

УДК 616.611-002

ХАРАКТЕРИСТИКА $\gamma\delta$ T-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С IGA-НЕФРОПАТИЕЙ

**А. В. СВИРСКАЯ¹⁾, Д. Б. НИЖЕГОРОВОДА^{1),2)}, К. С. КОМИССАРОВ^{2),3)},
Е. И. МИНЧЕНКО⁴⁾, В. С. ПИЛОТОВИЧ²⁾, М. М. ЗАФРАНСКАЯ^{1),2)}**

¹⁾Международный государственный экологический институт
им. А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

²⁾Белорусская медицинская академия последипломного образования,
ул. Петруся Бровки, 3, корпус 3, 220013, г. Минск, Беларусь

³⁾Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии,
ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Беларусь

⁴⁾1-я городская клиническая больница,
пр. Независимости, 64, 220013, г. Минск, Беларусь

В настоящее время IgA-нефропатия является самой распространенной формой первичного гломерулонефрита, приводящей к развитию терминальной стадии почечной недостаточности. Ее причинами являются не только генетические, но и экологические факторы, способствующие эпигенетическим изменениям как в клеточном, так и гуморальном звене иммунитета. Основными триггерами хронического аутоиммунного воспаления при IgA-нефропатии являются такие факторы окружающей среды, как промышленные поллютанты, инфекционные агенты, аллергены и нефротоксические ксенобиотики, которые приводят не только к нарушению продукции иммуноглобулина А в слизистых оболочках, но и к изменению состава микробиоты и мукозальных лимфоидных клеток, в том числе минорной популяции $\gamma\delta$ T-лимфоцитов. В данном исследовании определен субпопуляционный состав, активационный потенциал и цитотоксическая активность $\gamma\delta$ T-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией, а также выявлена взаимосвязь иммунологических параметров различных субпопуляций $\gamma\delta$ T-клеток с биохимическими и гистологическими показателями

Образец цитирования:

Свирская АВ, Нижегородова ДБ, Комиссаров КС, Минченко ЕИ, Пилотович ВС, Зафранская ММ. Характеристика $\gamma\delta$ T-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология.* 2021;3:82–89.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2021-3-82-89>

For citation:

Svirskaya AV, Nizheharodava DB, Komissarov KS, Minchenko EI, Pilotovich VS, Zafranskaya MM. $\gamma\delta$ T-lymphocytes in patients with IgA-nephropathy. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:82–89. Russian.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2021-3-82-89>

Авторы:

Алеся Валерьевна Свирская – магистрант кафедры иммунологии.

Дарья Борисовна Нижегородова – кандидат биологических наук, доцент; ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории; доцент кафедры иммунологии.

Кирилл Сергеевич Комиссаров – кандидат медицинских наук, доцент; доцент кафедры трансплантологии; заведующий отделом нефрологии, почечно-заместительной терапии и трансплантации почки МНПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии.

Елена Ивановна Минченко – врач-нефролог высшей квалификационной категории нефрологического отделения.

Валерий Станиславович Пилотович – доктор медицинских наук, профессор; профессор кафедры урологии и нефрологии.

Марина Михайловна Зафранская – доктор медицинских наук, доцент; заведующий кафедрой иммунологии; главный научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории.

Authors:

Alesia V. Svirskaya, master's student at the department of immunology.

alesjswirskay@mail.ru

Darya B. Nizheharodava, PhD (biology), docent; associate professor at the department of immunology; leading researcher at the department of immunology and biomedicine technology, scientific research labor.

nzh@tut.by

Kirill S. Komissarov, PhD (medicine), docent; associate professor at the department of transplantology; head of the department of nephrology, kidney replacement therapy and kidney transplantation, MSPC of surgery, transplantology and hematology.

kirill_ka@tut.by

Elena I. Minchenko, nephrologist of the highest qualification category of the nephrological.

elena-nephro.tut.by

Valery S. Pilotovich, doctor of science (medicine), professor; professor at the department of urology and nephrology.

urobelmapo@tut.by

Marina M. Zafranskaya, doctor of science (medicine), docent; head of the department of immunology; chief researcher at the department of immunology and biomedicine technology, scientific research laboratory.

zafranskaya@gmail.com

прогрессирования заболевания. У пациентов с IgA-нефропатией установлено перераспределение субпопуляций $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в периферической крови, характеризующееся преобладанием ткане-резидентных клеток ($V\delta 1^+$ и $V\delta 3^+$ T-лимфоцитов) и статистически значимым снижением доминирующей субпопуляции $V\delta 2^+$ T-лимфоцитов относительно контрольной группы. Показано, что субпопуляции $\gamma\delta$ T-лимфоцитов не характеризовались цитотоксической активностью, однако выявленное повышение экспрессии активационной молекулы HLA-DR на $V\delta 1^+$ и $V\delta 3^+$ T-лимфоцитах свидетельствует о возможной антиген-презентирующей способности данных клеток. Полученные результаты могут быть использованы в качестве потенциальных биомаркеров в ранней диагностике аутоиммунной патологии почек.

Ключевые слова: IgA-нефропатия; экологический фактор; эпигенетика; $\gamma\delta$ T-лимфоциты; проточная цитофлуориметрия; аутоиммунная патология.

