



## Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

### Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

### Research article

**M. Kolesnyk<sup>1</sup>, S. Vozianov<sup>2</sup>, V. Driianska<sup>1</sup>, O. Shulyak<sup>2</sup>,  
I. Gorpynchenko<sup>2</sup>, Yu. Bondarenko<sup>2</sup>, M. Velychko<sup>1</sup>, I. Petrina<sup>2,1</sup>,  
V. Chernenko<sup>2</sup>, D. Chernenko<sup>2</sup>, T. Poroshina<sup>2,1</sup>, K. Nurimanov<sup>2</sup>**

doi: 10.31450/ukrjnd.1(74).2022.09

### HLA as risk and protection antigens against urinary tract diseases

<sup>1</sup>State Institution «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>State Institution «Academician O.F.Vozianov Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

### Citation:

Kolesnyk M, Vozianov S, Driianska V, Shulyak O, Gorpynchenko I, Bondarenko Yu, et al. HLA as risk and protection antigens against urinary tract diseases. Ukr J Nephrol Dial. 2022;2(74): 63-74. doi: 10.31450/ukrjnd.2(74).2022.09.

**Abstract.** Currently, there is no doubt about the feasibility of determining the frequency of HLA and analysis of genetic associations, including those that determine the state of immunity, in patients with the genitourinary disease.

The study aimed to evaluate HLA phenotypes in patients with the most common diseases of the genitourinary system and identify risk antigens or protectors.

**Methods.** HLA distribution was studied in 384 patients with pyelonephritis and glomerulonephritis and 464 patients with urological diseases (chronic cystitis, chronic proliferative cystitis, chronic prostatitis, prostate sclerosis, prostatic hyperplasia, and prostate cancer). HLAs were defined using a standard microlymphocytotoxic test (Terasaki's test) on the Terasaki's planchette with panels of anti-HLA serums (20 antigens of locus A, 31 – B and 9 – DR). The control group consisted of 350 healthy donors from Ukraine.

The HLA frequencies in healthy and diseased subjects were compared taking each antigen separately, using the 2 test. The value of the relative risk of disease (RR) was determined by the coefficient:  $RR = ab/cd$ , where a is the number of patients positive for this antigen, b is the number of persons in control, negative for this antigen; c is the number of patients negative for this antigen, d is the number of persons in control positive for this antigen. Indicators  $RR \geq 2.0$  were considered significant.

Absolute (attributive) risk of the disease as an etiological fraction, which was determined by the formula:  $= x - y/1 - y$ , where x is the frequency of antigen in patients, y is the frequency in healthy people. The indicator  $> 0$ , I was considered reliable.

**Results.** The association of the most common genitourinary diseases with certain histocompatibility antigens ( $RR \geq 2$ ) is shown. The causal role of HLA with a significant absolute risk of pyelonephritis (A10, A11; B14, B16) and glomerulonephritis (A24, A28; B8; DR4, DR52), chronic cystitis, (including proliferative) (A10, B14, B16), chronic prostatitis (including with an autoimmune component or impaired fertility) (A24, B8, B52), sclerosis of the prostate (A24, A28), hyperplasia (A29, B38) and prostate cancer (A25, A29, B40, B44, B49) has been established. HLA-antigens associated with protection against these pathologies have also been identified - A2, A24, B21, B35 for pyelonephritis and A9, B12, B16, B18 for glomerulonephritis; A25, A26, B5, B14, B16, B17 for chronic prostatitis with its complications, A10, B15, B17 for prostate sclerosis, A9, A10, B17 for prostate hyperplasia, A1, B5, B13, B15 for prostate cancer.

**Conclusion.** The study proves the feasibility of identifying antigens of the HLA system and analysis of their associations with different genitourinary diseases, which allows for predicting the risks of the disease and treatment optimization.

**Key words:** histocompatibility antigens (HLA), relative risk, etiological fraction, genitourinary diseases.

**Conflict of interest statement.** The authors declare no competing interest.

© M. Kolesnyk, S. Vozianov, V. Driianska, O. Shulyak, I. Gorpynchenko, Yu. Bondarenko, G. Drannik, I. Petrina, V. Chernenko, D. Chernenko, T. Poroshina, K. Nurimanov, 2022.

Correspondence should be addressed to Victoriia Driianska: [victoriadriianskaya@gmail.com](mailto:victoriadriianskaya@gmail.com)

### Article history:

Received February 07, 2022

Received in revised form  
February 17, 2022

Accepted February 20, 2022



© Колесник М. О., Возіанов С.О., Дріянська В.Є., Шуляк О.В., Горпинченко І.І., Бондаренко Ю.М., Величко М.Б., Петрина О.П., Черненко В.В., Черненко Д.В., Порошина Т.В., Нуріманов К.Р., 2022

УДК: 616.61/.69-073

М.О. Колесник<sup>1</sup>, С.О. Возіанов<sup>2</sup>, В.Є. Дріянська<sup>1</sup>, О.В. Шуляк<sup>2</sup>, І.І. Горпинченко<sup>2</sup>,  
Ю.М. Бондаренко<sup>2</sup>, М.Б. Величко<sup>1</sup>, О.П. Петрина<sup>2,1</sup>, В.В. Черненко<sup>2</sup>, Д.В. Черненко<sup>2</sup>,  
Т.В. Порошина<sup>2,1</sup>, К.Р. Нуріманов<sup>2</sup>

## HLA як антигени ризику і протекції захворювань сечостатевої системи

<sup>1</sup>Державна установа «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ, Україна

<sup>2</sup>Державна установа «Інститут урології ім. акад. О.Ф. Возіанова НАМН України», м. Київ, Україна

**Резюме.** На сьогодні не викликає сумніву доцільність визначення частоти антигенів гістосумісності (HLA) та аналізу генетичних асоціацій, в тому числі обумовлюючих стан імунітету, у пацієнтів з патологією сечостатевої системи.

Метою роботи було вивчити HLA-фенотипи у пацієнтів з найбільш поширеними захворюваннями сечостатевої системи та встановити антигени ризику виникнення та їх протектори.

