

УДК 616.155.32:616.61-089.843 ДИНАМИКА МИНОРНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

© С. В. ЗЫБЛЕВА, С. Л. ЗЫБЛЕВ

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»,
г. Гомель, Республика Беларусь

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: изучить динамику показателей CD3⁺CD4⁺CD8⁺ даблпозитивных и CD3⁺CD4⁺CD8⁻ даблнегативных Т-лимфоцитов у пациентов при трансплантации почки.

Материалы и методы. Из 197 реципиентов почечного трансплантата сформировано три группы: ПФТ — с первично удовлетворительной функцией трансплантата, ДФТ — с первичной дисфункцией, ОПТ — с первичной дисфункцией и гистологически подтвержденным отторжением трансплантата. Изучали уровень CD3⁺CD4⁺CD8⁺ (ДП) и CD3⁺CD4⁺CD8⁻ (ДН) Т-лимфоцитов перед операцией, на 1-е, 3-и, 7-е, 30-е и 90-е сутки после операции.

Результаты. На протяжении месяца после операции в группе ПФТ отмечено снижение относительного уровня ДН Т-лимфоцитов, а в группах ДФТ и ОПТ данный показатель значительно увеличился. К 90-м суткам в группе ДФТ содержание ДН Т-лимфоцитов осталось без изменений, а в группе ПФТ отмечен статистически достоверный рост данной субпопуляции. Абсолютное содержание ДН Т-лимфоцитов в группе ПФТ на 1-е и 7-е сутки было ниже, чем в группе ОПТ. На 90-е сутки статистически значимой разницы по абсолютному количеству ДН Т-лимфоцитов между группами реципиентов не было.

Во всех группах отмечено снижение ДП Т-лимфоцитов в 1-е сутки, однако в группе ПФТ относительный уровень был значительно выше, с сохранением данной тенденции на протяжении 3 месяцев. Между группами ДФТ и ОПТ статистически достоверных различий не было. Абсолютное количество ДП Т-лимфоцитов в группе ПФТ весь период наблюдения был значимо выше, чем в группах ДФТ и ОПТ.

Заключение. В группе ПФТ отмечается снижение показателей ДН Т-лимфоцитов на фоне роста уровня ДП Т-лимфоцитов в течение первых 3 месяцев. В группе ДФТ и ОПТ выявлен рост уровня ДН Т-лимфоцитов на фоне снижения показателей ДП Т-лимфоцитов на протяжении 90 суток после операции.

Ключевые слова: CD3⁺CD4⁺CD8⁺, CD3⁺CD4⁺CD8⁻, Т-лимфоциты, трансплантация почки.

Вклад авторов: Зыблева С.В.: концепция и дизайн исследования, сбор материала и создание базы данных, статистическая обработка данных, редактирование, обсуждение данных, обзор публикаций по теме статьи, проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации.

Зыблев С.Л.: сбор материала и создание базы данных, редактирование, обсуждение данных, обзор публикаций по теме статьи, проверка критически важного содержания.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования: исследование проведено без спонсорской поддержки.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Зыблева СВ, Зыблев СЛ. Динамика минорных субпопуляций Т-лимфоцитов у пациентов при трансплантации почки. *Проблемы Здоровья и Экологии*. 2020;65(3):75–83

DYNAMICS OF MINOR T-LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN PATIENTS UNDERGOING KIDNEY TRANSPLANTATION

© SVETLANA V. ZYBLEVA, SERGEY L. ZYBLEV

Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

ABSTRACT

Objective: to study the dynamics of the indicators of CD3⁺CD4⁺CD8⁺ double-positive and CD3⁺CD4⁺CD8⁻ double-negative T-lymphocytes in patients who underwent kidney transplantation.

Material and methods. Three groups were formed out of 197 allograft recipients. PGF group consisted of patients with primary satisfactory graft function. PGD group — with primary graft dysfunction. GR group — with primary graft dysfunction and histologically confirmed graft rejection. We studied the CD3⁺CD4⁺CD8⁺ (DP) and CD3⁺CD4⁺CD8⁻ (DN) T-lymphocyte levels before the transplantation, and on the 1st, 3rd, 7th, 30th, and 90th days after the transplantation.

