

Обучение всех пользователей (онкологов, физиков и техников) безопасному использованию и клинической полезности является обязательным, наряду со знанием дополнительной дозы и возможных рисков, связанных с их использованием. Ни одна технология не идеальна в каждом сценарии, и ни одно учреждение не может объединить все или большинство технологий в одном месте. Только время покажет, какие из этих методов получат более широкую популярность и признание, основываясь на клинической значимости и простоте использования [5].

Использование систем IGRT имеет важное значение для лечения любого участка, где ожидаются отклонения в движении органов. Дополнительные преимущества заключаются в ежедневном мониторинге реакции на лечение, изменений веса и наполненности органов.

На рисунке 1 представлена KV СВСТ объемная визуализация. Можно оценить, как поступательные, так и вращательные ошибки. Поступательные ошибки легко исправляются, в то время как немногие системы имеют положения для исправления вращательных ошибок с помощью вращений кушетки.

а) СВСТ по сравнению с эталонным сканированием до и после коррекции положения в случае карциномы правой молочной железы, постмактэктомии.

б) Коррекция СВСТ в случае карциномы гортани.

в) СВСТ в случае карциномы предстательной железы не только исправляет ошибки позиционирования, но и дает оценку воспроизводимости положения простаты по отношению к наполнению мочевого пузыря. В этом конкретном случае изображение показывает незначительное наполнение мочевого пузыря, и лечение было отложено, чтобы обеспечить оптимальное положение мочевого пузыря для получения воспроизводимого положения простаты, а также перемещения кишечника из поля пучка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jaffray DA. Image-guided radiation therapy: from concept to practice / Seminars in Radiation Oncology. 2007; 17:4:243–244.
2. Wu QJ, T. Li T, Yin FF. Adaptive radiation therapy: technical components and clinical applications / Cancer Journal. 2011;17:3:182–189.
3. Potters L, LGaspar LE, Kavanagh B [et al.]. American Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ASTRO) and American College of Radiology (ACR) practice guidelines for image-guided radiation therapy (IGRT) / International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics. 2010;76:2:319–325.
4. Korreman S, Rasch C, McNair H [et al.]. The European Society of Therapeutic Radiology and Oncology-European Institute of Radiotherapy (ESTRO-EIR) report on 3D CT-based in-room image guidance systems: a practical and technical review and guide / Radiotherapy and Oncology. 2010;94:2:129–144.
5. White E, Kane G. Radiation medicine practice in the image-guided radiation therapy era: new roles and new opportunities / Seminars in Radiation Oncology. 2007;17:4:298– 305.

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ $\gamma\delta$ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С IgA-НЕФРОПАТИЕЙ

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

А. В. Свирская¹, К. С. Комиссаров^{2,3},

Е. И. Минченко⁴, Н. А. Манаева³, Д. Б. Нижегородова^{1,3}

A. Svirskaya¹, K. Komissarov^{2,3}, E. Minchenko⁴, N. Manaeva³, D. Nizhegorodova^{1,3}

¹Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

²Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии,
г. Минск, Республика Беларусь

³Белорусская медицинская академия последипломного образования,
г. Минск, Республика Беларусь

⁴1-я Городская клиническая больница, г. Минск, Республика Беларусь
alesjswirskay@mail.ru

¹Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

²Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Republic of Belarus

³Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Republic of Belarus

⁴1-st City Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

У пациентов с IgA-нефропатией установлено перераспределение субпопуляций $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в периферической крови, характеризующееся преобладанием ткане-резидентных клеток, а также выявлены

изменения их активационного и цитотоксического потенциала относительно контрольной группы, что может являться потенциальными биомаркерами в ранней диагностике аутоиммунной патологии почек.

The redistribution of $\gamma\delta$ T-lymphocytes subpopulations in the peripheral blood characterized by a predominance of tissue-resident cells as well as changes in their activation and cytotoxic potential were established in patients with IgA-nephropathy as compared to healthy donors what may be used as potential biomarkers in the early diagnosis of kidney autoimmune pathology.