$\gamma\delta$ T-LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH IgA-NEPHROPATHY

A. V. SVIRSKAYA^a, D. B. NIZHEHARODAVA^{a,b}, K. S. KOMISSAROV^{b,c},
E. I. MINCHENKO^d, V. S. PILOTOVICH^b, M. M. ZAFRANSKAYA^{a,b}

^aInternational Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,
23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

^bBelarusian Medical Academy of Post-Graduate Education,
3 Petrusia Broŭki Street, 3 building, Minsk 220013, Belarus

^cMinsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology,
8 Siamashka Street, Minsk 220045, Belarus

^d1st City Clinical Hospital,
64 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220013, Belarus

Corresponding author: A. V. Svirskaya (alesjswirskay@mail.ru)

Currently, IgA-nephropathy is the most common form of primary glomerulonephritis resulted in the development of end-stage renal failure, the causes of which are not only genetic, but also environmental factors that contribute to epigenetic changes in the both cellular and humoral immunity. The main triggers of chronic autoimmune inflammation in IgA-nephropathy are environmental factors such as industrial pollutants, infectious agents, allergens and nephrotoxic xenobiotics resulted in not only the disruption of immunoglobulin A production in mucosae but also changes in the composition of microbiota and mucosal lymphoid cells, including the minor population of $\gamma\delta$ T-lymphocytes.

In this study, the composition of $\gamma\delta$ T-cells subsets, their activation potential and cytotoxic activity were determined as well as the correlation of $\gamma\delta$ T-cells immunophenotype with biochemical and histological parameters of disease progression were established in patients with IgA-nephropathy. The redistribution of $\gamma\delta$ T-lymphocytes subsets in peripheral blood of patients with IgA-nephropathy was found characterizing by a predominance of tissue-resident cells ($V\delta 1^+$ and $V\delta 3^+$ T-lymphocytes) and a statistically significant decrease of $V\delta 2^+$ T-cells subpopulation as compared to the control group. It was shown that $\gamma\delta$ T-lymphocytes did not demonstrate the cytotoxic activity, however, the detected increase of activated marker HLA-DR expression on $V\delta 1^+$ and $V\delta 3^+$ T-lymphocytes indicated their possible antigen-presenting role in disease pathogenesis. The obtained results can be used as potential biomarkers in the early diagnosis of autoimmune kidney pathology.

Keywords: IgA-nephropathy; environmental factor; epigenetics; $\gamma\delta$ T-lymphocytes; flow cytometry; autoimmune pathology.

Введение

IgA-нефропатия представляет собой аутоиммунное заболевание, характеризующееся накоплением депозитов легких цепей (κ и λ) иммуноглобулина класса А (IgA) и реже – класса G в мезангиуме почечных клубочков, что приводит к инициации иммунокомплексного воспаления, повреждению почечных клубочков и развитию почечной недостаточности. Причинами развития IgA-нефропатии могут выступать не только генетическая предрасположенность, но и различные экологические факторы, среди которых выделяют: загрязнение окружающей среды (воздуха, воды и почвы) тяжелыми металлами, продуктами сельскохозяйственной химии и промышленными отходами; инфекционные агенты, белковые компоненты которых схожи с поверхностными протеинами почечной ткани; нефротоксические ксенобиотики растительного происхождения, содержащие аристолоховую кислоту; аллергены и эндемичные особенности пищевого рациона, которые приводят к повреждению слизистых оболочек [1].

Согласно литературным данным, у 80 % пациентов с IgA-нефропатией в период обострения наблюдаются инфекции верхних дыхательных путей, ассоциированные с некоторыми вирусами или грамположительными бактериями, отмечается дисрегуляция мукозального иммунитета, что часто обусловлено сезонными изменениями и экологической обстановкой в регионе. При этом в результате феномена молекулярной

мимикрии синтезируются антитела, способные распознавать не только инфекционные агенты, но и перекрестно реагировать с галактозо-дефицитным IgA [2]. Еще одним триггерным фактором развития IgA-нефропатии может являться аллергическая реакция на пищевые и бытовые аллергены, которая приводит к нарушению формирования IgA и последующему образованию иммунных комплексов [3]. Частая ассоциация IgA-нефропатии с аутоиммунной патологией слизистых оболочек (целиакия, воспалительные заболевания кишечника) предполагает активное вовлечение микробиоты желудочно-кишечного тракта и роль диеты в инициации хронического воспаления и дисбаланса мукозальных лимфоидных клеток [1; 2].

В совокупности с генетической предрасположенностью экологические факторы участвуют в инициации эпигенетических изменений пострасплайционной модификации IgA, иммунные комплексы с которым впоследствии откладываются в тканях почек и приводят к развитию почечной недостаточности. Таким образом, во всем мире, в том числе и в Республике Беларусь, IgA-нефропатия является наиболее распространенной формой первичных гломерулонефритов [1] и представляет собой актуальную социально-значимую проблему в современной нефрологии и иммунологии.

Иммунопатогенез IgA-нефропатии характеризуется активацией как клеточного, так и гуморального звена иммунной системы. Однако если роль В-лимфоцитов и системы комплемента хорошо изучена при IgA-нефропатии, то механизмы вовлечения популяций Т-лимфоцитов до сих пор остаются объектом пристального исследования. Рядом авторов показано, что при IgA-нефропатии выявляется перераспределение циркулирующих Т-клеток, характеризующееся увеличением классических $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, в частности, хелперных популяций Th2-, Tfh-, Th17-, Th22-клеток, а также минорной популяции $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, наряду со снижением Th1- и Treg-клеток [2; 3]. При этом полученные данные о роли $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в патогенезе IgA-нефропатии не многочисленны и противоречивы [4], что объясняется высокой гетерогенностью данной популяции.

