Урсгал эс тоолуурын аргаар Т эсийн цитокиныг бөөр шилжүүлэн суулгахын өмнө ба дараа шинжилсэн дүн

Б.Энх-Амар[1], Ч.Гансүх[1], А.Ариунаа[1], Ж.Саранцэцэг[2], Т.Өлзийхүү[1], Б.Урангоо[1], Э.Гэрэлмаа[3], Г.Энхтүшиг[1], Д.Нямбаяр[1], С.Цогтсайхан[1], Т.Хонгорзул[1,4]

[1]АШУҮИС, Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхим
[2]УНТЭ-ийн Эмнэлзүйн эмгэг судлалын нэгдсэн лаборатори
[3]АШУҮИС, Био-Анагаахын сургуулийн Бичил амь судлал, халдварын сэргийлэлт хяналтын тэнхим
[4]АШУҮИС, Био-Анагаахын хүрээлэнгийн Иммунобиологийн лаборатори
Цахим шуудан: enkhamar@mnums.edu.mn, Утас: 99144687

Түлхүүр үг:

Интерлейкин
Интерферон
Үрэвсэл
Суулгац
өөрийнших

Товч утга:

Үндэслэл: Цитокин нь эсийн дохио дамжуулалтанд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг жижиг уураг бөгөөд эсийн үйл ажиллагааг идэвхжүүлэх, дарангуйлах, халдвар, үрэвсэл, гэмтлийн үеийн дархлааны хариу урвалыг зохицуулна. Эрхтэн шилжүүлэн суулгалтын өмнө болон дараа цитокины түвшинг хянах нь дархлааны хариу урвалыг үнэлэх, эрхтэн ховхролтыг урьдчилан таамаглах, эмчилгээг удирдахад чухал ач холбогдолтой. Урсгал эс тоолуурын арга нь олон төрлийн цитокины агууламжийг зэрэг судлах боломжийг олгодог өндөр мэдрэг шинжилгээний арга юм. **Зорилго:** Бөөр шилжүүлэн суулгахын өмнөх болон дараах үеийн ийлдсийн Т эсийн цитокиныг урсгал эс тоолуурын аргаар тодорхойлох. **Арга, аргачлал:** Энэхүү судалгааг когорт судалгааны загвараар 2023 оны 07 сараас 2024 оны 3 сар хүртэлх хугацаанд УНТЭ-ийн Эмнэлзүйн эмгэг судлалын нэгдсэн лабораторийг түшиглэн хийж гүйцэтгэв. Судалгаанд хамрагдсан хүмүүсээс бөөр шилжүүлэн суулгах мэс заслын өмнө болон эрхтэн шилжүүлэн суулгасны дараах 30 хоногт цусны шинжлэгдэхүүн цуглуулж Human Th Cytokine Panel (13-plex) with Filter Plate (BioLegend®) цомгийг ашиглан 13 төрлийн цитокиныг урсгал эс тоолуурын аргаар шинжилсэн. Үр дүн**:** Судалгаанд нийт 10 хүн хамрагдсан ба эрэгтэй 5, эмэгтэй 5, дундаж нас 36±12.01 жил байв. Бөөр шилжүүлэн суулгахын өмнө ба шилжүүлэн суулгасны дараа 30 дах хоногт цуглуулсан шинжлэгдэхүүнд 13 төрлийн (IL-2, 4, 5, 6, 9, 10, 13, 17A, 17F, 21, 22, IFN-γ, TNF-α) цитокиныг шинжлэхэд цитокины хэмжээ хооронд статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй. **Дүгнэлт:** Бидний шинжилсэн Th цитокины агууламж бөөр шилжүүлэн суулгахын өмнө болон дараа статистик ач холбогдол бүхий ялгаа гарсангүй. Дараагийн судалгаанд эдийн тохирооны шинжилгээ, дархлаа дарангуйлах эмчилгээ зэрэг цитокины түвшинд нөлөөлж болох хүчин зүйлтэй холбон судлах нь ач холбогдолтой байна.