Ключевые слова: IgA-нефропатия, $\gamma\delta$ T-лимфоциты, аутоиммунная патология.

Keywords: IgA-nephropathy, $\gamma\delta$ T-lymphocytes, autoimmune pathology.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-103-107>

Введение

$\gamma\delta$ T-клетки представляют собой минорную лимфоидную популяцию, экспрессирующую Т-клеточный рецептор (TCR), состоящий из γ - и δ -цепей, и характеризующуюся разнообразной структурной и функциональной гетерогенностью. $\gamma\delta$ T-лимфоциты локализуются преимущественно в слизистых оболочках и тканях (кишечник, кожа, легкие), в то время как в периферической крови составляют всего 1–5% от циркулирующих Т-лимфоцитов. На основе экспрессии V δ -цепи выделяют три основные субпопуляции $\gamma\delta$ T-лимфоцитов ($V\delta 1^+$, $V\delta 2^+$, $V\delta 3^+$ -клетки), при этом каждая субпопуляция имеет свои функциональные особенности [1].

Обладая как врожденными, так и адаптивными свойствами, $\gamma\delta$ T-клетки являются посредниками видового и специфического иммунитета и участвуют в различных иммунных реакциях: подвергаются быстрой пролиферации в ответ на аутоантигены, опухолевые антигены, инвазию патогенов и развитие иммунного воспаления. Для $\gamma\delta$ T-клеток характерна цитотоксическая активность, опосредуемая синтезом гранзимов и перфоринов, вовлечение в антитело-зависимую клеточную цитотоксичность за счет экспрессии FcγRIII, антиген-презентирующая функция, что является ключевыми моментами в развитии различных хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний, включая IgA-нефропатию. С другой стороны, $\gamma\delta$ T-лимфоциты могут выполнять иммунорегуляторную функцию, медиеванную синтезом противовоспалительных цитокинов и участием в reparации тканей [1, 2].

IgA-нефропатия – это наиболее распространенная форма гломерулонефрита, имеющая социальную значимость во всем мире, в том числе и в Республике Беларусь. Причинами развития IgA-нефропатии могут выступать не только генетическая предрасположенность, но и различные экологические факторы (инфекционные агенты, аллергены и др. ксенобиотики), которые приводят к развитию заболевания. Иммунопатогенез IgA-нефропатии характеризуется накоплением депозитов легких цепей (κ и λ) иммуноглобулина класса A и реже иммуноглобулина класса G в мезангийуме почечных клубочков в результате активации как клеточного, так и гуморального звена иммунной системы. Роль цитотоксических лимфоцитов, хелперных клеток (Th2, Th17, Th22, Tfh) и регуляторных клеток (Tregs) в развитии IgA-нефропатии достаточно хорошо изучена, в то время как минорная популяция $\gamma\delta$ T-лимфоцитов остается объектом пристального изучения, в связи с активным вовлечением в иммунопатогенез аутоиммунной патологии [2].

Целью исследования явилась оценка субпопуляционного состава $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в периферической крови пациентов с IgA-нефропатией.

Материалы и методы

Периферическая венозная кровь получена от 20 пациентов с IgA-нефропатией в возрасте 32,0 (28,0–39,0) года (10 мужчин, 10 женщин) и 14 здоровых доноров в возрасте 38,0 (30,3–52,5) года (6 мужчин, 8 женщин). Диагноз IgA-нефропатии подтверждался в биоптатах пациентов по Оксфордской классификации (MEST-C), включающей мезангимальную пролиферацию (M), эндотелиальную пролиферацию (E), сегментарный гломерулосклероз (S), тубулярную атрофию (T), полулуния (C). Субпопуляции $\gamma\delta$ T-лимфоцитов определялись с применением панели антител DuraClone IM TCRs (TCR $\gamma\delta$ -FITC, TCR $\alpha\beta$ -PE, HLA-DR-ECD, TCR V $\delta 1$ -PC7, CD4-APC, CD8-A700, CD3-APC-A750, TCR V $\delta 2$ -PB, CD45-KRO, Beckman Coulter, India) и проточного цитометра CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Результаты регистрировали на 1000 событий $\gamma\delta$ T-лимфоцитов. На рисунке 1 представлен алгоритм анализа Т-клеточных субпопуляций.

