale)	15	21.1
Classe IV (proliferativa diffusa)	22	31.0
Classe V (membranosa)	21	29.6

Tabella 3 Frequenze fenotipiche degli alleli HLA-DRB rilevanti in 244 pazienti affetti da LES

GENE	ALLELE	CONTROLLI n=284		PAZIENTI n=244		
		n	%	n	%	
DRB1	0101	35	12.4	23	9.4	
	0102	15	5.3	5	2.0	
	1501 ^a	30	10.8	36	14.7	
	1502	12	4.2	7	2.9	
	1601	25	8.8	17	7.0	
	0301 ^b	55	19.4	87	35.6	
	04	32	11.3	18	7.4	
	1101	64	22.5	45	18.4	
	1102	6	2.1	5	2.0	
	1103	7	2.5	7	2.9	
	1104	36	12.7	24	9.8	
	07 ^c	67	23.6	69	28.3	
	DRB4	0101	103	38.8	56	22.9
	DRB5	0101	32	11.3	46	18.8

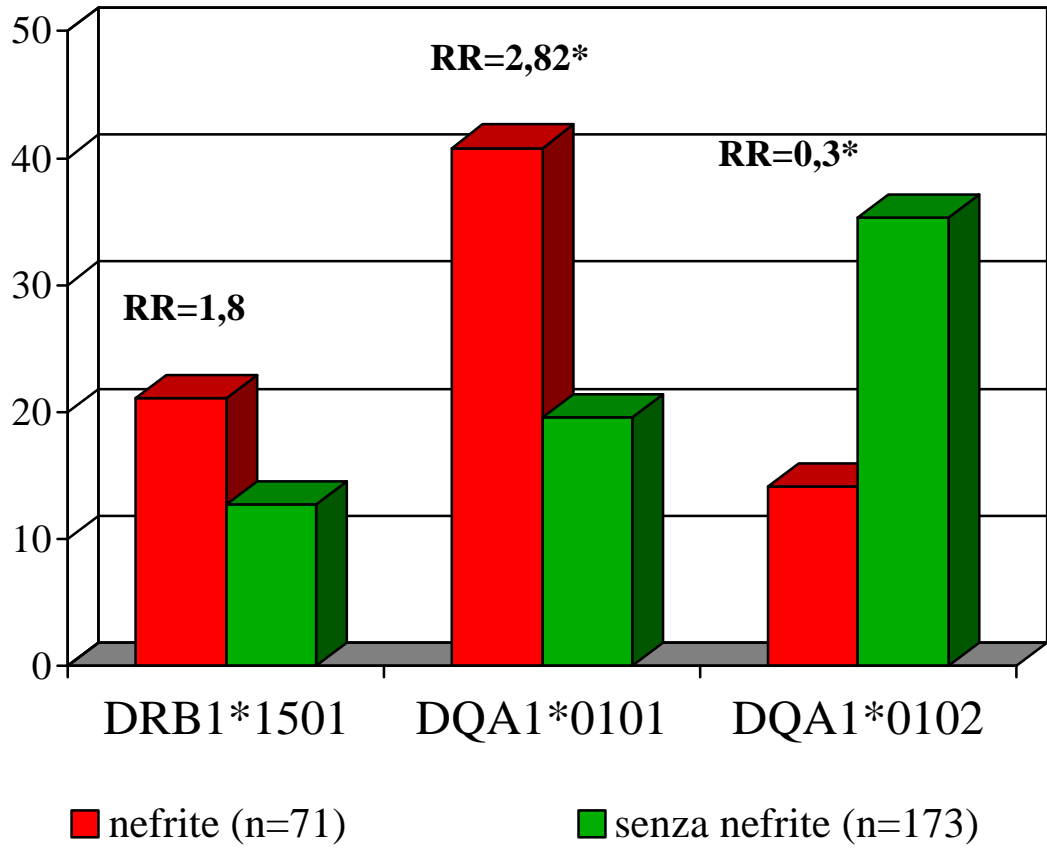
a RR=1.46 p=n.s.
 b RR=2.30 p<10⁻³
 c RR=1.63 p<0.02

Tabella 4 Frequenze fenotipiche degli alleli HLA-DQ e HLA-DPB rilevanti in 244 pazienti affetti da LES

GENE	ALLELE	CONTROLLI n=284		PAZIENTI n=244	
		n	%	n	%
DQA1	0101	86	30.3	64	26.2
	0102	90	31.7	70	28.7
	0103 ^a	43	15.1	21	8.6
	0501	164	57.7	154	63.1
	0201 ^b	102	35.9	124	50.8
	0301 ^c	135	47.5	93	38.1
DQB1	0602	29	10.2	32	13.1
	0603	32	11.3	17	7.0
DPB1	0201 ^d	70	24.6	73	29.9
	0301	60	21.1	69	28.3
	0401	163	57.4	138	56.5
	0402 ^e	82	28.9	42	17.2
	1401	16	5.6	10	4.1

- a RR=0.5 p<0.05
b RR=1.8 p<10⁻³
c RR=0.7 p=0.001
d RR=0.5 p=0.002
e RR=1.3 p=n.s.

Fig. 1 Distribuzione degli antigeni HLA di classe II nei pazienti con o senza nefrite lupica



* $p < 0.005$

Fig. 2 Effetti opposti degli alleli HLA-DQA1*01 nei pazienti con nefrite lupica associata o meno all'allele HLA-DRB1*1501

	Con nefrite (n)	Senza nefrite (n)	RR	<i>p</i>
DRB1*1501, DQA1*0101	11	0	65,9	<0,001
DRB1*1501, DQA1*0102	1	21	0,1	<0,001
DRB1*1501, DQA1*0103	3	1	7,6	0,138

Fig. 3

Distribuzione dei diversi tipi di glomerulonefrite (classificazione WHO) nei pazienti a seconda della presenza o meno dell'allele DRB1*1501