$\gamma\delta$ Т-клетки представляют собой минорную лимфоидную популяцию, экспрессирующую Т-клеточный рецептор (TCR), состоящий из γ - и δ -цепей, и характеризующуюся структурным и функциональным разнообразием. Основными областями локализации $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов преимущественно являются слизистые оболочки и ткани (кишечник, кожа, легкие), в то время как в периферической крови $\gamma\delta$ Т-клетки составляют 1–10 % от циркулирующих Т-лимфоцитов. На основе экспрессии V δ -цепи выделяют три основные субпопуляции $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов (V δ 1⁺, V δ 2⁺, V δ 3⁺-клетки), при этом каждая субпопуляция имеет свои функциональные особенности [4; 5].

Обладая как врожденными, так и адаптивными свойствами $\gamma\delta$ Т-клетки являются посредниками видовой и специфического иммунитета и участвуют в различных иммунных реакциях: быстро активируются и пролиферируют в ответ на аутоантигены, опухолевые и микробные антигены; способны проявлять цитотоксическую активность, опосредуемую синтезом гранзимов и перфоринов; участвуют в антитело-зависимой клеточной цитотоксичности за счет экспрессии Fc γ RIII; обладают антиген-презентирующей функцией, что является ключевыми моментами в развитии иммунного воспаления при различных хронических и аутоиммунных заболеваниях [5]. С другой стороны, $\gamma\delta$ Т-лимфоциты могут выполнять иммунорегуляторную функцию, опосредованную синтезом противовоспалительных цитокинов и участием в репарации тканей [6; 7].

В настоящее время антигенная специфичность и физиологические функции $\gamma\delta$ Т-клеток ограничены в нашем понимании, однако данные клетки обладают иммунными функциями, аналогичными с классическими $\alpha\beta$ Т-лимфоцитами и натуральными киллерами, которые могут существенно изменяться в условиях формирования аутоиммунной патологии, в частности при IgA-нефропатии. Поэтому важным остается не только изучение количественных характеристик, но и оценка статуса активации $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов и их цитотоксического профиля [8], что может быть использовано в качестве биомаркера в диагностике аутоиммунной патологии почек.

Таким образом, цель данного исследования – оценка субпопуляционного состава $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в периферической крови, их активационного статуса и цитотоксической активности у пациентов с IgA-нефропатией.

Материалы и методы исследования

Материалом исследования явилась периферическая венозная кровь 20 пациентов с IgA-нефропатией в возрасте 32,0 (28,0–39,0) лет (10 мужчин, 10 женщин) и 14 здоровых доноров в возрасте 38,0 (30,3–52,5) лет (6 мужчин, 8 женщин).

Диагноз IgA-нефропатии подтверждали в биоптатах пациентов по Оксфордской классификации (MEST-C), включающую мезангиальную пролиферацию (M), эндотелиальную пролиферацию (E), сегментарный гломерулосклероз (S), тубулярную атрофию (T), полулуния (C) [4; 5]. У пациентов с IgA-нефропатией наиболее часто встречались острые пролиферативно-воспалительные изменения в клубочках: мезангиальная пролиферация (M1) наблюдалась в 90 % случаев, эндотелиальная пролиферация (E1) – у 45 % пациентов, клеточные полулуния (C1) выявлены у 30 % человека. Из хронических склеротических повреждений чаще отмечался сегментарный склероз (S1) – у 70 % пациентов, минимальная атрофия почечных канальцев и интерстициальный склероз (T0) – у 75 % человек, тогда как индекс T1 встречался в 15 % случаев.

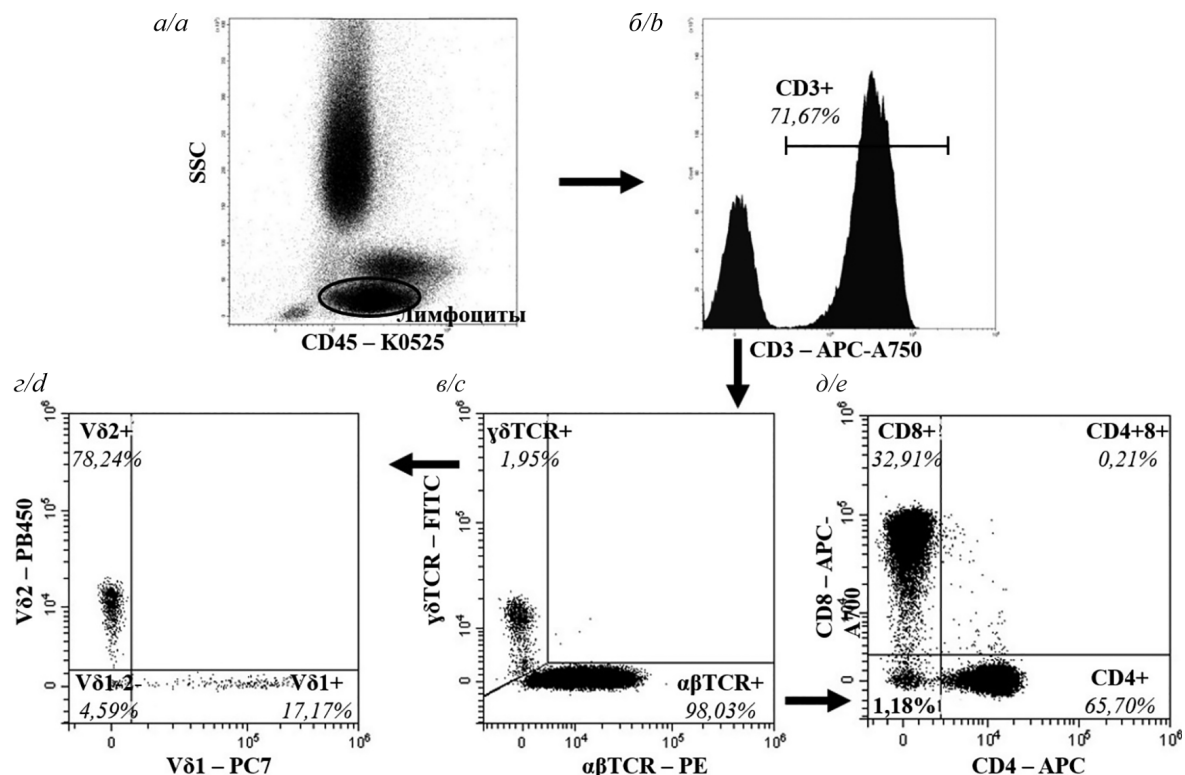
Определение биохимических показателей (концентрация креатинина, гематурия и суточная протеинурия) проводили с использованием диагностических наборов и биохимического анализатора. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали по формуле (1) для мужчин и по формуле (2) для женщин:

$$\text{СКФ} = 1,23 \times \frac{(140 - \text{возраст (годы)}) \times \text{масса тела (кг)}}{\text{креатинин крови (мкмоль/л)}}; \quad (1)$$

$$\text{СКФ} = 1,05 \times \frac{(140 - \text{возраст (годы)}) \times \text{масса тела (кг)}}{\text{креатинин крови (мкмоль/л)}}. \quad (2)$$

У пациентов с IgA-нефропатией медианный показатель протеинурии составил 1000 (400÷1750) мг/сут, креатинина – 79 (72÷91) мкмоль/л, гематурии – 20 (1÷30) клеток в поле зрения, а также скорости клубочковой фильтрации – 92 (85÷110) мл/мин.

Субпопуляции $\gamma\delta$ -лимфоцитов определяли с применением панели антител DuraClone IM TCRs (TCR $\gamma\delta$ -FITC, TCR $\alpha\beta$ -PE, HLA-DR-ECD, TCR V δ 1-PC7, CD4-APC, CD8-A700, CD3-APC-A750, TCR V δ 2-PB, CD45-KRO, Beckman Coulter, India) и проточного цитометра CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Для иммунофенотипирования 100 мкл цельной крови добавляли в пробирку с моноклональными антителами, перемешивали и инкубировали в течение 15 мин. Эритроциты лизировали раствором VersaLyse (Beckman Coulter, США) в течение 10 мин. Результаты регистрировали на 1000 событий $\gamma\delta$ -лимфоцитов. На рис. 1 представлен алгоритм анализа Т-клеточных субпопуляций после измерения.



a – лимфоциты среди популяции одиночных клеток; *b* – популяция CD3⁺T-лимфоцитов среди всех лимфоцитов; *c* – субпопуляции $\alpha\beta$ T- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов среди CD3⁺T-лимфоцитов; *d* – субпопуляции V δ 1⁺, V δ 2⁺, V δ 3⁺T-лимфоцитов среди $\gamma\delta$ T-лимфоцитов; *e* – субпопуляции CD4⁺ и CD8⁺T-лимфоцитов среди $\alpha\beta$ T-лимфоцитов

Рис. 1. Алгоритм анализа $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ T-клеточных субпопуляций

a – lymphocytes among the population of single cells; *b* – population of CD3⁺T-lymphocytes among all lymphocytes; *c* – subpopulations of $\alpha\beta$ T and $\gamma\delta$ T-lymphocytes among CD3⁺T-lymphocytes; *d* – subpopulations of V δ 1⁺, V δ 2⁺, V δ 3⁺T-lymphocytes among $\gamma\delta$ T-lymphocytes; *e* – subpopulations of CD4⁺ and CD8⁺T-lymphocytes among $\alpha\beta$ T-lymphocytes

Fig. 1. The algorithm of $\alpha\beta$ -and $\gamma\delta$ T-cell subsets analysis

Статистическую обработку данных выполняли в программе STATISTICA 8.0. Сравнение независимых групп проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Корреляционный анализ осуществляли с применением рангового коэффициента корреляции непараметрических данных Спирмена (R). За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Субпопуляционный состав $\gamma\delta$ -лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией. Иммунофенотипическая характеристика лимфоцитов показала, что количество CD3⁺T-лимфоцитов статистически

значимо не различалось у пациентов с IgA-нефропатией и здоровых доноров (66,55 (61,95÷74,01) % и 63,98 (59,46÷71,39) % соответственно). На рис. 2 представлены индивидуальные данные процентного содержания $\alpha\beta$ T- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов у пациента с IgA-нефропатией и здорового донора, которые отражают общую тенденцию количественного распределения клеточных субпопуляций CD3⁺T-лимфоцитов в исследуемых группах. Показано, что у пациентов с IgA-нефропатией наблюдалось статистически значимое увеличение содержания $\gamma\delta$ T-лимфоцитов по сравнению с группой здоровых доноров. На рис. 2 представлены индивидуальные данные пациента с IgA-нефропатией и здорового донора, отражающие общие изменения в исследуемой выборке.