Үндэслэл: Цитокин нь эсийн дохио дамжуулалтанд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг бага молекул жинтэй уураг бөгөөд эсийн үйл ажиллагааг идэвхжүүлэх, дарангуйлах халдвар, үрэвсэл, гэмтлийн үеийн дархлааны хариу урвалыг зохицуулна.[1]

Цитокин нь эрхтэн шилжүүлэн суулгалтын үед суулгац ховхрох эсвэл өөрийнших дархлааны хариу урвалд оролцох ба суулгалтын өмнөх болон дараах үед үрэвслийн урвал, дархлааны эсүүдийн идэвхижил, эффектор үйлийг зохицуулдаг.[2,3]

Эрхтэн шилжүүлэн суулгалтын өмнөх болон дараах үеийн цитокины түвшинг хянах нь дархлааны хариу урвалыг үнэлэх, эрхтэн ховхролтыг урьдчилан таамаглах, эмчилгээг удирдахад чухал ач холбогдолтой.[4,5] Интерлейкин, хавдар үхжлийн хүчин зүйл, интерферон болон бусад цитокин нь дархлааны

эсүүдийн идэвхжил ба суулгацын тэвчил хоорондын тэнцвэрийг зохицуулахад чухал үүрэг гүйцэтгэдэг.[6-8] Жишээлбэл интерлейкин 2 (IL-2) ба интерферон гамма (IFN-γ) нь суулгац ховхрохтой холбоотой байдаг бол интерлейкин 10 (IL-10) болон TGF-β цитокин нь дархлаа тэвчилтэй холбоотой байдаг.[9]

Эрхтэн шилжүүлэн суулгалтын үед цитокины агууламжийг урсгал эс тоолуурын аргаар судлах нь өндөр мэдрэг чанартай шинжилгээний арга юм.[10] Энэхүү арга нь олон төрлийн цитокинд нэгэн зэрэг дүн шинжилгээ хийх боломжийг олгож, өвчний үе шат, эмгэг жам, эмчилгээний үр дүнг үнэлэхэд чухал ач холбогдолтой.[11]

Зорилго: Бөөр шилжүүлэн суулгахын өмнөх болон дараах үеийн ийлдсийн Т эсийн цитокиныг урсгал эс тоолуурын аргаар тодорхойлох.

Арга, аргачлал: Энэхүү судалгааг когорт судалгааны загвараар 2023 оны 07 сараас 2024 оны 3 сар хүртэлх хугацаанд УНТЭ-т бөөр шилжүүлэн суулгасан хүмүүсийг хамруулан, цитокины шинжилгээг АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн Иммунобиологийн лабораторид хийж гүйцэтгэв. Судалгаанд хамрагдсан хүмүүсээс бөөр шилжүүлэн суулгах мэс заслын өмнө ба бөөр шилжүүлэн суулгасны дараах 30 хоногт цусны шинжлэгдэхүүн цуглуулж Human Th Cytokine Panel (13-plex) with Filter Plate (BioLegend®) цомгийг ашиглан 13 төрлийн цитокиныг урсгал эс тоолуурын аргаар шинжилсэн. Энэхүү цомог нь хүний Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh эсээс ялгардаг IL-2, 4, 5, 6, 9, 10, 13, 17A, 17F, 21, 22, IFN-γ, TNF-α зэрэг 13 цитокины агууламжийг нэгэн зэрэг тодорхойлох боломжийг олгодог, зууш фермент холбоот эсрэгбиеийн урвалын зарчмаар микро соронзод суурилсан туяарагч эсрэгбие, биотинжсэн эсрэгбиеийг тодорхойлох зориулалттай. Биотинжсэн эсрэгбиетэй холбогдсон туяарагч бодисын эрчмийг урсгал эс тоолуурын анализатор (MACSQuant analyzer 10)-т уншуулж цитокины агууламжийг шинжилсэн. Цитокин тус бүрийн концентрацийг стандарт концентрацитай харьцуулан тодорхойлж, SPSS 26 программ ашиглан үр дүнг боловсруулав.

Энэхүү судалгааг "Урсгал эс тоолуурын аргаар олон төрлийн цитокиныг зэрэг тодорхойлох технологийг эмнэл зүйн практикт нэвтрүүлэх нь" төслийн хүрээнд ЭМЯ-ны АУ-ы Ёс Зүйн Хяналтын Хороо (тогтоол 23/021)-ны зөвшөөрлөөр хийж гүйцэтгэв.