Методи. Досліджено розподіл HLA у 384 нефрологічних (з пієлонефритом та гломерулонафритом) та 464 урологічних (з хронічним циститом, хронічним проліферативним циститом, хронічним простатитом, склерозом передміхурової залози, доброякісною гіперплазією передміхурової залози та раком передміхурової залози) дорослих пацієнтів. HLA визначали за допомогою стандартного мікролімфоцитотоксичного тесту (тест Тerasaki) на планшетах Тerasaki з використанням панелей анти-HLA сироваток (20 антигенів локусу А, 31 – В і 9 – DR). Контрольну групу склали 350 здорових донорів, жителів України

Достовірність різниці частоти визначення HLA-антигенів, що порівнювалися, оцінювали за допомогою критерію  $\chi^2$ -квадрат для таблиць 2x2. Значення відносного ризику захворювання (RR) визначали за коефіцієнтом:  $RR = ab/cd$ , де  $a$  – кількість пацієнтів, позитивних на цей антиген,  $b$  – кількість осіб у контролі, негативних на цей антиген;  $c$  – кількість пацієнтів, негативних за даним антигеном,  $d$  – кількість осіб у контролі, позитивних на цей антиген. При цьому значними вважалися показники  $RR > 2,0$ .

Абсолютний (атрибутивний) ризик захворювання як етіологічна частка, який визначався за формулою:  $= x - y/1 - y$ , де  $x$  – частота антигену у пацієнтів,  $y$  – частота у здорових людей. Достовірним вважався показник  $\sigma > 0,1$ .

Результати. Показано зв'язок найбільш поширених захворювань сечостатевої системи з певними антигенами гістосумісності ( $RR \geq 2$ ). Визначена причинна роль HLA з достовірним абсолютним ризиком розвитку пієло- (A10, A11, B14, B16) та гломерулонофриту (A24, A28, B8, DR4), хронічного циститу (у тому числі проліферативного) (A10, B14, B16), а також хронічного простатиту (у тому числі з аутоімунним компонентом або порушенням фертильності) (A24, B8, B52), склерозу простати (A24, A28), доброякісної гіперплазії (A29, B38) та раку (A25, A29, B40, B44, B49) передміхурової залози. Виявлено антигени, які пов'язані із захистом від цих патологій – HLA-A2, A24, B21, B35 для пієло- та A9, B12, B16, B18 – гломерулонофриту; A25, A26, B5, B14, B16, B17 – хронічного простатиту з його ускладненнями, A10, B15, B17 – склерозу, A9, A10, B17 – гіперплазії та A1, B5, B13, B15 – раку простати.

Заключення. Проведене дослідження доводить доцільність визначення антигенів системи HLA та аналізу їх асоціацій з нефрологічними та урологічними захворюваннями, що дозволяє передбачати ризики захворювання, оптимізувати лікування для покращення їх перебігу.

**Ключові слова:** антигени гістосумісності (HLA), відносний ризик, етіологічна фракція, нефрологічні та урологічні захворювання.

**Вступ.** Імунна складова етіології та прогресування нефрологічних та урологічних захворювань, резистентності до терапії з'ясовані недостатньо, що спонукає до продовження досліджень їх генезу і пошуку індивідуалізованих підходів до лікування та профілактики.

Регуляція імунної відповіді є однією з головних фізіологічних функцій генів головного комплексу гістосумісності людини – Major Histocompatibility Complex (MHC) [1]. Існує цілий ряд механізмів, за допомогою яких гени, що контролюють імунну відповідь через HLA (human leucocyte antigens), здатні впливати на схильність або стійкість до захворювання, в тому числі хвороб нирок та сечостатевої системи. Так, патогенез гломерулонофриту, проліферативного циститу і простатиту включає різні реакції клітинної і гуморальної ланок імунітету на чужі та свої антигени і закінчується утворенням цитотоксичних лімфоцитів, імунних комплексів, ау-

Вікторія Дріянська  
victoriadriyanskaya@gmail.com

тоантитіл з пошкодженням нирок, сечового міхура і передміхурової залози; слабка реакція на бактеріальний антиген з незадовільною його елімінацією сприяє виникненню хронічної інфекції сечостатевої системи (ХІСС) [2-4].

Відомо, що імунгенетична діагностика дозволяє виявити індивідів з високим ступенем ризику розвитку конкретної хвороби. Незважаючи на те, що досягнення останніх років у галузі генетики імунної відповіді знайшли відображення на практиці, дослідження цього питання знаходяться у фазі розвитку. Прикладом того є напрямок імунгенетики, позначений як "якість" імунної відповіді. Він визначає та конкретизує внесок до кінцевого ефекту імунної відповіді, активності різних компонентів імунного статусу людини, що знаходиться під HLA-генетичним контролем [5, 6].

Виявлено різноспрямоване реагування імунної системи – як адаптивне, так і патологічне (аутоімунне, гіперреактивне та імунодепресивне). На даний час встановлені позитивні асоціативні зв'язки антигенів HLA I класу (HLA-B8, -B14 і -B35) і генів HLA II класу (HLA DQA1\*0103, HLA DRB1\*03 і HLA DRB1\*11) з гіперреактивним і аутоімунним типом імунної відповіді. В останні роки отримані дані, що доводять існування в генофонді європеоїдної раси позитивних та негативних асоціацій HLA-алелей та гаплотипів (наприклад, HLA-A1B8DR3) з кількістю та функціональною активністю CD4+, CD8+, ПК-клітин і макрофагів [1].

Визначення HLA як предикторів чи протекторів хвороб сечостатевої системи має не тільки теоретичне значення, але може стати основою визначення груп ризику їх виникнення, профілактики рецидивів та лікування.

**Мета роботи:** вивчити HLA-фенотипи у пацієнтів з найбільш поширеними захворюваннями сечостатевої системи та встановити антигени ризику виникнення та їх протектори.

**Матеріали та методи.** Це обсерваційне одномоментне дослідження виконано в рамках НДР «Оцінити ефективність та безпечність різних методів лікування чоловіків на хронічний калькульозний простатит» (2021-2023) та «Вивчити значення HLA фенотипів у хворих з проліферативними або непроліферативними формами хронічного гломерулонефриту для ефективності лікування» (2013-2015). Під час виконання роботи дотримані принципи біоетики, законодавчих норм та вимог щодо проведення біомедичних досліджень (Комісії з біомедичної етики ДУ "Інституту урології НАМН України", протокол № 3 від 09.04. 2021 р.).