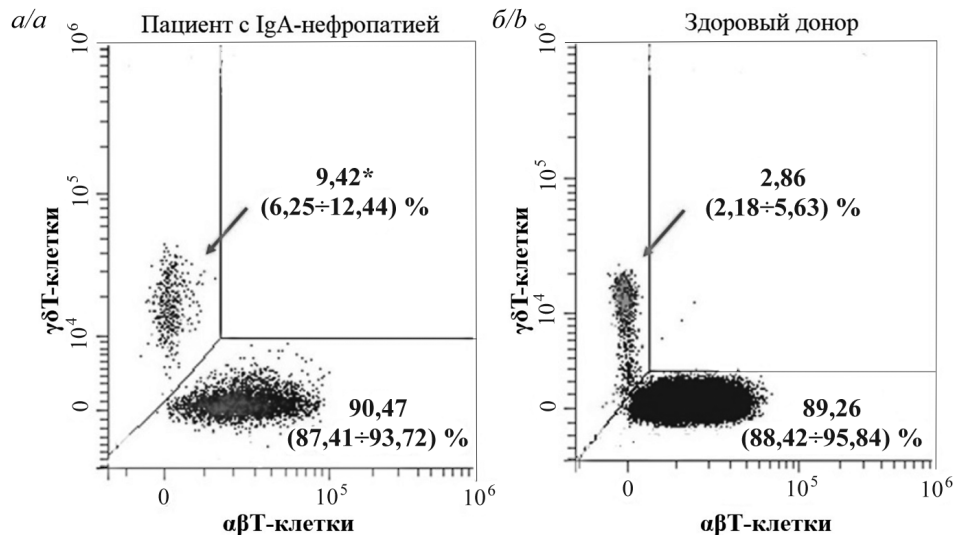


Рис. 2. Распределение $\alpha\beta$ T- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов (%) у пациента с IgA-нефропатией (а) и здорового донора (б)
Примечание. * $p < 0,05$ – статистически значимые различия указаны по отношению к группе здоровых доноров.

Fig. 2. The distribution of $\alpha\beta$ T- and $\gamma\delta$ T-lymphocytes (%) in patient with IgA-nephropathy (a) and healthy donor (b)
Note. * $p < 0,05$ – statistically significant differences are pointed as compared with healthy donors.

Известно, что наряду с классическими T-лимфоцитами в патогенез IgA-нефропатии могут вовлекаться и минорные лимфоидные клетки. В частности, $\gamma\delta$ T-клетки играют важную роль в защитных иммунных реакциях: их способность продуцировать такие цитокины, как интерферон- γ или интерлейкин-17A, позволяет быстро реализовывать механизмы иммунного воспаления на патогенные сигналы при развитии патологий почек. В связи с этим увеличение содержания циркулирующих $\gamma\delta$ T-лимфоцитов может быть результатом активации врожденного клеточного звена иммунитета [8].

При изучении субпопуляционного состава $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, экспрессирующих V δ 1⁺, V δ 2⁺ и V δ 3⁺-домен, обнаружено перераспределение количества данных клеток в периферической крови у пациентов с IgA-нефропатией (табл. 1). Так, выявлено увеличение содержания V δ 1⁺T-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), в то время как процент V δ 2⁺T-лимфоцитов снижался у пациентов по отношению к группе доноров. Уровень V δ 3⁺T-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией характеризовался тенденцией к увеличению относительно группы здоровых доноров ($p = 0,06$).

Согласно литературным данным, V δ 1⁺ и V δ 3⁺ не являются типичными циркулирующими клетками, однако при обнаружении повышения уровня данных клеток у пациентов с IgA-нефропатией можно предположить, что происходит перераспределение циркулирующих и ткане-резидентных клеток для реализации механизмов иммунологического надзора [9]. V δ 1⁺T-лимфоциты обычно расположены в эпителиальном слое кишечника, коже, печени и селезенки, участвуя в поддержании целостности эпителиального барьера. Основными лигандами для V δ 1⁺T-клеток являются неклассические антиген-презентирующие молекулы MICA или MICB, а также члены семейства CD1, презентующие гликолипидные антигены. Многие авторы отмечают пролиферацию V δ 1⁺ и V δ 3⁺T-клеток при инфекциях, вызванных вирусами (цитомегаловирус, ВИЧ и т. д.), внутриклеточными микроорганизмами, грибковыми антигенами, а также при аутоиммунной патологии желудочно-кишечного тракта и онкопатологических состояниях [10].

V δ 2⁺T-лимфоциты очень часто коэкспрессируют цепь V γ 9 и в основном присутствуют в периферической крови, составляя более 90 % периферических циркулирующих $\gamma\delta$ T-клеток. Содержание V δ 2⁺T-лимфоцитов быстро увеличивается во время распознавания фосфоантигенов микробного происхождения, а также экспрессируемых трансформированными клетками. Ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны активируют V γ 9V δ 2⁺T-клетки через TLR или NKG2D, что приводит к быстрой индукции экспрессии цитокинов и хемокинов. Кроме того, такие суперантигены, как токсин синдрома токсического шока и стафилококковые энтеротоксины, способны также активировать V γ 9V δ 2⁺T-клетки [11; 12].

Количество $V\delta 1^+$, $V\delta 2^+$ и $V\delta 3^+$ Т-лимфоцитов (%) у пациентов с IgA-нефропатией и здоровых доноров

Table 1

The number of $V\delta 1^+$, $V\delta 2^+$ and $V\delta 3^+$ Т-lymphocytes (%) in patients with IgA-nephropathy and healthy donors

Субпопуляции $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов	Пациенты с IgA-нефропатией	Здоровые доноры	Уровень значимости, p
$V\delta 1^+$ Т-лимфоциты	27,97 (10,49÷41,97) %	14,60 (4,95÷17,45) %	0,05
$V\delta 2^+$ Т-лимфоциты	61,86 (41,56÷86,34) %	79,84 (71,71÷91,56) %	0,04
$V\delta 3^+$ Т-лимфоциты	9,73 (1,94÷17,13) %	5,47 (2,47÷5,46) %	0,06

Экспрессия активационного маркера HLA-DR на $\gamma\delta$ Т-лимфоцитах у пациентов с IgA-нефропатией.

