

## АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ПОДОЦИТОВ И СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛЕЙКОЦИТОВ В МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

**Чиж К.А.<sup>1</sup>, Рябцева Т.В.<sup>1</sup>, Фомина Е.Г.<sup>2</sup>,  
Романова И.В.<sup>2</sup>, Пархомчук О.Ю.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

<sup>2</sup>ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и  
микробиологии»

Минск, Беларусь

dr.chyzh@rambler.ru

*Публикация посвящена исследованию клеточного осадка мочи методами проточной цитометрии. Проанализирован субпопуляционный состав клеток в моче пациентов с системной красной волчанкой с наличием волчаночного нефрита, здоровых добровольцев и пациентов с другой гломерулярной патологией. Авторами работы показана информативность изучения клеточного состава мочи; предложен метод адаптации проточной цитофлуориметрии для оценки популяций лимфоцитов в моче. В ходе исследования выявлены закономерности изменения концентрации подоцитов в моче пациентов с системной красной волчанкой в зависимости от характера течения волчаночного нефрита.*

**Ключевые слова:** подоциты; лимфоциты; проточная цитометрия; волчаночный нефрит; системная красная волчанка

## THE CONTENT OF PODOCYTES AND LEUKOCYTES' SUBPOPULATIONS IN THE URINE OF PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

**Chyzh K.A.<sup>1</sup>, Ryabtseva T.V.<sup>1</sup>, Fomina E.G.<sup>2</sup>, Romanova I.V.<sup>2</sup>,  
Parkhomchuk O.Yu.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Belarussian State Medical University,

<sup>2</sup>The Republican Research and Practical Center for Epidemiology and  
Microbiology

Minsk, Belarus

*The publication is devoted to study of urine cell sediment by cytometry methods. It was analyzed the cells subpopulation in the urine of patients with systemic lupus erythematosus with lupus nephritis, healthy volunteers and patients with other glomerular pathology. The authors proposed the adapting flow cytometry method for assessing lymphocyte populations in urine. It was revealed the changes in the concentration of podocytes in the urine of patients with systemic lupus erythematosus, depending on the course of lupus nephritis.*

**Key words:** podocytes; lymphocytes; flow cytometry; lupus nephritis; systemic lupus erythematosus

**Введение.** Подоциты – важные клеточные компоненты гломерулярного фильтрационного барьера, относятся к высоко дифференцированным клеткам и практически не возобновляются. Эти клетки играют ключевую роль в поддержании селективной клубочковой фильтрации. Их повреждение и

экскреция с мочой ведет к обнажению базальной мембраны почечных клубочков, и, как следствие, возникновению протеинурии. Потеря 20-40% клеток является критической и приводит к развитию гломерулосклероза с последующей облитерацией клубочков и развитием почечной недостаточности [1,2,3,4]. В настоящее время имеется возможность легкой, быстрой и достоверной идентификации подоцитов в моче (подоцитурия) при помощи проточного цитометра с использованием панели антител к маркерам, специфичным для подоцитов – подокаликсин [5].

**Методы и обследуемый контингент.** В работе было исследовано 43 образца клеточного осадка мочи. Группа исследования включала 22 пациента с системной красной волчанкой (СКВ) с морфологически верифицированным волчаночным нефритом (ВН). В зависимости от результатов клинических, лабораторных и морфологических данных пациенты были разделены на две группы, по 11 человек каждая, в зависимости от наличия или отсутствия обострения нефрита. Первая группа контроля включала пациентов с другими гломерулярными заболеваниями (11 пациентов), вторая группа контроля состояла из 10 практически здоровых добровольцев.