Визначено HLA-фенотип 384 нефрологічних хворих (хв.), 120 з яких були пацієнти з гострим пієлонефритом (гПН) та 264 хворих на гломерулонефрит з нефротичним синдромом (ГН, НС) (в зв'язку з проблемами своєчасної діагностики гострого ГН підтверджений клініко-лабораторними методами діагноз був достовірним частіше на етапі його хронічного перебігу – хГН, НС).

Урологічні пацієнти (464) представлені наступними групами: хронічний цистит (ХЦ) – 28, хронічний проліферативний цистит (ХПЦ) – 28, хронічний простатит (ХП) – 290, з яких ХП з аутоімунним компонентом (ХПак) – 50, склероз передміхурової залози (СПЗ) – 54, доброякісна гіперплазія передміхурової залози (ДГПЗ) – 24 і рак передміхурової залози (РПЗ) – 40 хворих. Групу порівняння складала 350 здорових донорів; проведення окремого аналізу пацієнтів з патологіями ПЗ з групою порівняння із осіб тільки чоловічої статі не виявило достовірної різниці виявлених особливостей (частота лише одного антигену HLA-B16 у здорових чоловіків (ч) достовірно вища, ніж у жінок (ж) – 13,9% (172 ч) порівняно з 5,1% (178 ж),  $p=0,007$ ).

Референтними групами були здорові донори – для ПН це 120 осіб (К1 – дані, отримані до 2000 року), для ГН і інших – 350 осіб (К2 – дані, отримані до та після 2000 року).

HLA визначали за допомогою стандартного мікролімфоцитотоксичного тесту [3] на планшетах Терасакі з застосуванням спеціальної панелі анти-HLA сироваток (20 антигенів локусу А, 31 – В і 9 – DR). Лімфоцити, що підлягали типуванню, виділяли з гепаринізованої периферичної крові шляхом центрифугування у градієнті щільності фікол-верографіна.

Величину відносного ризику захворювання (RR) визначали за формулою:

$RR = ab/vg$ , 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  $RR > 2,0$ .

Етіологічну фракцію (абсолютний або атрибутивний ризик,  $\sigma$ ) підраховували за формулою:  $\sigma = (x - y)/(1 - y)$ , де x – частота антигену у хворих, а у – частота у здорових. Даний показник дає змогу об'єктивно оцінити причинну роль у етіопатогенезі захворювання одного з декількох антигенів-провокаторів, для яких RR складав  $> 2,0$ . Достовірним вважали показник більший 0,1.

Достовірність різниці у частоті визначення HLA-антигенів, що порівнювалися, оцінювали за допомогою критерію хі-квадрат для таблиць 2x2. У випадках, коли один з показників був менше 10, для оцінки достовірності різниці використовували точний метод Фішера з поправкою Йетса (пакет програм "SPSS for Windows. Версія 11" та "MedStat").

**Результати.** Порівняння частоти антигенів I класу у пацієнтів з захворюваннями нирок показало, що антигенами відносного ризику гПН є A10, A11, B14, B16 і B17, з яких всі вони (крім B17) обумовлюють і його абсолютний ризик; з них A10 - антиген ризику розвитку ХІСС, тому що його частота (так само як і B40) у разі ХЦ достовірно перевищує таку у здорових (табл. 1 і 2).

У хворих на гПН відмічено достовірне зменшення частоти зустрічаємості в фенотипі хворих антигенів A2, A24, B21, B35, у разі ХІСС – тенденція

до зниження частоти В12 в фенотипі обстежених як з ХЦ ( $p=0,086$ ), так і в групі осіб (30 хв) з хронічним піелонефритом (хПН) ( $p=0,060$ ) (табл. 1).

Таблиця 1

**Частота HLA у здорових донорів (K1 та K2) і критерій відносного ризику (RR) у хворих на гПН та хГН, НС**

HLA	Частота у здорових % K1	гПН RR (120)	P	Частота у здорових % K2	хГН RR (264)	p
<b>ЛОКУС А</b>						
A1	35,7	0,6		16,0	0,9	
A2	56,0	0,2	$\leq 0,001$	20,9	0,9	
A3	12,8	0,9		13,4	0,7	
A9	24,2	2,0		20,9	0,5	0,005
A10	13,5	2,1*	0,033	17,4	0,8	
A11	11,4	4,0*	$\leq 0,001$	7,1	1,4	
A19	6,4	0,9		9,4	0,9	
A23	2,1	0	0,216	14,3	3,5	0,004
A24	8,5	0	$\leq 0,001$	8,3	2,3*	0,005
A25	9,2	0,7		5,7	0,9	
A26	7,8	0,7		5,1	0,8	
A28	7,1	0,6		8,3	2,1*	0,009
A29	7,1	0,6		17,1	7,7	0,05
<b>ЛОКУС В</b>						
B5	15,0	1,8		16,0	0,7	
B7	22,8	1,7		20,9	1,1	
B8	10,7	0,5		13,4	2,5*	0,001
B12	20,0	0,7		20,9	0,4	0,001
B13	14,2	1,0		17,4	0,9	
B14	5,0	3,8*	$\leq 0,05$	7,1	1,9	0,165
B16	5,0	3,2*	$\leq 0,05$	9,4	0,2	$< 0,001$
B17	13,5	2,1*	$\leq 0,05$	14,3	0,5	0,5
B18	5,0	1,7		8,3	0,3	0,018
B21	6,4	0,3	$\leq 0,05$	5,7	1,2	
B22	2,1	0,9		5,1	1,1	
B27	10	0,6		8,3	1,5	
B35	22,0	0,5	$\leq 0,05$	17,1	1,1	
B38				0,9	5,9	0,004
B40	12,1	0,5		10,3	0,7	
B41				0,9	5,5	0,007
B44				0,3	24,3	$< 0,001$

Примітка: р визначали, коли  $RR > 2,0$  або  $\leq 0,5$ ;

\* -  $\sigma \geq 0,1$ ; етіологічна фракція якщо  $p \leq 0,05$  (для  $n \leq 10$ )

У хворих на хГН, НС асоціативний зв'язок обумовлюють зовсім інші антигени – HLA-A23, A24, A28, A29, B8, B38, B41, B44 з яких A24, A28 і B8 є етіологічною фракцією (див. табл. 1). Аналіз фенотипів 46 осіб з гострим гломерулонефритом (гГН) дозволив підтвердити достовірний абсолютний ризик для антигену B8 –  $RR=2,80$  ( $p=0,013$ ) з тенденцією до зниження частоти B15 ( $p=0,090$ ).