Для оценки активационного потенциала в исследуемых группах изучена экспрессия HLA-DR на субпопуляциях $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов. На рис. 3 представлены индивидуальные данные пациента с IgA-нефропатией и здорового донора, отражающие общие изменения в экспрессии HLA-DR на $\gamma\delta$ Т-лимфоцитах в исследуемых выборках. У пациентов с IgA-нефропатией выявлено увеличение количества HLA-DR⁺ $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о высоком активационном потенциале $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов и их способности к антигенной презентации [13]. Установлено увеличение количества экспрессирующих HLA-DR $V\delta 1^+$ Т-лимфоцитов (до 21,39 (10,74÷28,65) %) и $V\delta 3^+$ Т-лимфоцитов (до 24,17 (12,28÷35,91) %) у пациентов с IgA-нефропатией. Однако у здоровых доноров содержание HLA-DR⁺ $V\delta 1^+$ и HLA-DR⁺ $V\delta 3^+$ Т-лимфоцитов оставалось на уровне 15,70 (4,41÷15,79) % и 8,77 (4,35÷17,39) %, соответственно, $p < 0,01$.

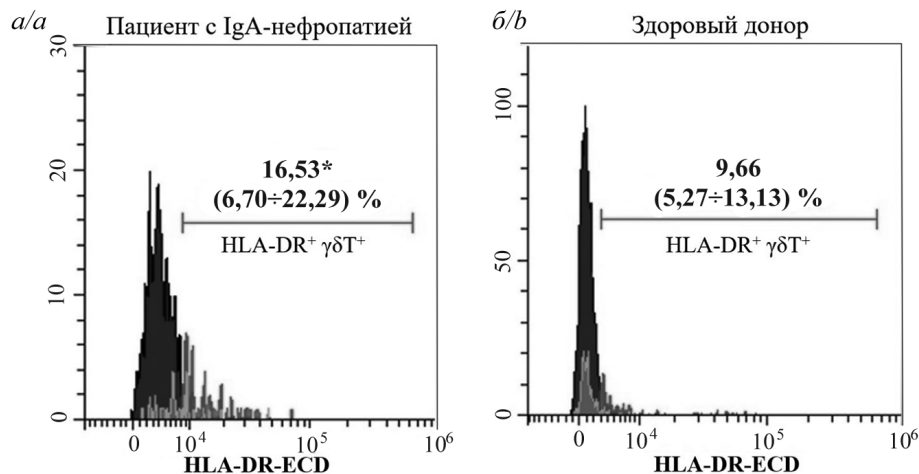


Рис. 3. Уровень экспрессии HLA-DR (%) на $\gamma\delta$ Т-лимфоцитах у пациента с IgA-нефропатией (а) и здорового донора (б)

Примечание. * $p < 0,05$ – статистически значимые различия указаны по отношению к группе здоровых доноров.

Fig. 3. HLA-DR expression (%) on $\gamma\delta$ Т-lymphocytes in patient IgA-nephropathy (a) and healthy donor (b)

Note. * $p < 0,05$ – statistically significant differences are pointed as compared with healthy donors.

Принимая во внимание, что HLA-DR является молекулой главного комплекса гистосовместимости II класса и представляет собой лиганд для TCR, полученные данные о повышении ее экспрессии на $\gamma\delta$ Т-лимфоцитах могут свидетельствовать об их участии в инициации иммунного ответа в качестве клеток, презентующих пептидные антигены [12]. Кроме того, будучи маркером поздней активации, повышенная экспрессия HLA-DR может свидетельствовать также о готовности реализации $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами своего эффекторного функционального потенциала, в частности продукции цитокинов, хемокинов и литических ферментов; выполнении цитотоксической противовирусной активности; индукции созревания дендритных клеток; оказания помощи В-клеткам; презентации антигенов CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеткам [13]. Активированные Т-клетки не только играют важную роль в цитотоксичности и стимулировании воспалительных процессов, но также вызывают дифференцировку и созревание клеток врожденного иммунитета [14].

Характеристика цитотоксичности $\gamma\delta$ T-лимфоцитов у пациентов с *IgA-нефропатией*. Для определения удельного содержания клеток с цитотоксическим функциональным профилем у пациентов с IgA-нефропатией проведена оценка экспрессии корцепторных молекул CD8⁺ на $\gamma\delta$ T-лимфоцитах. В результате исследования выявлено отсутствие статистически значимых различий содержания $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, экспрессирующих CD8⁺, у пациентов с IgA-нефропатией относительно контрольной группой (32,10 (23,19÷42,36) % и 29,27 (18,27÷44,54) % соответственно). Кроме того, не обнаружены статистически значимые различия в субпопуляциях V δ 1⁺, V δ 2⁺, V δ 3⁺-лимфоцитов, экспрессирующих CD8⁺, что свидетельствует о низком цитотоксическом потенциале данных клеток у пациентов с IgA-нефропатией.

Для сравнительной характеристики исследован также субпопуляционный состав $\alpha\beta$ T-лимфоцитов по экспрессии корцепторных молекул CD4 и CD8, которые указывают, соответственно, на принадлежность к популяции Т-хелперов или цитотоксическим лимфоцитам. Установлено статистически значимое снижение количества CD4⁺T-лимфоцитов (52,52 (46,14÷58,70) %) и увеличение CD8⁺T-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией (38,45 (33,17÷42,56) %) по сравнению с группой здоровых доноров (61,51 (56,70÷72,66) % и 29,48 (22,54÷34,60) %, соответственно, $p < 0,05$).