Үр, дүн: Судалгаанд нийт 10 хүн хамрагдсан ба эрэгтэй 5, эмэгтэй 5, дундаж нас 36±12.01 байв. Бөөр шилжүүлэн суулгахын өмнө ба шилжүүлэн суулгасны дараах 30 дах хоногт цуглуулсан цусны шинжлэгдэхүүнд 13 төрлийн (IL-2, 4, 5, 6, 9, 10, 13, 17A, 17F, 21, 22, IFN-γ, TNF-α) цитокиныг шинжилж IL-5 цитокины концентраци хасах утга гарсан учир үр дүнгийн боловсруулалтаас хассан. (Хүснэгт 1)

Хүснэгт 1. Бөөр шилжүүлэн суулгахын өмнө ба шилжүүлэн суулгасны дараах 30 хоногт ийлдсэн дэх цитокины хэмжээ

Цитокин	Өмнөх (пг/мл) (M ± SD)	Дараах (пг/мл) (M ± SD)	P утга
IL-2	83.14±17.01	82.60±16.24	0.943
IL-4	111.36±87.2	79.54±73.23	0.389
IL-6	134.60±55.32	123.12±37.04	0.592
IL-9	73.2±106.38	39±19.64	0.334
IL-10	32.16±6.35	28.78±4.78	0.196
IL-13	83.77±22.3	80.48±20.85	0.738
IL-17A	88.63±3.1	90.61±7.41	0.446
IL-17F	29.38±6.49	28.39±4.29	0.696
IL-21	102.75±7	100.45±6.89	0.468
IL-22	113.84±26.66	108.61±18.4	0.616
IFN-γ	104.54±18.68	106.58±13.47	0.783
TNF-α	181.48±183.21	242.43±306.98	0.596

Нийт 10 хүний бөөр шилжүүлэн суулгахаас өмнөх үеийн ба шилжүүлэн суулгасны дараах 30 хоногт шинжилсэн цитокины дундаж хэмжээ хооронд статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсангүй.

Хэлцэмж: Энэхүү судалгаа нь урсгал эс тоолуурын аргаар олон төрлийн цитокиныг нэгэн зэрэг тодорхойлж, мэс заслын өмнөх ба дараах үеийн цитокины агууламжийг харьцуулах боломжийг олгож байна. Бидний судалгаагаар бөөр шилжүүлэн суулгахаас өмнөх болон дараах үеийн цитокины хэмжээ хооронд ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй бөгөөд үүнд хэд хэдэн хүчин зүйл нөлөөлсөн байх боломжтой. Үүнд судалгаанд хамруулсан хүний тоо буюу түүврийн тоо цөөн, шилжүүлэн суулгасны дараах шинжлэгдэхүүн цуглуулсан хугацаа зэрэг орно. Мөн судалгаанд хамрагдсан хүмүүсийн дархлааны түвшин, хавсарсан өвчин, дархлаа дарангуйлах эмчилгээ зэрэг нь цитокины түвшинд нөлөөлж, шилжүүлэн суулгахаас өмнөх болон дараах цитокины хэмжилтэд ялгаа ажиглагдаагүй байж болно. Эрхтэн шилжүүлэн суулгалтын үеийн цитокины түвшинг судласан өмнөх судалгаатай харьцуулбал бидний үр дүн зарим цитокины агууламжтай нийцэж байгаа боловч зарим цитокины агууламжтай зөрчилдөж байна.[12]

Манай оронд ийлдсийн цитокиныг фермент холбоот эсрэгбиеийн урвалын аргаар тодорхойлж байгаа ба урсгал эс тоолуурын аргаар тодорхойлсон судалгаа байхгүй байна. Бидний судалгааны давуу тал нь олон төрлийн цитокиныг шинэлэг аргаар тодорхойлж, олон төрлийн цитокиныг нэг зэрэг үнэлсэнд оршино.

Дүгнэлт: Бидний шинжилсэн Th цитокины агууламж бөөр шилжүүлэн суулгахын өмнөх болон дараах үед статистик ач холбогдол бүхий ялгаа гарсангүй. Цаашдын судалгаанд оролцогчдын тоог нэмж, эдийн тохирооны шинжилгээ, дархлаа дарангуйлах эмчилгээ зэрэг цитокины түвшинд нөлөөлөх хүчин зүйлтэй холбон судлах нь ач холбогдолтой байна.