Предикторами розвитку хГН, НС також є наявність в фенотипі наступних антигенів II класу – DR 4, DRw52 (атрибутивний ризик) і DR1 (тенденція до підвищення) (табл. 3). У пацієнтів з хГН антигени A9, B12, B16, B18 зустрічаються у достовірно меншій кількості осіб, ніж у здорових, тобто виступають протекторами цієї патології (табл. 1, розрахунок р лише у разі  $RR > 2$  або  $\sigma \leq 0,1$ ).

Важливо підкреслити, що HLA-B16 є провокатором пієло-, але протектором гломерулонефриту; наявність антигенів A23 і A24 в фенотипі підвищує ризик захворіти на хГН, і вони не виявлялись у обстежених пацієнтів з гПН взагалі (див. табл. 1). Отримані результати підтверджують різний імунно-

патогенез цих хвороб нирок і різні генетичні механізми підвищеної схильності до ПН та ГН.

Результати визначення HLA у хворих на урологічну патологію з ХЦ, ХПЦ (виявлені гнізда Брунна, лейкоплакія, папіломи), ХП та ХП з аутоімунним компонентом наведено у табл. 2.

Таблиця 2

**Частота HLA у здорових донорів (n=350) і критерій відносного ризику (RR) у хворих урологічного профілю**

HLA	Частота у здор. % / РЧ-Ж	ХЦ (n=28)		ХПЦ (n=28)		ХП (n=290)		ХПак (50 з ХП)	
		ЛОКУС А							
		RR	p	RR	p	RR	p	RR	P
A1	28 /0,220	0,70		1,03		0,87		1,71	
A2	49,4 /0,290	0,86		0,89		1,24		1,06	
A3	17,1 /0,255	1,60		0,79		1,01		1,06	
A9	20,0 /0,436	1,15		1,06		1,17		0,65	
A10	17,1 /1,00	2,69*	0,05	1,07		0,91		0,90	
A11	16,3 /0,889	1,11		1,40		0,95		1,28	
A19	4,8 /0,285	-		1,54		0,70		-	
A23	2,3 /0,299	-		1,58		1,02		-	
A24	6,3 /0,140	-		0,56		2,24*	0,005	4,20*	0,004
A25	9,1 /0,936	0,76		0,78		0,39	0,009	0,64	
A26	6,3 /0,889	-		0,56		0,75		-	0,047
A28	8,0 /0,491	0,88		1,38		1,32		1,71	
		ЛОКУС В							
B5	16,0 /0,562	1,14		0,91		0,85		0,58	
B7	20,9 /0,920	1,27		0,63		1,32		0,83	
B8	13,4 /0,897	0,49	0,478	0,50	0,478	1,60		4,30*	<0,001
B12	20,9 /0,157	0,29	0,086	0,29	0,086	0,94		1,19	
B13	17,4 /0,667	-		0,57		0,90		1,50	
B14	7,1 /0,742	-		4,36*	0,020	0,64		-	0,027
B15	9,7 /0,104	0,72		2,53	0,156	0,68		0,06	0,239
B16	9,4 /0,007 (13,9)	0,74		7,20*	<0,001	0,40 (0,29)	0,010 <0,001	-	0,006 (0,046)
B17	14,3 /0,780	2,00*	0,251	0,81		0,51		0,25	0,035
B18	8,3 /0,920	3,00*	0,094	1,84		0,71		0,23	0,127
B21	5,7 /0,881	-	0,290	0,62		1,56		3,16*	0,043
B27	8,3 /0,285	3,00*	0,094	1,84		1,70		0,96	
B35	17,1 /0,984	0,58		0,59		0,95		1,35	
B38	0,8 /0,976	-		-		-		-	
B40	10,3 /0,137	4,12*	0,010	0,34	0,358	0,78		0,76	
B44	0,3 /0,984	-		-		3,36	0,639	-	
B49	0,3 /0,478	-		-		-		-	
B52	0,6 /0,478	-		-		2,86*	0,025	14,5*	0,016

Примітка: p визначали, коли RR>2,0 або ≤0,5;

\* -  $\sigma \geq 0,1$ , етіологічна фракція якщо  $p \leq 0,05$  (для  $n \leq 10$ )

Виявлено, що на абсолютний ризик ХЦ вказує наявність в фенотипі лише антигену А10, тоді як достовірним протектором є В40 з тенденцією до захисної ролі антигенів В12, В18 і В27 (див. табл. 2). До етіологічної фракції ХПЦ можна віднести В14 і В16, протекторів не виявлено за винятком тенденції до зниження частоти В12, так само як і у хворих з ХЦ (див. табл. 2).

Достовірний абсолютний ризик хронічного простатиту (ХП) обумовлюють HLA-A24 і -B52, а протекторні властивості для цього захворювання притаманні антигенам А25 і В16 (див. табл. 2). Абсолютний ризик розвитку ХП з аутоімунним компонентом (ХПак) пов'язаний з тими ж А24 і В52, а також В8 і В21; ризик захворювання достовірно знижений при наявності в фенотипі того ж В16, а також А26, В14, В16 і В17 (див. табл. 2).

Обстеження 237 чоловіків з ХП (із 290 із загальної групи), що скаржились на безплідний шлюб із здоровими жінками, також показало наявність асоціативного ризику ХПсф з антигенами А24 (RR=2,48,  $p=0,002$ ), В52 (RR=3,45,  $p=0,025$ ) та зниження ризику у разі присутності в фенотипі А25 (RR=0,42,  $p=0,028$ ) і В16 (RR=0,38,  $p=0,010$ ). Група фертильних чоловіків з ХП ( $n=53$ ) не продемонструвала особливості частоти антигенів А24 (RR=1,21,  $p=0,960$ ) і В52 (жодного пацієнта з цим

антигеном в фенотипі,  $p=0,667$ ), частота А25 залишалась зниженою (RR=0,19,  $p<0,001$ ).