Несмотря на отсутствие изменений в общем количестве Т-лимфоцитов, обнаруженное перераспределение $\alpha\beta$ T-лимфоцитов в сторону цитотоксических может свидетельствовать об эффекторных механизмах, реализуемых лимфоцитами в патогенезе IgA-нефропатии. Известно, что Т-лимфоциты, экспрессирующие CD8⁺ молекулу, после первоначальной активации во вторичных лимфоидных органах инфильтрируют воспаленный участок в виде дифференцированных эффекторных клеток в ответ на локальную продукцию хемоаттрактантов, а затем сохраняются в ткани, со временем реализуя свои механизмы цитотоксичности, что может приводить к повреждающему эффекту [15].

Корреляционный анализ иммунофенотипа $\gamma\delta$ T-лимфоцитов с клинико-морфологическими показателями у пациентов с IgA-нефропатией. Для установления взаимосвязи иммунологических и клинико-морфологических показателей проведен корреляционный анализ, с одной стороны, между биохимическими показателями (гематурия, протеинурия, скорость клубочковой фильтрации, концентрация креатинина) и морфологическими показателями (мезангиальная и эндотелиальная пролиферация, сегментарный гломерулосклероз, тубулярная атрофия, наличие полулуний), а с другой стороны, фенотипом $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и их субпопуляций V δ 1⁺, V δ 2⁺, V δ 3⁺ у пациентов с IgA-нефропатией. На рис. 4 представлены коэффициенты корреляции $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и их субпопуляций у пациентов с IgA-нефропатией с соответствующими показателями.

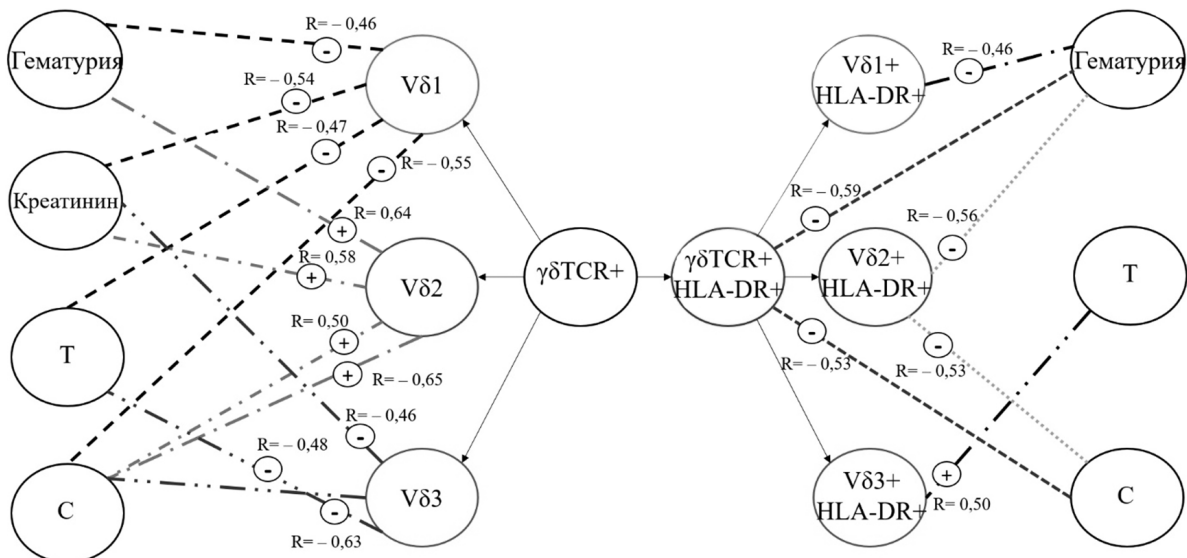


Рис. 4. Корреляция $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и их субпопуляций с клинико-морфологическими показателями:
 С – наличие полулуний; Т – тубулярная атрофия

Fig. 4. Correlation of $\gamma\delta$ T-lymphocytes and their subpopulations with clinical and morphological parameters:
 С – presence of semiluniae; Т – tubular atrophy

У пациентов с IgA-нефропатией выявлена обратная зависимость количества V δ 1⁺T-лимфоцитов от уровня гематурии (R = -0,60; $p = 0,01$) и креатинина (R = -0,54; $p = 0,03$), также от развития тубулярной атрофии (R = -0,47; $p < 0,05$) и наличия полулуний в клубочках (R = -0,55; $p = 0,02$). При этом установлена прямая корреляция количества V δ 2⁺T-лимфоцитов с уровнем гематурии (R = 0,64; $p = 0,01$) и креатинина (R = 0,58; $p = 0,01$), а также с уровнем тубулярной атрофии (R = 0,50; $p = 0,04$) и образование полулуний в гломерулах (R = 0,65; $p = 0,01$). Показано, что содержание V δ 3⁺T-лимфоцитов обратно пропорционально зависело

от показателей гематурии ($R=-0,46$; $p<0,05$), креатинина ($R=-0,48$; $p=0,05$), развития тубулярной атрофии почек ($R=-0,63$; $p=0,01$), а также отмечалась тенденция к образованию полулуний ($R=-0,43$; $p=0,09$).

