

УДК 616:612.017.11

РОЛЬ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ В ДИАГНОСТИКЕ ВРОЖДЕННЫХ ИММУННЫХ ОШИБОК

Розумбетов Р.Ж., Исмаилова А.А., Рахимжонов А.А., Касимова М.С.,
Каримова Д.С., Акбаров У.С., Шер Л.В.

Институт иммунологии и геномики человека АН РУз

XULOSA

Lucie Roussel et al. o'zlarining maqolalaridan birida birlamchi immunitet tanqisligini nafas ta'riflaganlar: “Birlamchi immunitet tanqisligi inson immunobiologiyasini ochish uchun tabiiy eksperimental modellarni ifodalaydi”. Amaliyotchi shifokorlar, genetik testlardan so'ng ham, natijalari har doim ham aniq bo'lmagan VOIni tashhislash ko'pincha qiyinligini bilishadi. Bunday hollarda immun tizimining fenotipik jihatlarini tahlil qilish tavsiya etiladi, masalan: immunoglobulinlar darajasini aniqlash yoki immun hujayralarining turli populyatsiyalari darajasini tekshirish. Ushbu maqolada VOI tashhisida oqimli sitometriyasidan foydalanishni ko'rib chiqamiz.

Kalit so'zlar: immunitet tanqisligi, diagnostika, oqimli sitometriya.

Первым описанным случаем ПИД стал случай, описанный в 1952 году О.Г. Брутоном. Брутон не только открыл новую болезнь, известную как агаммаглобулинемия, но и смог доказать причину этого заболевания. Это открытие стало важной вехой в истории изучения ПИД, проложив путь к дальнейшим исследованиям и разработке методов диагностики и лечения этих заболеваний[8]. С тех пор прошло много лет, и в данный момент известно более 400 ПИД, которые ныне также называются врожденными ошибками иммунитета (ВОИ)[14]. Практикующим врачам известно, что часто поставить диагноз ВОИ бывает затруднительно, даже после генетических тестов, результаты которых не всегда бывают однозначными. В таких случаях рекомендуется проводить анализ фенотипических аспектов иммунной системы, например: установить уровень иммуноглобулинов, или проверить уровни различных популяции иммунных клеток.

При дефиците CD40L наблюдается X сцепленный синдром гипер IgM (HIGM1), который проявляется у мальчиков частыми инфекционными заболеваниями легких и желудочно-кишечного тракта(ЖКТ), нейтропенией, холангитом и т.д[14,5]. Но самыми яркими признаками являются повышенный сывороточный IgM, отсутствие экспрессии CD40L на Т клетках и отсутствие CD23- IgD-CD27+ В клеток памяти [13,14]. Патогенез данного заболевания основан на отсутствие CD40L-CD40 стимуляции между CD4 Т клеткой и В клеткой. В результате не происходит переключения классов иммуноглобули-

SUMMARY

In one of their articles, Lucie Roussel et al. elegantly described primary immunodeficiency: primary immunodeficiencies serve as natural experimental models for unraveling human immunobiology. Practicing physicians know that diagnosing PID can often be challenging, even after genetic testing, the results of which are not always definitive. In such cases, it is recommended to analyze the phenotypic aspects of the immune system, for example, assessing immunoglobulin levels or checking the levels of different immune cell populations. In this article, we will discuss the application of flow cytometry in PID diagnostics.

Keywords: immunodeficiency, diagnosis, flow cytometry.

нов[13]. При анализе В клеток памяти стоит особое внимание обратить на маркеры субпопуляции. Ведь если проводить проточную цитометрию используя только общий маркер CD27 В клеток памяти, можно обнаружить популяцию CD27+ IgD+ и прийти к ложному выводу об отсутствии заболевания[5]. Дефицит CD40 (HIGM 3) схож с HIGM1 клинически и лабораторными показателями, но отличается аутомальным рецессивным типом наследования[1]. Механизм патогенеза тоже одинаков, дефект в CD40L-CD40 стимуляции. В последствии не наблюдается переключение классов иммуноглобулинов в В клетках, приводя к повышенному IgM, и снижению других классов иммуноглобулинов [1,14].

