

ЛЮПУСНЫЙ НЕФРИТ И ВЫДЕЛЕНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ ПОЧЕК

Вохидова Зебо Толибовна

Стажер-ассистент Кафедры оперативная хирургия и топографической
анатомия

Самаркандский государственный медицинский университет

Аннотация

Значительным последствием системной красной волчанки (СКВ) является повреждение почек, которое затрагивает не менее 20% лиц, подверженных риску развития терминальной стадии почечной недостаточности (ТПН). Предотвращение инфильтрации иммунных клеток в почки может замедлить развитие люпусного нефрита, поскольку эта инфильтрация тесно связана с заболеванием.

Для изучения роли инфильтрирующих почки лейкоцитов требуются эффективные и воспроизводимые методы выделения.

Ключевые слова: суррогатные биомаркеры, люпусный нефрит, биопсия почек, стратификация, индивидуализированная медицина.

LUPUS NEPHRITIS AND THE ISOLATION OF KIDNEY LEUKOCYTE

Voxidova Zebo Tolibovna

Stajor-assistant Department of Operative Surgery and Topographic

Anatomy

Samarkand State Medical University

Abstract

A significant consequence of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is renal damage, which affects at least 20% of individuals who are at risk of developing end-stage renal disease (ESRD). Preventing immune cell infiltration into the kidneys may decrease the evolution of lupus nephritis because this infiltration is intimately associated with the disease.

To examine the role of kidney-infiltrating leukocytes, efficient and reproducible isolation techniques are required.

Keywords: surrogate biomarkers, lupus nephritis, renal biopsy, stratification, and individualized medication.

Введение

Нефрит, распространённая и опасная особенность многих аутоиммунных заболеваний, приводит к серьёзной патологии и почечной недостаточности, что значительно увеличивает риск заболеваемости и смертности (Anders & Rovin, 2016; Davidson, 2016; McGaha & Madaio, 2014; Yu et al., 2017). Нефрит может иметь различные проявления и причины в зависимости от связанного с ним аутоиммунного заболевания. Повреждение почек часто вызвано отложением иммунных комплексов в клубочках, что вызывает местное воспаление и привлечение провоспалительных иммунных клеток.

Использование экспериментальных моделей СКВ помогло прояснить механизмы аутоиммунного нефрита. Индуцируемые модели используются для воспроизведения патофизиологии заболевания, например, путём введения аутореактивных антител, нацеленных на такие компоненты, как базальная мембрана клубочков (Reynolds, 2011) или мегалин (Spicer et al., 2007). Поскольку у этих животных отсутствует ингибирующий рецептор Fcγ для IgG, они демонстрируют гиперактивные ответы В-клеток и усиленный воспалительный ответ на иммунные комплексы, содержащие IgG. Как и в случае СКВ у людей, дефицит FcγRIIb вызывает спонтанную аутоиммунную патологию, включая спленомегалию, анемию, системную иммунную активацию, выработку антинуклеарных антител и смертельный нефрит (Bolland & Ravetch, 2000; Bolland et al., 2002; Tarasenko et al., 2007).

Оценка функции почек: анализ протеинурии

Для эффективного выделения инфильтрирующих почки лейкоцитов экспериментальных мышей обычно выбирают на поздних стадиях повреждения почек, когда инфильтрация иммунных клеток более выражена. У живых животных функцию почек можно оценивать по уровню креатинина в крови или азота мочевины крови (АМК). Однако частый забор крови в течение длительного времени может увеличить вариабельность, особенно в аутоиммунных моделях, как это требуется при исследовании прогрессирования заболевания. Регулярные заборы крови также могут повысить восприимчивость животного к инфекциям и изменить состав крови.

Материалы и методы

Сбор данных

Для подсчёта количества лейкоцитов, проникших в каждую почку: Для оценки образцов используется проточная цитометрия. Все образцы должны обрабатываться с одинаковыми параметрами, такими как одинаковое время сбора данных и объём образца, чтобы обеспечить точные сравнения.

Анализ проточной цитометрии

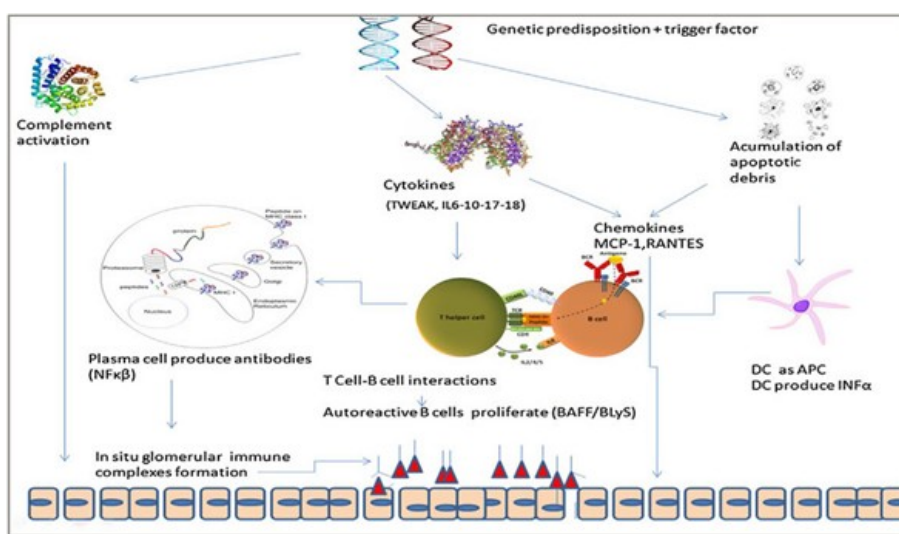
Для анализа результатов проточной цитометрии используется программное обеспечение FlowJo (Tree Star) или аналогичное.