Наряду с этим, у пациентов с IgA-нефропатией определена обратная корреляция между содержанием $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, экспрессирующих активационную молекулу HLA-DR, и уровнем гематурии ($R=-0,59$; $p=0,01$), как и образованием полулуний ($R=-0,53$; $p=0,03$). При этом выявлена обратная зависимость количества $V\delta 1^+$ HLA-DR⁺T-клеток от уровня гематурии ($R=-0,46$; $p<0,05$). В то время как содержание $V\delta 2^+$ HLA-DR⁺ лимфоцитов обратно пропорционально коррелировало с проявлением гематурии ($R=-0,56$; $p=0,02$) и наличием полулуний в клубочках почек ($R=-0,53$; $p=0,03$). При этом установлена зависимость количества $V\delta 3^+$ HLA-DR⁺ клеток от развития тубулярной атрофии ($R=0,50$; $p=0,04$). Содержание $V\delta 1^+$ T-лимфоцитов, экспрессирующих цитотоксическую молекулу CD8⁺, коррелировало с развитием мезангиальной пролиферации ($R=0,48$; $p=0,05$), в то время как уровень $V\delta 3^+$ CD8⁺-лимфоцитов обратно коррелировал с показателями протеинурии ($R=-0,55$; $p=0,02$).

Заключение

В результате проведенных исследований показано, что гетерогенная популяция $\gamma\delta$ T-лимфоцитов активно вовлекается в патогенез IgA-нефропатии и в зависимости от своего фенотипа может по-разному реализовывать свой потенциал. У пациентов с IgA-нефропатией выявлено увеличение количества ткане-резидентных активированных $V\delta 1^+$ T-клеток в периферической крови, наряду со снижением содержания $V\delta 2^+$ T-клеток, на фоне отсутствия изменений цитотоксических свойств эффекторных субпопуляций, что может быть использовано в качестве биомаркера при дифференциальной диагностике аутоиммунной патологии почек. Установленная обратная корреляция содержания $V\delta 1^+$ - и $V\delta 3^+$ T-лимфоцитов и их активированных форм с развитием гематурии, тубулярной атрофии и наличием полулуний свидетельствует о регуляторной роли данных субпопуляций в патогенезе заболевания. В то время как положительная связь $V\delta 2^+$ T-лимфоцитов с гематурией, тубулярной атрофией и наличием полулуний отражает вовлечение эффекторных механизмов данной популяции в иммунопатогенез IgA-нефропатии. При этом уровень активированных $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и субпопуляций $V\delta 1^+$ и $V\delta 2^+$ T-клеток обратно коррелировал с гематурией и наличием полулуний, что подтверждает их регуляторную роль. Корреляция субпопуляции $V\delta 3^+$ T-лимфоцитов с тубулярной атрофией может свидетельствовать о способности функционировать данной популяции в качестве антиген-презентирующих клеток.

Библиографические ссылки / References

1. Turner J, Becker M, Mittrücker H. Tissue-Resident Lymphocytes in the Kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2018;29:389–399. DOI: 10.1681/ASN.2017060599.
2. Ruzkowski J, Lisowska K, Pindel M. T cells in IgA nephropathy: role in pathogenesis, clinical significance and potential therapeutic target. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2019;23:291–303. DOI:10.1007/s10157-018-1665-0.
3. Kabelitz D. Gamma Delta T Cells ($\gamma\delta$ T Cells) in Health and Disease. In Memory of Professor Wendy Havran. *Cells*. 2020;9:1–7. DOI:10.3390/cells9122564.
4. Chang S, Li X. The Role of Immune Modulation in Pathogenesis of IgA Nephropathy. *Frontiers in Medicine*. 2020;7(92):1–15. DOI: 10.3389/fmed.2020.00092.
5. Hassler JR. IgA nephropathy: A brief review. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2020;37:143–147. DOI: 10.1053/j.semdp.2020.03.001.
6. Sallustio F, Curci C, Leo V, Gallone A, Pesce F, Gesualdo L. A New Vision of IgA Nephropathy: The Missing Link. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(189):1–15. DOI: 10.3390/ijms21010189.
7. Raj DS, Pecoits-Filho R, Kimmel PL. Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Chronic Renal Disease*. 2020;24:355–373. DOI: 10.1016/B978-0-12-815876-0.00024-3.
8. Zhang WR. Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease. *Annual Review of Physiology*. 2019;81:309–333. DOI: 10.1146/annurev-physiol-020518-114605.
9. Rampoldi F, Ullrich L, Prinz I. Revisiting the Interaction of $\gamma\delta$ T-Cells and B-Cells. *Cells*. 2020;9(743):1–11. DOI: 10.3390/cells9030743.
10. Peters C, Kabelitz D, Wesch D. Regulatory functions of $\gamma\delta$ T cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2018;75(12):1–14. DOI: 10.1007/s00018-018-2788-x.
11. Paul S, Giri S, Lal G. Role of gamma-delta ($\gamma\delta$) T Cells in autoimmunity. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015;97:259–271. DOI: 10.1189/jlb.3RU0914-443R.
12. Lee HW, Chung YS, Kim TJ. Heterogeneity of Human $\gamma\delta$ T Cells and Their Role in Cancer Immunity. *Immune Network*. 2020;20(1):1–15. DOI: 10.4110/in.2020.20.e5.
13. Khan U, Ghazanfar H. Lymphocytes and Autoimmunity. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2018;342:1–44. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2018.05.008.
14. Fichtner AS, Ravens S, Prinz I. Human $\gamma\delta$ TCR Repertoires in Health and Disease. *Cells*. 2020;9(800):1–14. DOI: 10.3390/cells9040800.
15. Bank I. The Role of Gamma Delta T Cells in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Cells*. 2020;9(462):1–30. DOI: 10.3390/cells9020462.