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

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

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

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

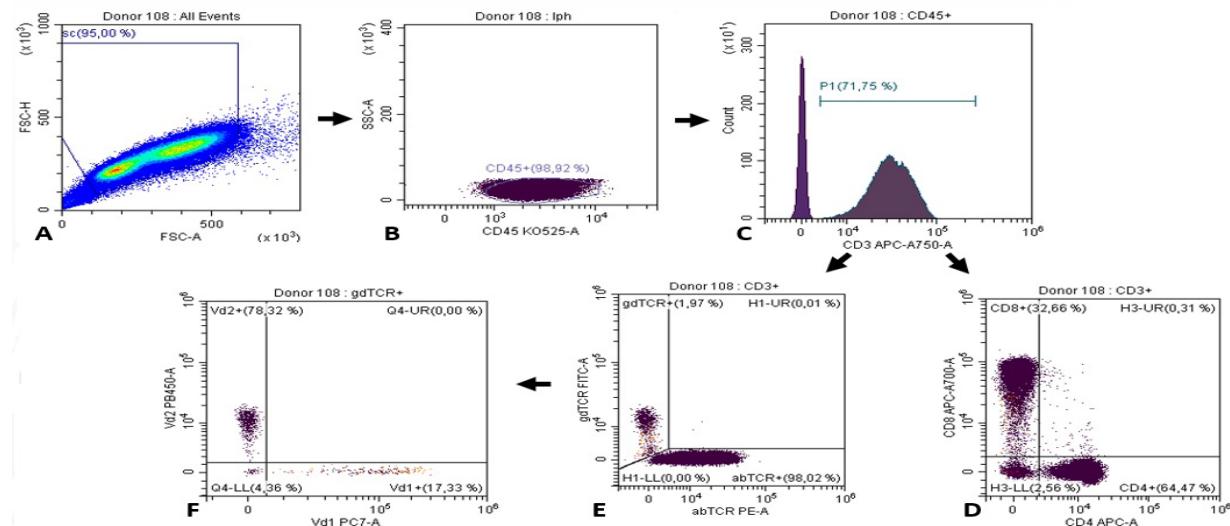


Рис. 1 – Алгоритм анализа а β - и γ δ T-клеточных субпопуляций.

Примечание: А – популяция одиночных клеток; В – лимфоциты; С – субпопуляция CD3 $^{+}$ Т-лимфоцитов; Д – субпопуляции CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ Т-лимфоцитов; Е – субпопуляции а β T- и γ δ T-лимфоцитов; F – субпопуляции V δ 1 $^{+}$, V δ 2 $^{+}$, V δ 3 $^{+}$ Т-лимфоцитов

Результаты

У пациентов с IgA-нефропатией выявлено достоверное увеличение содержания γ δ T-лимфоцитов по сравнению с группой здоровых доноров (9,42 (6,25÷12,44) % и 2,86 (2,18÷5,63) %, соответственно, $p<0,05$), в то время как содержание а β T-лимфоцитов в исследуемых группах статистически значимо не отличалось (90,47 (87,41÷93,72) % и 89,26 (88,42÷95,84) %, соответственно). Известно, что наряду с классическими Т-лимфоцитами в патогенез IgA-нефропатии могут вовлекаться и миорные лимфоидные клетки. В частности, γ δ T-клетки играют важную роль в защитных иммунных реакциях: их способность продуцировать цитокины, такие как интерферон-γ или интерлейкин 17 А, позволяет быстро реализовывать механизмы иммунного воспаления на патогенные сигналы при развитии патологий почек. В связи с этим, увеличение содержания циркулирующих γ δ T-лимфоцитов может быть результатом активации врожденного клеточного звена иммунитета.