Ном зүй:

1. *Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2019). Cellular and Molecular Immunology (9th ed.)*
2. *Halloran PF. Immunosuppressive drugs for organ transplantation. N Engl J Med. 2004;351(26):2715-2729.*
3. *Leventhal JR, Mathew JM, Salomon DR, Kurian SM, Suthanthiran M. Steroid- and antibody-free organ transplantation from an HLA-incompatible living donor. Curr Opin Organ Transplant. 2012;17(4):380-387.*
4. *Li B, Hartono C, Ding R, et al. Noninvasive diagnosis of organ-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. N Engl J Med. 2001;344(13):947-954.*
5. *Jin YP, Valenzuela NM, Ziegler ME, et al. Cross-talk between CD4+ T cells and organ epithelial cells promotes organ injury in HIVAN. J Am Soc Nephrol. 2014;25(2):249-262.*
6. *Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. N Engl J Med. 1969;280(14):735-739.*
7. *Vignali, D. A. A., & Kuchroo, V. K. IL-12 family cytokines: immunological playmakers. Nature immunology, 2012; 13(8), 722–728*
8. *O'Shea, J. J., & Paul, W. E. Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4+ T cells. Science, 2010; 327(5969), 1098–1102.*
9. *Klintmalm GB, Washburn WK, Rudich SM, et al. Corticosteroid-free immunosuppression with daclizumab in HCV (+) liver transplant recipients: 1-year interim results of the HCV-3 study. Liver Transpl. 2007;13(10):1521-1531.*
10. *Jonsson J, Carlsson B, Karlsson FA, Groth CG. Flow cytometric analysis of lymphocyte subsets and expression of interleukin-2 receptors in rejection and immunosuppressive therapy after kidney transplantation. Transplantation. 1990;50(6):923-928.*
11. *Chu D, George J, Kalantar-Zadeh K, Liu C, Liu G, Young HA. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. Adv Sci (Weinh). 2021;8(15):e2004433.*
12. *Ana Paula Lucas Mota, Sandra Simone Vilaça, Fernando Lucas das Mercês Cytokines signatures in short and long-term stable renal transplanted patients. Cytokine 62 (2013) 302–309*

Measurement of T cell cytokines in serum before and after kidney transplantation using flow cytometry

Enkh-Amar B[1], Gansukh Ch[1], Ariunaa A[1], Sarantsetseg J[2], Ulziikhuu T[1], Urangoo B[1], Gerelmaa E[3], Enkhtushig G[1], Nyambayar D[1], Tsogtsaikhan S[1], Khongorzul T[1,4]

[1]Department of Immunology, School of Biomedicine, MNUMS
[2]Integrated Laboratory of Clinical Pathology, The First Central Hospital
[3]Department of Microbiology and Infection Prevention Control, School of Biomedicine, MNUMS
[4]Laboratory of Immunobiology, Institute of Biomedical Sciences, MNUMS
E-mail: enkhamar@mnums.edu.mn, Tel: +976-99144687

Backround: Cytokines are small proteins that play crucial roles in cell signaling. They can stimulate or inhibit the function of other cells and modulate the immune system's response to infection, inflammation, and trauma. Before and after transplantation, monitoring cytokine levels becomes crucial for evaluating the immune response, predicting rejection episodes, and guiding therapeutic interventions. The flow cytometry method is a highly sensitive assay that allows the simultaneous study of the concentration of many cytokines.

Aim: Determination of T cell cytokines in serum before and after kidney transplantation using a flow cytometry.

Materials and Methods: The study was conducted using a cohort study design. This study included kidney transplant recipients from July 2023 to March 2024 based on the Integrated Laboratory of Clinical Pathology, The First Central Hospital. Blood samples were collected from the subjects before organ transplantation and 30 days after transplantation, and 13 types of cytokines were analyzed by flow cytometry using the Human Th Cytokine Panel (13-plex) with Filter Plate (BioLegend®) kit.

Results: The average age of participants was 36 ± 12.01, with 50% (n=5) male and 50% (n=5) female. Thirteen types of cytokines (IL-2, 4, 5, 6, 9, 10, 13, 17A, 17F, 21, 22, IFN-γ, TNF-α) were analyzed in the samples collected before kidney transplantation and 30 days after transplantation. No statistically significant differences were observed between cytokine levels.

Conclusion: Our study did not show significant differences between T cell cytokine levels before and after kidney transplantation. Further studies are required to explore other factors that could impact cytokine levels in organ transplantation, including histocompatibility testing and immunosuppressive therapy.

Keywords: Interferon, Interleukin, Inflammation, Graft acceptance,