Продолжая тему костимуляторного комплекса CD40L-CD40, стоит отметить, что Лю et al. с использованием конкурентных смешанных химер показали, что ICOSL важен для индивидуального участия В-клеток в реакции герминативного центра и их дифференцировки в плазматические клетки костного мозга, и более того ICOSL способствует взаимодействию Т клеток и В-клеток, тем самым запуская CD40L-CD40 стимуляцию [6]. CD40 повышает экспрессию ICOSL, в следствии возникает положительная петля. Комплекс ICOSL-ICOS очень важна при активации, как Т клеток и В клеток, и участвует во многих процессах [7]. ICOSL экспрессируется на антиген презентующих клетках, включая В клеток, в то время как, ICOS экспрессируется на Т клетках, естественных киллерах и др[7]. Манифестация дефицита ICOSL напоминает HIGM, но отличается некоторыми

элементами. Наблюдается частые инфекции в легких, нейтропения, и пониженный уровень иммуноглобулинов, но в отличие от HIGM наблюдается пониженное количество Т клеток [11]. В добавок, у этих больных понижены CD27+ IgD+ В клетки, что не наблюдается у больных HIGM. Так же у пациентов с HIGM бывает повышенный IgM в отличие у больных с дефицитом ICOSL. Важно отметить, что ICOSL синтезируется В клетками, но не экспрессируется на мембране и накапливается в аппарате Гольджи, т.е. гейтинг должен быть следующим: CD19+ ICOSL- [11]. Удивительно, но при дефиците ICOS, количество Т и В клеток в норме, хотя логично было бы ожидать понижение, так как, костимуляция ICOSL-ICOS нарушается [7]. Манифестация дефицита ICOS: частые инфекции, аутоиммунная нейтропения, гастроэнтерит, гранулёмы и гипоглабулинемия [15]. Хотя количество Т клеток и в норме, у этих больных нарушена продукция цитокинов. Klaus et al. продемонстрировали это стимулируя Т клетки больных с дефицитом ICOS при помощи anti-CD3, anti-ICOS и anti-CD28 антител. В результате наблюдалось пониженный уровень продукции IL-10 и IL-17 по сравнению с контролем. Хотя они измеряли уровни цитокинов в чистых популяциях, такой же эксперимент можно провести используя проточную цитометрию с помощью внутриклеточных антител [9].

Существует всего лишь 3 ВОИ, которые наследуются по негативно доминантному механизму, и дефицит IKAROS один из них [14]. IKAROS играет важную роль в гематопоэзе В клеток, и делеция и мутации в этом гене ассоциированы с острой лимфобластической лейкемии (ОЛЛ) [12]. Пациенты с дефицитом IKAROS страдают от частых легочных инфекции, гипогаммаглобулинемии, пониженным количеством В клеток, и у некоторых наблюдается смешенное соотношение CD4/CD8 клеток [3,10]. Kuehn et al. изучив 29 больных, продемонстрировал, что всего у 2 из 29 больных развился ОЛЛ, хотя IKAROS играет важную роль в защите от ОЛЛ [3]. 8 из 29 больных, хотя были асимптоматичные, имели гипогаммаглобулинемию. Несмотря на общее пониженное количество В клеток, CD27+ CD19+ В клетки памяти были обнаружены у всех обследованных (14 из 14). Так же стоит отметить, что у 4 больных, пролиферация Т клеток была сопоставима с контролем [3]. Хотя нарушение пролиферации и активации Т клетки наблюдалось у первого больного с дефицитом IKAROS [4]. Более того, Goldman et al. обнаружил отсутствие NK клеток и Т клеток (CD45RO+CD3+) памяти у этого пациента [2]. Учитывая вышеуказанное, кажется спорным приведенные в классификации 2022 года данные об особенностях дефицита IKAROS, где указаны отсутствие Т и В клеток памяти как характерными чертами данного заболевания [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Когда врач подозревает первичный иммунодефицит, рекомендуется провести генетический тест.