Для определения субпопуляционного состава а β T-лимфоцитов изучали уровень экспрессии корецепторных молекул CD4 и CD8, которые указывают, соответственно, на принадлежность к популяции Т-хелперов или цитотоксическим лимфоцитам. Установлено достоверное снижение количества CD4 $^{+}$ Т-лимфоцитов (52,52 (46,14÷58,70) %) и увеличение CD8 $^{+}$ Т-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 лимфоидных клеток в сторону цитотоксических может свидетельствовать об эффекторных механизмах, реализуемых лимфоцитами в патогенезе IgA-нефропатии. Так, снижение Т-хелперов, экспрессирующих CD4 $^{+}$ (корецепторная молекула TCR, обеспечивающая взаимодействие с антиген-презентирующими клетками) может свидетельствовать о миграции в ткани для реализации приобретенного иммунного ответа, а увеличение циркулирующих Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD8 $^{+}$ (корецепторная молекула, участвующая в передаче сигналов Т-клеткам для обеспечения цитотоксичности), может свидетельствовать об активации эффекторных механизмов цитотоксичности.

При изучении субпопуляционного состава γ δ 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. Так, выявлено увеличение содержания V δ 1 $^{+}$ Т-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией по сравнению с контрольной группой (27,97 (10,49÷41,97) % и 14,60 (4,95÷17,45) %, соответственно, $p<0,05$), в то время как процент V δ 2 $^{+}$ Т-лимфоцитов снижался у пациентов по отношению к группе доноров (61,86 (41,56÷86,34) % и 79,84 (71,71÷91,56) %, соответственно, $p<0,05$). Уровень V δ 3 $^{+}$ Т-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией характеризовался тенденцией к увеличению относительно группы здоровых доноров (9,73 (1,94÷17,13) % и 5,47 (2,47÷5,46) %, соответственно). Согласно литературным данным V δ 1 $^{+}$ и V δ 3 $^{+}$ не являются типичными циркулирующими клетками, и 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 [2].

Для оценки активационного потенциала в исследуемых группах изучена экспрессия HLA-DR на γ δ T-лимфоцитах. У пациентов с IgA-нефропатией выявлено увеличение количества HLA-DR $^{+}$ γ δ T-лимфоцитов 16,53 (6,70÷22,29) % по сравнению с контрольной группой 9,66 (5,27÷13,13) %, что свидетельствует о высоком активационном потенциале γ δ T-лимфоцитов и их способности к антигенней презентации. В результате оценки экспрессии

молекулы HLA-DR на субпопуляциях $\gamma\delta$ T-лимфоцитов обнаружено значительное увеличение количества V δ 1 $^+$ T-лимфоцитов экспрессирующих HLA-DR до 21,39 (10,74÷28,65) % и V δ 3 $^+$ T-лимфоцитов до 24,17 (12,28÷35,91) % у пациентов с IgA-нефропатией, в то время как у здоровых доноров содержание V δ 1 $^+$ T-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR, оставалось на уровне 15,70 (4,41÷15,79) % и V δ 3 $^+$ T-лимфоцитов 8,77 (4,35÷17,39) %, $p<0,01$. Принимая во внимание, что HLA-DR – это поверхностный рецептор МНС класса II, который представляет собой лиганд для TCR, полученные данные свидетельствуют об инициации иммунного ответа за счет презентации пептидных антигенов, потенциально чужеродных по происхождению к иммунной системе при IgA-нефропатии.

Для определения удельного содержания клеток с цитотоксическим функциональным профилем оценивали экспрессию корецепторных молекул CD8 $^+$ на $\gamma\delta$ T-лимфоцитах. В результате исследования выявили отсутствие статистически значимых различий содержания $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, экспрессирующих CD8 $^+$, у пациентов с IgA-нефропатией по сравнению с контрольной группой (32,10 (23,19÷42,36) % и 29,27 (18,27÷44,54) %, соответственно). У пациентов с IgA-нефропатией также 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. 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 и затем сохраняются в ткани, что может оказывать повреждающий эффект.