Зв'язок між наявністю ехопозитивних включень в передміхуровій залозі (ознакою хронічного калькульозного простатиту) та визначеними антигенами головного комплексу гістосумісності був виявлений щодо тих самих алелей, що і хронічний простатит з аутоімунним компонентом.

Зважаючи на виявлену різницю частоти В16 у чоловіків та жінок, провели порівняльний аналіз відносного ризику наявності цього антигену (який є протектором для хворих з ХП, ХПак порівняно із здоровими чоловіками – табл. 2) у чоловіків з ХПсф відносно референтної групи здорових чоловіків (172 з 350), що підтвердило достовірне зниження HLA-B16 у цих пацієнтів (RR=0,24,  $p<0,001$ ). Статистично достовірної різниці частоти інших антигенів гістосумісності (рч-ж) при порівнянні чоловіків ( $n=172$ ) і жінок ( $n=178$ ) не виявлено (див. табл. 2)

Проведений порівняльний аналіз розподілу HLA-антигенів II класу у пацієнтів з ХГН та ХП показав, що відносний та абсолютний ризик хронічного ураження нирок імунозапального генезу обумовлюють HLA-DR4, DR52 (з тенденцією до підвищення DR1), тоді як ХП – HLA-DR5 (див. табл. 3).

Таблиця 3

**Частота розподілу HLA-DR у здорових донорів ( $n=111$ ) і критерій відносного ризику (RR) у хворих на ХГН, НС ( $n=30$ ) та ХП ( $n=20$ )**

ЛОКУС-DR							
HLA-DR	% Ag у здорових	% Ag у хв. на ХГН	RR	P	% Ag у хв. на ХП	RR	p
DR1	18,9	33,3	2,14	0,100	10,0	0,47	0,498
DR2	44,1	26,7	0,46	0,121	30,0	0,55	0,344
DR3	31,5	20,0	0,54	0,300	15,0	0,38	0,189
DR4	5,4	26,7	6,36*	0,008	10,0	1,97	0,788
DR5	43,2	40,0	0,88	0,913	70,0	3,07*	0,049
DRw6	4,5	3,3	0,72	0,826	5,0	1,12	0,590
DR7	47,7	30,0	0,47	0,121	50,0	1,08	0,952
DR8	2,7	0		0,834	0		0,944
DR52	5,4	20,0	4,38*	0,050	10,0	0,92	0,757

Примітка: р визначали, коли  $RR>2,0$  або  $\leq 0,5$ ;

\* -  $\sigma \geq 0,1$ , етіологічна фракція якщо  $p \leq 0,05$  (для  $n \leq 10$ )

До етіологічної фракції СПЗ відносяться антигени А24 (який також обумовлює ризик захворювання на ХП та ХПак) і А28; а до протекторів СПЗ - А10, В15 і В17 (див. табл. 4).

Етіологічними чинниками ДГПЗ можна вважати антигени А29 і В38; різниця частоти анти-

генів А25, А30, А32 (хоча  $RR \geq 2,0$ ) із здоровими недостовірні, скоріш за все, через невелику кількість обстежених (24 хворих) (див. табл. 4). Протектором ДГПЗ, так само як і СПЗ (див. табл. 4) та ХПак (див. табл. 3), є В17, а також А9 і А10 (див. табл. 4).

Таблиця 4

**Частота HLA у здорових донорів (n=350) і критерій відносного ризику (RR)  
у хворих урологічного профілю**

HLA	СПЗ (n=54)		ДГПЗ (n=24)		РПЗ (n=40)	
	ЛОКУС А					
	RR	p	RR	P	RR	p
A1	0,81		0,37	0,120	0,21	0,002
A2	0,76		1,12		0,62	
A3	1,10		0,70		1,04	
A9	0,60		0,18	0,048	1,00	
A10	0,28	0,023	-	0,008	0,26	0,040
A11	0,89		1,39		0,74	
A19	2,44	0,175	1,82		1,61	
A23	-		6,12*	0,104	1,09	
A24	5,21*	<0,001	1,37		1,21	
A25	0,58		2,69*	0,191	5,38*	<0,001
A26	0,28	0,255	1,43		0,78	
A28	2,6*	0,050	0,50	1,00	2,03	0,263
A29	-		67,00*	0,002	39,92*	0,005
A30	-		7,20	0,569	4,22	0,742
A32	-		3,26	0,407	3,03	0,299
A33	-		-		8,72	0,188
ЛОКУС В						
B5	1,10		0,48	0,442	0,13	0,011
B7	1,10		0,76		0,42	0,120
B8	0,52		1,73		2,45	0,056
B12	0,97		1,54		0,54	
B13	1,66		0,44	0,343	0,12	0,005
B14	1,63		0,55		1,08	
B15	0,35	0,045	0,83	0,749	-	0,016
B16	0,56		1,40		1,11	
B17	0,11	0,003	-	0,023	0,49	0,308
B18	0,65		-	0,172	0,58	
B21	1,70		-	0,374	2,36	0,243
B27	0,70		1,59		1,28	
B35	2,30	0,484	1,30		1,22	
B38	-		25,25*	0,006	-	0,742
B39					8,59	0,569
B40	1,10		0,80		3,86*	0,005
B41	-		-		10,05	0,068
B44	-		-		47,93*	0,001
B49	-		-		26,70*	0,026

Примітка: p визначали, коли  $RR > 2,0$  або  $\leq 0,5$ ;

\*-  $\sigma \geq 0,1$ , етіологічна фракція якщо  $p \leq 0,05$  (для  $n \leq 10$ )

Цікаво, що до етіологічної фракції розвитку РПЗ відносяться А25, В40, В44 і В49, а також А29 (як ДГПЗ) (див. табл. 4). А1, А10, В5, В13 і В15 є достовірними протекторами захворювання на РПЗ,

тенденція до підвищення В8 і В41 у хворих (див. табл. 4).

Предиктори та протектори найбільш поширених захворювань сечостатевої системи надані в табл. 5.