Часто бывает так, что результат не даёт конкретного ответа, а создаёт больше вопросов. Более того, манифестация многих ВОИ схожа, создавая дополнительные проблемы при дифференциальной диагностике. Вдобавок, признаки некоторых ВОИ основаны на всего лишь нескольких случаях, иногда даже на единственных, что усугубляет точность диагностики. В таких случаях проточная цитометрия является незаменимым инструментом. Для грамотного использования этого инструмента очень важен правильный гейтинг, который бывает описан в оригинальных и обзорных статьях. Учитывая эти факты, стоит особенно скрупулёзно относиться к сбору клинических и лабораторных признаков и тщательно изучать кейс-репорты, обращая внимание на мельчайшие детали.

ЛИТЕРАТУРА

1. Banday, A. Z. et al. Clinical and Immunological Features, Genetic Variants, and Outcomes of Patients with CD40 Deficiency. *J Clin Immunol* 44, (2024).
2. Goldman, F. D. et al. Congenital pancytopenia and absence of B lymphocytes in a neonate with a mutation in the ikaros gene. *Pediatr Blood Cancer* 58, 591–597 (2012).
3. Kuehn, H. S. et al. Loss of B Cells in Patients with Heterozygous Mutations in IKAROS. *New England Journal of Medicine* 374, 1032–1043 (2016).
4. Kuehn, H. S., Nunes-Santos, C. J. & Rosenzweig, S. D. IKAROS-Associated Diseases in 2020: Genotypes, Phenotypes, and Outcomes in Primary Immune Deficiency/Inborn Errors of Immunity. (2021) doi:10.1007/s10875-020-00936-x/Published.
5. Leite, L. F. B., Máximo, T. A., Mosca, T. & Forte, W. C. N. CD40 Ligand Deficiency. *Allergologia et Immunopathologia* vol. 48 409–413 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.aller.2019.08.005> (2020).
6. Liu, D. et al. T-B-cell entanglement and ICOSL-driven feed-forward regulation of germinal centre reaction. *Nature* 517, 214–218 (2015).
7. Montes-Casado, M. et al. ICOS deficiency hampers the homeostasis, development and function of NK cells. *PLoS One* 14, (2019).
8. Ochs, H. D. & Hitzig, W. H. History of primary immunodeficiency diseases. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* vol. 12 577–587 Preprint at <https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e32835923a6> (2012).
9. Qiu, J. G., Mei, X. L., Chen, Z. S. & Shi, Z. Cytokine detection by flow cytometry. *Methods in Molecular Biology* 1172, 235–242 (2014).
10. Rezaei, N., Aghamohammadi, A. & Notarangelo, L. D. *Primary Immunodeficiency Diseases Definition, Diagnosis, and Management Second Edition*.
11. Roussel, L. et al. Loss of human ICOSL results in combined immunodeficiency. *Journal of Experimental Medicine* 215, 3151–3164 (2018).
12. Schjerven, H. et al. Genetic analysis of Ikaros target

- genes and tumor suppressor function in BCR-ABL1+ pre-B ALL. *J Exp Med* 214, 793–814 (2017).
13. Seifert, M. & Küppers, R. Human memory B cells. *Leukemia* vol. 30 2283–2292 Preprint at <https://doi.org/10.1038/leu.2016.226> (2016).
14. Tangye, S. G. et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 42, 1473–1507 (2022).
15. Warnatz, K. et al. Human ICOS deficiency abrogates the germinal center reaction and provides a monogenic model for common variable immunodeficiency. (2006) doi:10.1182/blood-2005-07.