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 полуулуний), и с другой стороны, содержанием $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и их субпопуляциями V δ 1 $^+$, V δ 2 $^+$, V δ 3 $^+$ у пациентов с IgA-нефропатией. На рисунке 2 отображена статистически значимая зависимость содержания $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и их субпопуляций у пациентов с IgA-нефропатией с соответствующими показателями.

У пациентов с IgA-нефропатией выявлена обратная зависимость количества V δ 1 $^+$ T-лимфоцитов с уровнем гематурии ($R=-0,60$; $p=0,01$) и креатинина ($R=-0,54$; $p=0,03$), также с развитием тубулярной атрофии ($R=-0,47$; $p<0,05$) и наличием полуулуний 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 полуулуний 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 и отмечается тенденция к образованию полуулуний ($R=-0,43$; $p=0,09$).

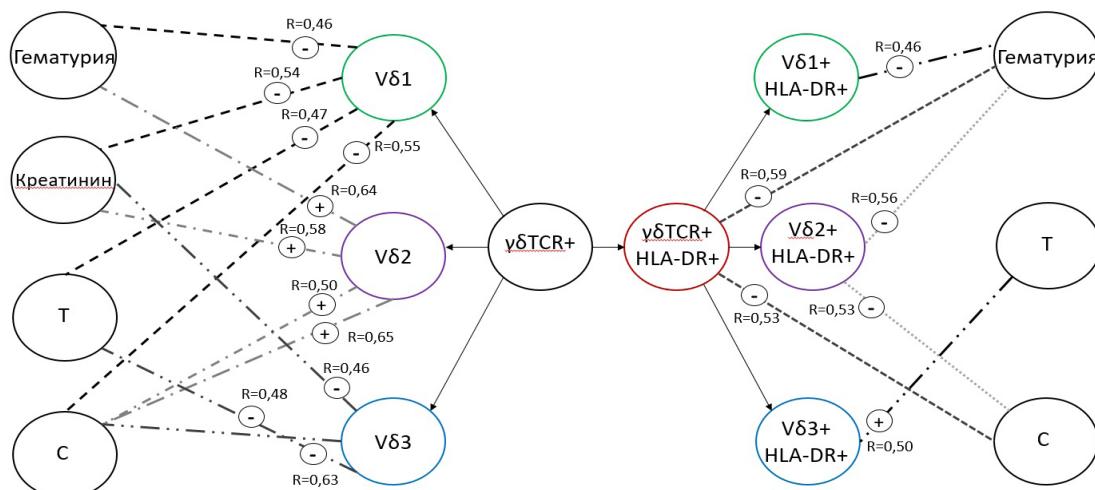


Рис. 2 – Корреляция $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и их субпопуляций с клинико-морфологическими показателями

Примечание: М – мезангиальная пролиферация; С – наличие полуулуний; Т – тубулярная атрофия.

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 ($R=-0,59$; $p=0,01$), также образования полуулуний ($R=-0,53$; $p=0,03$). При этом выявлена обратная зависимость количества V δ 1 $^+$ HLA-DR $^+$ клеток и уровня гематурии преимущественно ($R=-0,46$; $p<0,05$). В то время как содержание V δ 2 $^+$ HLA-DR $^+$ лимфоцитов обратно пропорционально коррелировало с проявлением гематурии ($R=-0,56$; $p=0,02$) и наличием полуулуний в клубочках почек ($R=-0,53$; $p=0,03$). Также установлена зависимость количества V δ 3 $^+$ HLA-DR $^+$ клеток с развитием тубулярной атрофии ($R=0,50$; $p=0,04$). Содержание V δ 1 $^+$ T-лимфоцитов, экспрессирующих цитотоксическую молекулу CD8 $^+$, коррелировало с развитием мезангиальной пролиферации ($R=0,48$; $p=0,05$), в то время как уровень V δ 3 $^+$ CD8 $^+$ -лимфоцитов обратно коррелировал с показателями протеинурии ($R=-0,55$; $p=0,02$).