Сбор мочи у пациентов для проведения цитофлуориметрического определения субпопуляций клеток проводили накануне проведения биопсии почки по рекомендациям, относящимся к сбору биологического материала для проведения общего анализа мочи (утренняя порция собирается в чистый контейнер). Подготовка осадка мочи для последующего иммунофенотипирования клеток выполнялась в течение не более 1 часа после сбора мочи пациентом. Образец мочи тщательно перемешивали, переворачивая емкость несколько раз. Помещали образец мочи в заранее подписанные пластиковые флаконы для центрифугирования. Осаждали клетки на центрифуге «РС-6» при 3000 об/мин на протяжении 15 минут. Жидкую фракцию собирали в пробирку «Эппендорф» для определения иммунологически активных молекул (компонентов комплемента, цитокинов, иммуноглобулинов). Осадок мочи в каждом флаконе суспендировали в 1-2 мл фосфатного буферного раствора. Идентификация подоцитов включает использование таких маркеров как подокаликсин (PODXL), CD10 и CD80. Несмотря на то, что все указанные молекулы не строго специфичны для подоцитов, их сочетанное использование позволяет с высокой точностью проводить идентификацию подоцитов. В работе использовали следующие реагенты: CD3 (FITC), CD8 (PE), CD45 (PeCP/PC7), CD4 (APC), CD10 (PeCP/PC7), PODXL (PE), CD80 (FITC).

**Результаты.** При анализе полученных данных установлено, что содержание подоцитов (CD45<sup>+</sup>PODXL<sup>+</sup>) в осадке мочи пациентов с системной красной волчанкой, осложненной волчаночным нефритом (СКВ+ВН), оказалось в 25,6 раза выше, чем в группе пациентов с заболеваниями почек другой этиологии, а в сравнении с группой здоровых добровольцев – выше в 7,4 раза (медианы показателей составили 61,58 (32,37; 102,65) – 2,41 (1,06; 44,84) – 8,37 (0,75; 15,87), соответственно).

Анализ содержания антигенпрезентирующих клеток (CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>) в образцах мочи пациентов с СКВ+ВН показал их возрастание в 24,5 раза по отношению к пациентам с заболеваниями почек другой этиологии и в 144,8

раза – по отношению к условно здоровым пациентам (медианы показателей: 513,96 (259,61; 2791,90) – 20,69 (6,45; 139,47) – 3,55 (1,23; 9,94), соответственно).

При анализе содержания Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>) в осадке мочи пациентов с системной красной волчанкой, осложненной волчаночным нефритом, установлено превышение этого показателя в 10,6 раза в сравнении с группой пациентов с заболеваниями почек другой этиологии и в 8,3 раза – в сравнении с группой здоровых добровольцев (медианы показателей составили 11,45 (5,14;29,43) – 1,08 (0,23;11,37) – 1,38 (0,40;3,43), соответственно).

**Выводы.** Установлены статистически значимые различия содержания подоцитов и антигенпрезентирующих клеток в образцах осадка мочи в группах пациентов с СКВ+ВН и с заболеваниями почек другой этиологии, а в образцах осадка мочи пациентов с СКВ+ВН и условно здоровых добровольцев – статистически значимые различия содержания подоцитов, антигенпрезентирующих клеток и Т-лимфоцитов. Полученные результаты позволяют рассматривать данный метод исследования в качестве вспомогательного в проведении дифференциальной диагностики гломерулярных заболеваний, а также возможного предиктора обострения волчаночного нефрита.

### Список литературы

1. Camici, M. Urinary biomarkers of podocyte injury / Biomarkers Med. // M. Camici. – 2008. – V. 2, N6. – P. 613–616.
2. Rachael, D. Podocytes contribute, and respond, to the inflammatory environment in lupus nephritis / J Physiol Renal // D.Rachael, W. Beresford. – 2018. – V.315. – Iss.7. – p.1683-1694. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00512.2017>
3. Trivedi, S. Role of podocytes in lupus nephritis / Nephrol Dial Transplant // S.Trivedi, M.Zeier, J.Reiser, - 2009, V.24. – p.3607–3612. Doi: 10.1093/ndt/gfp427
4. Sakhi, H. Podocyte Injury in Lupus Nephritis / J. Clin. Med. // H. Sakhi, A. Moktefi, K.Bouachi, etc., - 2019. –V.8. – p.1340-1356. Doi:10.3390/jcm8091340
5. Habara, P. Novel flow cytometric method for the detection of podocalyxin-positive elements in urine of patients with glomerulonephritides – first promising results / Folia Biol (Praha). // P. Habara. – 2012. Vol. 58, N 2. – P. 57–63.