UDK: 616.24-006:612.017.1

SIGNIFICANCE OF OXIDATIVE STRESS MARKER IN BRONCHOPULMONARY PATHOLOGY

Fayzullaeva N.Ya., Raufov A.A., Mukhtorov Sh.M., Kayumov A.A.

Institute of Immunology and Human Genomics

XULOSA

Ushbu sharhning mavzusi Kloto oqsili (KO) va uning bronxopulmonal patologiyaning rivojlanishidagi roli. Kloto oqsili qarishga qarshi protein bo'lib, organizmda ko'p funktsiyalarga ega. Kloto yetishmovchiligi insonning qarishida va xususan, qarish bilan bog'liq ko'plab kasalliklarda rol o'ynaydi. Ma'lumki, Kloto protein darajasi yoshga qarab kamayadi. Bundan tashqari, Kloto ning giperfosfatemiya, surunkali buyrak kasalligi, ko'plab yurak-qon tomir kasalliklari, neyrodegenerativ kasalliklar, bir nechta saraton, o'pka fibrozi, o'pkaning surunkali obstruktiv kasalligi (O'SOK), suyak kasalliklari va diabet bilan aloqasi turli mualliflar tomonidan bildirilgan. Bugungi kunga kelib, nafas olish tizimining fiziologiyasi va patologiyasida Kloto oqsilining rolini o'rganishga bag'ishlangan nisbatan kam tadqiqotlar mavjud, ammo so'nggi yillarda bu sohaga qiziqish ortdi. Ushbu sharh maqolasida biz ushbu sohadagi so'nggi yutuqlarni umumlashtirishni, Kloto oqsilining O'SOK va bronxial astma (BA) kabi patologiyalarning rivojlanishiga qo'shgan hissasini muhokama qilishni va kelajakdagi tadqiqotlar istiqbollarini belgilashni maqsad qilganmiz.

Kalit so'zlar: Kloto oqsili, fibroblast o'sish omili (FGF), bronxopulmonal patologiya, O'SOK, bronxial astma.

Klotho protein is an anti-aging protein and has many functions in the body. It is encoded by the Klotho gene, which was first identified in mice in 1997 [1]. The gene received its name in honor of the Greek goddess of fate Clotho spinning the thread of life. The Klotho gene produces two molecules: a membrane-bound form and a circulating form of the Klotho protein. Membrane bound form of Klotho is a coreceptor for fibroblast growth factor 23 (FGF23) [2], and the circulating form is a solu-

РЕЗЮМЕ

Предметом данного обзора является белок Клото (КЛ) и его роль в развитии бронхолегочной патологии. Белок Клото является антивозрастным белком и выполняет в организме множество функций. Недостаточность Клото, по-видимому, играет определенную роль в старении человека и, в частности, во многих заболеваниях, связанных со старением. Известно, что уровень белка Клото снижается с возрастом. Кроме того, различными авторами сообщалось о связи Клото с гиперфосфатемией, хроническими заболеваниями почек, множественными сердечно-сосудистыми заболеваниями, нейродегенеративными заболеваниями, несколькими видами рака, легочным фиброзом, хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), заболеваниями костей и диабетом. На сегодняшний день исследований, посвященных изучению роли белка Клото в физиологии и патологии дыхательной системы относительно немного, но интерес к данному направлению за последние годы возрос. В этой обзорной статье мы стремимся обобщить последние достижения в этой области, обсудить вклад белка Клото в развитие таких патологий, как ХОБЛ и бронхиальная астма (БА) и наметить перспективы для будущих исследований.

Ключевые слова: белок Клото, фактора роста фибробластов (FGF), бронхолегочная патология, ХОБЛ, БА.

ble endocrine mediator with many functions [3]. Klotho deficiency appears to play a role in human aging and, in particular, in many diseases associated with aging. Klotho protein levels are known to decline with age. IN2022year Espuch-Oliver et al. published reference values for this protein for the first time [4]. As it turns out, the age-related decline in serum CL levels appears to be similar in both men and women. Notably, a recent study of American adults found that low serum Klotho levels