Заключение

У пациентов с IgA-нефропатией показано увеличение количества V δ 1 $^{+}$ T-клеток наряду со снижением содержания V δ 2 $^{+}$ T-клеток в периферической крови, а также установлена повышенная экспрессия маркера активации HLA-DR на γ δT-клетках на фоне отсутствия изменений цитотоксических свойств эффекторных субпопуляций, что может быть использовано в качестве биомаркера при дифференциальной диагностике аутоиммунной патологии почек. Выявлена обратная корреляция содержания V δ 1 $^{+}$ - и V δ 3 $^{+}$ T-лимфоцитов и их активированных форм с развитием гематурии, тубулярной атрофии и наличием полулуний, что свидетельствует о регуляторной роли данных субпопуляций в патогенезе заболевания. В то время как положительная связь V δ 2 $^{+}$ T-лимфоцитов с гематурией, тубулярной атрофией и наличием полулуний отражает вовлечение эффекторных механизмов данной популяции в иммунопатогенез IgA-нефропатии. При этом уровень активированных γ δT-лимфоцитов и субпопуляций V δ 1 $^{+}$ и V δ 2 $^{+}$ обратно коррелировал с гематурией и наличием полулуний, что подтверждает их регуляторную роль. Корреляция субпопуляции V δ 3 $^{+}$ с тубулярной атрофией может свидетельствовать о способности функционировать данной популяции в качестве антиген-презентирующих клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Turner J. Tissue-Resident Lymphocytes in the Kidney / Turner J [et al.] // Journal of the American Society of Nephrology. 2018;29:389–399.
2. Ruszkowski J. T cells in IgA nephropathy: role in pathogenesis, clinical significance and potential therapeutic target / Ruszkowski J [et al.] // Clinical and Experimental Nephrology. 2019;23:291–303.

МЕДИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОЖНОГО ПОКРОВА ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ СЕМЕЙСТВ СОБАЧИХ (CANIDAE) И КОШАЧЬИХ (FELIDAE) ЦЕНТРАЛЬНОЙ БЕЛАРУСИ

MEDICAL-ECOLOGICAL AND CYTOGENETIC ASSESSMENT OF INDICATORS OF THE SKIN OF DOMESTIC ANIMALS OF THE CANINE FAMILY (CANIDAE) AND FELIDS (FELIDAE) OF CENTRAL BELARUS

A. Н. Семак, Е. Г. Бусько, В. А. Стельмах

A. N. Semak, Eu. G. Buško, V. A. Stelmakh

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ,

Минск, Республика Беларусь

Semak_89@List.ru

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Изучение генезиса домашних животных в зоогеографическом, филогенетическом и цитогенетическом аспектах позволило выявить закономерности возникновения и развития различных заболеваний и выполнить прогноз их динамики в связи с изменениями комплекса условий их обитания. Установлено, что среди обследуемой группы собак в 80,3% случаях составили доброкачественные новообразования, в 19,7% случаев диагностирована возможность возникновения и развития злокачественных новообразований. Злокачественные новообразования кожи среди обследуемых кошек выявляются чаще и составляют 63,0%, доброкачественные – 37,0%, соответственно.

The study of the genesis of domestic animals in zoogeographic, phylogenetic and cytogenetic aspects allowed us to identify patterns of occurrence and development of various diseases and to predict their dynamics in connection with changes in the complex conditions of their habitat. It was found that among the examined group of dogs in 80,3% of cases were benign neoplasms, in 19,7% of cases the possibility of the occurrence and development of malignant neoplasms was diagnosed. Malignant neoplasms of the skin among the examined cats are detected more often and make up 63,0%, benign – 37,0%, respectively.

Ключевые слова: ксенобиотики, тератогены, цитогенетика, биота, генетическая токсикология, экологическая генетика, ветеринарная цитология.

Key words: xenobiotics, teratogens, anthropogenic, cytogenetics, biota, genetic toxicology, ecological genetics, veterinary cytology.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-107-110>