

ТАРАДИЙ Н. Н.¹, БАГДАСАРОВА И. В.^{1,2},
МАНДЗЮК Я. П.¹, БАГДАСАРОВА Р. В.¹

ЭКСПРЕССИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ МАРКЕРОВ IN VIVO И IN VITRO У ДЕТЕЙ С НЕФРОТИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА

¹Международный центр астрономических и медико-экологических исследований НАНУ

²ГУ «Институт нефрологии НАМН Украины»

ВВЕДЕНИЕ. Эффективность лечения нефротической формы (НФ) хронического гломерулонефрита (ХГН) у детей зависит от чувствительности к стероидной терапии, так как при лечении хронических иммуновоспалительных заболеваний глюкокортикоиды (ГК) способны вызывать лимфопению, ингибировать пролиферацию и дифференцировку иммунокомпетентных клеток (ИКК), влияют на экспрессию рецепторов к цитокинам. Определение гормоночувствительности (ГЧ) в активной стадии НФ ХГН позволяет определить длительность максимальных и поддерживающих доз ГК для достижения эффективности лечения, а при диагностированной частичной или полной гормонорезистентности (ГР) – определить сроки назначения неселективных и селективных иммунодепрессантов (ИД).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – изучить *in vivo* и *in vitro* базальную и модулирующую экспрессию дифференцированных маркеров иммунокомпетентных клеток (ИКК) CD3, CD4, CD7, CD8, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45, CD95 и мембранных иммуноглобулинов (mIg) M, A, G и D у ГЧ и ГР пациентов с НФ ХГН.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. В исследование было включено 63 ребенка в возрасте от 2 до 16 лет (ГЧ документирована у 39 (61,9%) детей, ГР- у 24 (38,1%)). ИКК выделяли из венозной крови, стабилизированной ЭДТА. ИКК преинкубировали с терапевтическими дозами дексаметазона (ДЗ)- модулированная экспрессия. Контролем служили ИКК без преинкубации с препаратами - базальная экспрессия. Дифференцированные маркеры исследовали с помощью флуоресцентных моноклональных сывороток, меченных FITC, Cy5, PE. Дислокацию и экспрессию маркеров определяли с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. При НФ ХГН у детей наблюдается снижение экспрессии только CD3 маркера. Все остальные маркеры проявляли тенденцию к повышению. Статистически достоверным является возрастание экспрессии CD4, CD20, CD22, CD25, CD45 и mIg A, D, G, M. У ГЧ больных ИКК экспрессируют маркер для связывания антигенов CD3 аналогично контрольной группе, тогда как у ГР пациентов уровень экспрессии снижен в 1,8 раза. Экспрессия хелперного маркера CD4 равнозначна у ГР больных с контролем, а в группе ГЧ она снижена. Экспрессия маркеров CD8 и CD7 идентична для обеих групп. Значительные различия между группами ГЧ и ГР больных отмечаются в экспрессии маркеров CD20, CD22 и CD45. У ГЧ больных ИКК экспрессируют большее число маркеров, которые формируют каналы для Ca²⁺ в мембране- CD20, связывают сиа-локонъюгаты и ответственны за адгезию- CD22, через активацию CD45 усиливают сигналы с TCR, BCR. У ГЧ больных в 1,6 раза выше активация экспрессии CD25(IL2R), а так же высокая экспрессия mIg A, D, M. Базальная экспрессия маркеров CD7, CD16, mIg G, D, M *in vitro* также выше у ГЧ больных. *In vivo* экспрессия CD7 статистически не отличается у ГЧ и ГР пациентов, тогда как после модуляции ДЗ *in vitro* наблюдается значительное возрастание экспрессии у ГЧ больных.

Кроме количественных особенностей экспрессии в группах ГЧ и ГР больных наблюдаются значительные цитоморфологические различия в характере свечения мембран ИКК базальной экспрессии. При исследовании с помощью КЛСМ базальная экспрессия маркера CD7 у ГЧ больных характеризуется равномерным плотным мембранным свечением по всей поверхности клетки, тогда как у ГР больных прослеживается повреждение клеточной мембраны в виде прерывистости свечения маркера с точечно-рецепторной экспрессией. Базальная экспрессия маркера апоптоза CD95 идентична в обеих группах, а при иммуномодуляции ИКК с терапевтической дозой ДЗ экспрессия CD95 возрастает у ГЧ больных, а у ГР приводит к элиминации маркера. Элиминация Fas (CD95) маркера у ГР больных указывает на мембранные нарушения в ИКК. Базальная экспрессия mIgA не связана с чувствительностью к ГК, но в ответ на ДЗ более значительно усиливается у ГЧ больных. *In vivo* экспрессия CD16 не различается между группами, тогда как *in vitro* определяется значительная активизация в ответ на модуляцию у ГЧ и элиминацию маркера у ГР больных. В общей группе обследуемых детей с НФ ХГН экспрессия CD16 характеризуется низкой вариабельностью, тогда как при модуляции ДЗ выявляется высокая экспрессия маркера у ГЧ пациентов (в 3 раза и более) по сравнению с ГР. Базальная экспрессия IgA не зависит от чувствительности к ГК, но значительно усиливается у ГЧ больных в ответ на иммуномодулятор *in vitro*. Послойное сканирование клеток при КЛСМ у ГР больных выявляет плотное и вуалеподобное траслоцирование mIgA в мембрану с признаками разрыва поверхностной мембраны. Базальная экспрессия mIgM выше у ГЧ больных и усиливается в 2 раза при модуляции ДЗ, в отличие от ГР больных, у которых прекондиционирование ДЗ вызывает элиминацию маркера. Экспрес-

сия mIgD значительно отличается между группами по базальной экспрессии и по реакции на препарат: клетки ГЧ больных в 1,5-3 раза активнее экспрессировали маркер, чем клетки ГР больных.

ВЫВОДЫ. Таким образом, полученные показатели базальной и модулированной экспрессии дифференцировочных маркеров *in vivo* и *in vitro* следует использовать как информативные маркеры, прогнозируемой чувствительности к стероидам, что позволит индивидуализировать объем лечебных мероприятий у детей с НФ ХГН, оптимизировать эффективность лечения, направленную на предупреждение прогрессирования патологического процесса в почках с исходом в хроническую почечную недостаточность у детей.