Таблиця 5

**Антигени гістосумісності І класу, які обумовлюють відносний і абсолютний ризики (предиктори) та грають захисну роль (протектори) для розвитку захворювань сечостатевої системи (курсивом – тенденція)**

ЛОКУС А		
HLA	Предиктори	Протектори
A1		РПЗ
A2		ПН
A9		ГН, ДГПЗ
A10	ПН, ХЦ (ХІСС)	СПЗ, ДГПЗ, РПЗ
A11	ПН	
A23	ГН	ПН
A24	ГН, ХП, ХПак, ХПсф, СПЗ	ПН
A25	РПЗ	ХП, ХПсф
A26		ХПак
A28	ГН, СПЗ	
A29	ГН, ДГПЗ, РПЗ	
ЛОКУС В		
B5		ХПак, РПЗ
B8	хГН, гГН, ХПак, РПЗ	
B12		хГН, ХІСС ХЦ і хПН, ХПЦ
B13		РПЗ
B14	гПН, ХПЦ	ХПак
B15		СПЗ, РПЗ, гГН
B16	гПН, ХПЦ	хГН, ХП, ХПак, ХПсф
B17	гПН	ХПак, СПЗ, ДГПЗ
B18	ХЦ	хГН,
B21	ХПак	гПН
B27	ХЦ	
B38	хГН, ДГПЗ	
B40	ХЦ, РПЗ	
B41	хГН, РПЗ	
B44	хГН, РПЗ	
B49	РПЗ	
B52	ХП, ХПак, ХПсф	

<i>Продовження таблиці 5</i>		
HLA	Предиктори	Протектори
<b>Локус DR</b>		
DR1	хГН	
DR4	хГН	
DR5	ХП	
DR52	хГН	

**Обговорення.** Наші дослідження виявили особливості HLA-фенотипів у пацієнтів з уро-нефрологічними хворобами. Так, результати щодо етіологічної фракції гПН бактеріальної етіології узгоджуються з подальшими даними Ю. Л. Бандрівського та співав. [6] про асоціативні зв'язки тих самих антигенів (A10, A11, B14, B16) з бактеріальними запально-деструктивними захворюваннями пародонта.

HLA-A10 у хворих на гострі ПН або цистит є ризиком подальшого хронічного перебігу стикається з даними про те, що додатковими критеріями розвитку імуносупресії може бути наявність його у в фенотипі [7].

За нашими попередніми дослідженнями, HLA-A10, так само як і B51, асоціює з високою продукцією протизапального ІЛ-10, що змінює баланс про-/протизапальних реакцій імунної системи [8] у бік зниження розвитку запальної реакції. Можливо, ці зв'язки обумовлюють не лише ризик хронічного перебігу ХІСС і ХП, в тому числі з ХПпф (B51 є сплітом антигену B52 зі схожою структурою), але й сприяють захисту від розвитку СПЗ (A10 – протектор).

У хворих на гПН достовірними протекторами виступають A2, A24, B21, B35, у разі його хронічного перебігу – тенденція до зменшення частоти зустрічаємості в фенотипі B12 в фенотипі обстежених ( $p=0,060$ ), так само як і у хворих на ХЦ, як без, так і з проліферативними змінами – ХПЦ ( $p=0,086$ ). Ризик захворювання на ХГН, НС обумовлюють зовсім інші антигени, і деякі дослідники підтвердили достовірно більшу частоту виявлених нами антигенів B8 і B41, що узгоджується з нашими результатами [4, 9].

Співставлення фенотипів показало, що HLA-B16 є провокатором піело-, але протектором гломерулонефрита; A23 і A24 в фенотипі підвищують ризик захворіти на ГН, але не виявлені у пацієнтів з ПН. Це підтверджує різноспрямованість реакції імунної системи у пацієнтів з інфекційним ураженням нирок (частіше, бактеріальним, переважно інтерстицію) (ПН) та імуноопосередкованим процесом з первинним ураженням клубочкового апарату (ГН).

У чоловіків з наявністю A24 підвищена вірогідність захворіти не тільки на ХП, але й з більшим ризиком АК, який частіше має місце також при наявності B8 і B21. Безплідні чоловіки з ХП з наявністю в фенотипі A24 і B52 мають відносний ризик порушення фертильності зі зниженням ризику у разі присутності в фенотипі A25 і B16. В групі фертильних чоловіків з ХП (53) не виявлено зв'язку антигенів A24 ( $p=0,960$ ) і B52 ( $p=0,667$ ), частота A25 залишалась зниженою. Можна вважати, що наявність у чоловіків, хворих на ХП, антигенів HLA-A24 і -B-52, підвищує у них ризик безплідності; антиген A25 грає захисну роль для розвитку ХП, так само як і для порушень фертильності як його ускладнення.

Відомо, що антиген B8 (відносний ризик ХПАк) асоціює з високою активністю імунної системи, з ним пов'язують підвищені активність клітинного імунітету та готовність до утворення імунних комплексів антиген–антитіло, недостатню функціональну активність макрофагів по відношенню до їх елімінації [9]; цей антиген часто зустрічається у хворих на таку імунозалежну патологію як псоріаз [10], хвороба Адісона, гіпертиреоз, цукровий діабет (ЦД) 1 типу, так само, як і B52 у осіб з анкілозуючим артритом, хворобою Такаясу, високим абсолютним рівнем CD4 і відсутністю прогресування ВІЛ-інфекції, хворобою Бехчета з артеріальними ураженнями [11-14]. Дані літератури свідчать, що патогенез ХП може бути обумовлений як інфекційним, так і аутоімунним запаленням; тому виявлені нами асоціації ХП, ХПАк та ХПпф з вищепоказаними антигенами A24, B8 і B52 є логічними та підтверджують участь схожих механізмів у разі таких різних патологій.

HLA-DR5, виявлений нами як етіологічний чинник у хворих на ХП і асоційований з бактеріальною патологією органів сечової системи у дітей з аутоімунними патологіями [15], описаний як предиктор тиреоїдиту Хашимото і перніціозної анемії [16], підтверджують нашу думку щодо як бактеріальної, так і аутоімунної складових простатитів. Так само і визначений нами HLA-DR4 є етіологічною фракцією не тільки ГН, але й інших патологій з аутоімунними розладами – хвороби

Берже, ревматоїдного артриту, зустрічається майже у 95% хворих на ЦД 1 типу [16, 17].

Етіологічними чинниками СПЗ, в тому числі у хворих на ХП (як з АК, так і без) можна вважати А24 (абсолютний ризик захворювання на ХП та розвитку АК) і А28. Протектор СПЗ – В15, В17 та А10, який частіше зустрічається у разі гострого ПН, а також хронічного ПН і ХЦ, тобто є маркером недостатнього протиінфекційного імунітету.