Циркулирующие лейкоциты идентифицируются с использованием антитела CD45.2, конъюгированного с BV421.

Мыши без инъекций используются в качестве отрицательного контроля, а мыши, получившие инъекции, — в качестве положительного контроля.

Образцы крови помогают определить правильные ворота.

Эта техника помогает различать циркулирующие и инфильтрирующие лейкоциты и точно измерять присутствие иммунных клеток в ткани почек.



Патогенез люпусного нефрита

Хотя геномные исследования связали ряд генов с люпусным нефритом (ЛН), каждый ген лишь незначительно увеличивает риск системной красной волчанки (СКВ). Развитие заболевания дополнительно осложняется дисрегуляцией иммунной системы, на которую влияют экологические, гормональные и эпигенетические факторы. Наиболее вероятной причиной ЛН является образование иммунных комплексов в почках, в частности между внеклеточным хроматином в клубочках и циркулирующими антихроматиновыми антителами. Эти аутоантитела вызваны недостаточной очисткой нейтрофилами и макрофагами апоптотических клеток и повышенным оборотом воспалительных клеток.

Результаты и обсуждение

1. Маркер протеинурии

В модели FcγRIIb[KO] тяжесть протеинурии прямо коррелирует с уровнем инфильтрации лейкоцитов в почки. У самцов мышей признаки протеинурии обычно начинают проявляться примерно в возрасте 5 месяцев, тогда как у самок заболевание обычно развивается раньше.

2. Управление реагентами: светочувствительность

Флуорохром-конъюгированные антитела чувствительны к свету. Сократите воздействие света на животных сразу после введения инъекций, чтобы сохранить их целостность.

3. Выбор флуорохромов и антител

Антитела CD45.2 BV421 и CD45.2 PE-Cy7 обеспечили наиболее чёткие сигналы разделения среди протестированных вариантов при анализе на проточном цитометре LSR II (BD Biosciences).

Воспаление почек усугубляется локальной выработкой антител в почках, развитием лимфоидной ткани в тубулоинтерстициальной области и активацией системы комплемента. Активация дендритных клеток (DC) приводит к выработке большего количества интерферона (IFN) и усиливает презентацию антигенов за счёт повышения экспрессии МНС класса II. В-клетки затем побуждаются к превращению в плазматические клетки, которые выделяют антитела, в то время как Т-клетки активируются. У пациентов с СКВ часто наблюдаются повышенные уровни интерферона и усиленная экспрессия мРНК лейкоцитов.

Воспалительный цикл продолжается, и повторяющиеся эпизоды нефрита возникают из-за выработки провоспалительных цитокинов и хемокинов лейкоцитами и клетками почек в ответ на иммунные комплексы и компоненты комплемента.

Заключение

Оценка инфильтрации иммунных клеток в почки требует точных и эффективных методов из-за сложности и вариабельности аутоиммунных расстройств, особенно люпусного гломерулонефрита в мышинных моделях. Эта процедура использует мышиную модель с нокаутом FcγRIIb (FcγRIIb[KO]) для анализа инфильтрации лейкоцитов в почки контролируемым и надёжным образом. Эта модель демонстрирует высокую корреляцию между инфильтрацией иммунных клеток и повреждением почек, а степень протеинурии согласуется с этой связью. Мониторинг уровня протеинурии прост и может быть выполнен с помощью базовых анализов мочи.

Список литературы

1. Anders HJ, Rovin BH. Подход к диагностике и лечению люпусного нефрита на основе патофизиологии.
2. Anders HJ, Jayne DR, Rovin BH. Препятствия для внедрения новых методов лечения иммуноопосредованных заболеваний почек. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(4):205–216.
3. Anders HJ, Fogo AB. Иммунопатология люпусного нефрита. *Semin Immunopathol.* 2014;36(4):443–459.

4. Bolland S, et al. Спонтанное аутоиммунное заболевание у мышей с дефицитом FcγRIIB связано со штамм-специфическим эпистазом.
5. McGaha TL, et al. Люпусный нефрит: моделирование сложного синдрома заболевания у животных. Drug Discovery Today: Disease Models. (2014)
6. Bolland S, et al. Генетические модификаторы системной красной волчанки у мышей FcγRIIB^{-/-}. Journal of Experimental Medicine. (2002)