За нашими попередніми даними [18], HLA-24 і А28, які обумовлюють абсолютний ризик ГН, НС (а А24 і гормонрезистентність у дітей з ГН), асоціюють з найбільш високою продукцією прозапальних цитокінів (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-17, ІЛ-18), а також ІЛ-4 і судинного ендотеліального фактору росту (СЕФР). Не можна виключати, що саме ці особливості можуть бути важливою ланкою імуногенезу таких урологічних патологій як ХП з його ускладненнями (аутоімунний компонент, порушення фертильності) та СПЗ.

Абсолютним ризиком захворіти на ДГПЗ є наявність в фенотипі А29 і В38 (обидва асоціюють з ГН), тенденція до підвищення ризику захворювання у разі наявності в фенотипі А23; протектором ДГПЗ, як і Хпак та СПЗ, виступають антигени А9, А10 і В17. В38 також обумовлює такі різні хвороби як синдром Тернера [19], а також (як і антигени ризику ХЦ і ХП HLA-B40 і –B52) – анкілозуючий спондиліт, псоріатичний артрит, пемфігус [11, 14, 26].

Для РПЗ достовірним антигеном-предиктором є А29 (який є таким і для ДГПЗ), а також А25, В40, В44 і В49. Протекторами цього небезпечного захворювання виступають А1, А10, В5, В13 і В15. Можна вважати, що у пацієнтів з ДГПЗ, які мають антиген А29, є додатковий ризик захворіти на РПЗ. А наявність в фенотипі В13, за даними інших авторів, сприяє мінімальному ризику метастазування у онко-хворих і, так само як і інший протектор РПЗ В5, асоціює з підвищеним рівнем в крові CD8+клітин та інвертованим співвідношенням високої кількості цих супресорів/кілерів і низької – хелперів/індукторів (CD4+–клітин), чим можна пояснювати такий позитивний ефект. Цікаво, що за даними цього автора, високі рівні в периферичній крові Т-клітин зустрічалися у носіїв В16, який за нашими даними є предиктором ХПЦ і, в той же час, протектором ХП, в тому числі ХПак.

Відомо, що молекули МНС І класу відображають олігопептиди на поверхні клітини, щоб забезпечити імунний нагляд Т-клітин за внутрішньоклітинними патогенами та пухлинами, що дає змогу здійснювати опосередкований лімфоцитами імунний нагляд [21]. Можливо, тому HLA-A25 достовірно частіше зустрічається і у хворих на рак шкіри [22]. HLA-A29 як антиген етіологічної фракції РПЗ та ДГПЗ відомий ще як такий, що асоціює з аутоімунним увеїтом і ретинохороїдопатією Бердшота (зустрічається виключно у осіб, які мають HLA-A29 позитивний результат) [13, 23].

Подальші дослідження особливостей антигенів гістосумісності у разі захворювань сечостатевої системи дозволять поглибити наші уявлення про механізми їх зв'язку з окремими патологіями. Вважаємо доцільними вивчення HLA як додаткових предикторів виникнення захворювань, для призначення індивідуалізованих методів лікування та профілактики, прогнозу перебігу залежно від наявності певних антигенів в фенотипі.

#### Висновки:

1. Виявлені антигени абсолютного (HLA-A10, -A11, -B14, -B16) та відносного (B17) ризику гПН; А10 та В40 – антигени ризику ХІСС. Протекторами для гПН є А2, А24, В21, В35; у разі ХІСС тенденція до зниження в HLA-фенотипі частоти В12.
2. Для хГН, НС абсолютними (HLA-A24, -A28, а В8 і для гГН) та відносними (А23, А29, В38, В41, В44) предикторами виступають інші антигени; захисну роль грають А9, В12, В16, В18.
3. Наявність в фенотипі HLA-A24 та В52 є факторами ризику ХП та ХПак, останній додатково асоціюється з В8 і В21. Наявність в фенотипі пацієнтів з ХП антигену А24 та 52, підвищує у них ризик безплідності
4. Етіологічну фракцію хГН, НС становлять антигени ІІ класу – DR4 і DR52 (з тенденцією до підвищення DR1), тоді як ХП – DR5.
5. СПЗ як ускладнення ХП і ХПак, а також як самостійна патологія статистично значимо зустрічається у носіїв А24 і А28; А10, В15 і В17 є протекторами розвитку СПЗ.
6. Етіологічною фракцією ДГПЗ є А29 і В38; протектори цього захворювання А9 і А10, а також В17 (так само як і ХПак та СПЗ),.
7. Атрибутивний ризик виникнення РПЗ обумовлюють А25, А29, В40, В44, В49 в фенотипі пацієнта; А1, А10, В5, В13 і В15 є його достовірними протекторами.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

#### Інформація про внесок кожного учасника:

**Колесник М.О.:** концепція та дизайн дослідження нефрологічних хворих, збір та аналіз клінічних даних, редакція і корекція статті;

**Возіанов С.О.:** концепція дослідження урологічних хворих, редакція і корекція статті;

**Дріянська В.Є.:** аналіз літературних джерел та статистичний аналіз HLA-фенотипів нефрологічних хворих, написання частини статті;

**Шуляк О.В.:** дизайн дослідження урологічних хворих, інтерпретація та узагальнення клінічних даних;

**Горпинченко І.І.:** концепція та дизайн дослідження хворих, інтерпретація та узагальнення даних відділу сексопатології та андрології;

**Бондаренко Ю.М.:** відбір та курація урологічних хворих, збір та аналіз клінічних та імунологічних даних, формування бази даних, написання частини статті;

**Величко М.Б.:** організація співробітництва з клінічними урологічними підрозділами;

**Петрина О.П.:** планування досліджень та визначення HLA-фенотипів пацієнтів;

**Черненко В.В.:** збір та аналіз клінічних даних, їх особливостей залежно від HLA-фенотипів;

**Черненко Д.В.:** організація співробітництва з лабораторіями, статистичний аналіз;

**Порошина Т.В.:** імунологічне обстеження урологічних пацієнтів, аналіз отриманих даних, написання частини статті;

**Нуріманов К.Р.:** курація хворих та забір біологічного матеріалу, аналіз та формування бази даних пацієнтів відділу сексопатології та андрології; написання частини статті.

### Література (References):

1. *Lechler R., Warrens HLA in Health and Disease.* Academic Press Limited, London, 2000. – 472 p. ISBN:9780124403154.
2. *Kolesnyk M, Stepanova N, Driyanska V, Rudenko A, Kalinina N, et al.* Pathogenesis of pyelonephritis: what we know and what not. *Ukr J Nephr Dial.* 2011;3(31):34-46. [In Ukrainian].
3. *Couser W, Johnson R.* The etiology of glomerulonephritis: roles of infection and autoimmunity. *Kidney Int.* 2014;86:905–14. doi:10.1038/ki.2014.49.
4. *Zhao Jing-Jie Wang Xi-Bing, Luan Yun, et al.* Association of human leukocyte antigen gene polymorphism and mesangial proliferative glomerulonephritis in a large populationbased study. *Biomedical Reports.* 2013;152:751-756. doi: 10.3892/br.2013.152.
5. *Bandrivsky YL, Bandrivska NN, Vinogradova EN.* Features of HLA-Antigens and their Associative Connections with Pro-Inflammatory Cytokines in Patients with Generalized Periodontitis. *Bulletin of problems of biology and medicine.* 2014;2 part 1 (107):62-65. [In Ukrainian].
6. *Fiorillo M, Paladini F, Tedeschi V, Sorrentino R.* HLA Class I or Class II and Disease Association : Catch the Difference If You Can. *Front Immunol.* 2017;8:1475. doi: 10.3389 / fimmu.2017.01475.
7. *Kuznetsova LV, Vizarko AN, Afonin VV, Rusin EV.* Immunogenetic criteria for predicting the health of an individual when working under conditions of psychoemotional stress. *Medicinal chronograph.* 1999;5(13). [In Russian].
8. *Vozianov AF, Drannik GN, Montag TS, Vaschenko VV, Driyanskaya VV.* The relationship between the activity of cytokine synthesis and the HLA phenotype in patients with chronic urinary chlamydia. *Ukrainian Journal of Dermatology, Venereology, Cosmetology.* 2002;2:57-60 [In Russian].
9. *Drannik GN et al.* HLA-B8 antigen as a possible risk factor for the development of diseases accompanied by an autoimmune component. *Urology and Nephrology.* 1988;№6:20-23. [In Russian].
10. *Gladman Dafna D, Farewell Vernon T.* The role of HLA antigens as indicators of disease progression in psoriatic arthritis Multivariate Relative Risk Model. *Arthritis & rheumatism.* [Internet]. 1995; Vol.38, №6:845-850. <https://doi.org/10.1002/art.1780380619>.
11. *Brown Matthew A.* HLA Class I and II Associations of Ankylosing Spondylitis. 1171. [Internet]. Available from: <https://acr.confex.com/acr/2009/webprogram/Paper16482.html>.
12. *Sahin Z, Bicakcigil M, Aksu K, Kamali S, Akar S, Onen F, et al;* Turkish Takayasu Study Group. Takayasu's arteritis is associated with HLA-B\*52, but not with HLA-B\*51, in Turkey. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(1):R27. doi: 10.1186/ar3730.
13. *Sternes PR, Martin TM, Paley M, Diamond S, Asquith MJ, Brown MA, et al.* HLA-A alleles including HLA-A29 affect the composition of the gut microbiome: a potential clue to the pathogenesis of birdshot retinochoroidopathy. *Sci Rep.* 2020;10:17636. doi: 10.1038/s41598-020-74751-0.
14. *Tsai MC, Singh S, Adland E, Goulder P.* Impact of HLA-B\*52:01-Driven Escape Mutations on Viral Replicative Capacity. *J Virol.* 2020;94(13):e02025-19. doi: 10.1128/JVI.02025-19.
15. *Cho WK, Jung MH, Choi EJ, Choi HB, Kim TG, Suh BK.* Association of HLA alleles with autoimmune thyroid disease in Korean children. *Horm Res Paediatr.* 2011;76(5):328-34. doi: 10.1159/000331134.
16. *Jacobson EM, Huber A, Tomer Y.* The HLA gene complex in thyroid autoimmunity: from epidemiology to etiology. *J Autoimmun.* 2008;30(1-2):58-62. doi:10.1016/j.jaut.2007.11.010
17. *Dendrou CA, Petersen J, Rossjohn J, Fugger L.* HLA variation and disease. *Nat Rev Immunol.* 2018;18 (5):325-339. doi: 10.1038/nri.2017.143.
18. *Kolesnyk MO, Dryanska VE, Velychko MB, Drannik GM, Petryna OP, Nepomnyashchy VM.* Associative connections of HLA with high levels of proinflammatory blood cytokines in of patients with chronic glomerulonephritis. *Ukr J*

- Nephrol Dial. 2017;1(53):35-41. doi: 10.31450/ukrjnd.1(53).2017.06. [In Ukrainian].
19. Larizza D, Martinetti Bianchi M, Lorini R, et al. Autoimmunity, HLA, Gm AND Km Polymorphisms in Turner's Syndrome. Autoimmunity. [Internet]. 1989;4(1-2):69-78. doi: 10.3109/08916938909034361.
  20. Akirov Amit. An Update for Rheumatologists on the Diagnosis and Management of Axial Psoriatic Arthritis. Rheumatology Advisor. [Internet]. 2021. Available from: <https://www.rheumatologyadvisor.com/home/topics/psoriatic-arthritis/diagnosis-management-axial-involvement-psoriatic-arthritis-update-rheumatologists/>.
  21. Antón LC, Yewdell JW. Translating DriPs: MHC class I immunosurveillance of pathogens and tumors. J Leukoc Biol. 2014;95(4):551–562. doi: 10.1189/jlb.1113599.
  22. Bonamigo RR, Carvalho AV, Sebastiani VR, Silva CM, Pinto AC. HLA and skin cancer. An Bras Dermatol. 2012;87(1):9-16; quiz 17-8. doi: 10.1590/s0365-05962012000100001.
  23. Kuiper JJW, Venema WJ. HLA-A29 and Birdshot Uveitis: Further Down the Rabbit Hole. Front Immunol. 2020;11:599558. doi: 10.3389/fimmu.2020.599558.