Results. Within a month after the transplantation we noted a decrease in the relative DN T-lymphocyte level in the PGF group, while in the PGD and GR groups this indicator significantly increased. By the 90th day, the count of DN T-lymphocytes had remained unchanged in the PGD group, while there had been a statistically significant increase of this subpopulation in the PGF group. The absolute counts of DN T-lymphocytes in the PGF group on the 1st and 7th days were lower than in the GR group. On the 90th day, there was no statistically significant difference in the absolute number of DN T-lymphocytes in the recipient groups.

In all the groups, there was a decrease in the number of DP T-lymphocytes on the 1st day, however, in the PGF group, the relative level was significantly higher. This tendency retained for 3 months. There were no statistically significant differences between the PGD and GR groups. The absolute number of DP T-lymphocytes in the PGF group during the entire observation period was significantly higher than in the PGD and GR groups.

Conclusion. We noted a decrease in the indicators of DN T-lymphocytes in the PGF group associated with the increase in the DP T-lymphocyte level within the first three months. In the PGD and GR groups, an increase in the DN T-lymphocyte level was revealed due to a decrease in the indicators of DP T-lymphocytes within 90 days after transplantation.

Key words: $CD3^+CD4^+CD8^+$, $CD3^+CD4^-CD8^-$, T-lymphocytes, kidney transplantation.

Author contributions: Zybleva S.V.: research concept and design, collecting material and creating a database, statistical data processing, editing, discussing data, reviewing publications on the topic of the article, checking critical content, approving the manuscript for publication.

Zyblev S.L.: collecting material and creating a database, editing, discussing data, reviewing publications on the topic of the article, checking critical content.

Conflict of interests: authors declare no conflict of interest.

Funding: study conducted without sponsorship.

FOR CITATION:

Zybleva SV., Zyblev SL. Dynamics of minor T-lymphocyte subpopulations in patients undergoing kidney transplantation. *Problems of Health and Ecology = Problemy Zdorov'ya i Ekologii* 2020;65(3):75–83. (In Russ.)

Введение

Одну из ключевых ролей в процессах, протекающих в организме при попадании чужеродного антигена, играют Т-клетки, а именно Т-хелперы. $CD4^+$ Т-лимфоциты участвуют в адаптивных реакциях иммунной системы, а также в поддержании иммунологического гомеостаза. Способность иммунной системы дифференцировать собственные антигены от чужеродных имеет решающее значение при формировании иммунного ответа на донорскую ткань. Даже при применении стандартных схем иммуносупрессивной терапии пересадка аллотрансплантата является сложным процессом, который часто сопровождается активацией регуляторных Т-клеток. Выделяют несколько подмножеств регуляторных Т-клеток: клетки, экспрессирующие forkhead box P3 ($Foxp3^+$ Tregs), и Т-регуляторные клетки 1 типа (Tr1). Клетки Tr1 индуцируются на периферии независимо от $Foxp3$. В свою очередь клетки $Foxp3^+$ Tregs отличаются от других подмножеств $CD4^+$ Т-клеток уникальным профилем продуцируемых цитокинов, в том числе интерлейкина-10 (ИЛ-10) — мощного иммуносупрессивного цитокина. Однако продукция Tr1-клетками ИЛ-10 пока не доказана. Способность Tr1-лимфоцитов участвовать в подавлении нежелательных иммунных реакций как к патогенным, так и непатогенным антигенам связывают с формированием долгосрочной толерантности [1, 2, 3].

Регуляторные Т-лимфоциты наряду с фактором транскрипции $Foxp3$ экспрессируют высокие уровни интерлейкина-2 (ИЛ-2) — рецептора альфа цепи CD25. В современной трансплантологии ведутся исследова-

ния по применению $Foxp3^+$ Tregs с целью достижения иммунологической толерантности, для уменьшения или отказа от иммуносупрессивной терапии, а также лечения острого отторжения трансплантата. Ключевым вопросом в клиническом использовании $Foxp3^+$ Tregs является эффективное увеличение их содержания либо за счет роста числа эндогенных $Foxp3^+$ Tregs, либо путем прямой инфузии экзогенных Т-лимфоцитов [4].

В настоящее время среди регуляторных Т-лимфоцитов выделяют еще ряд субпопуляций, одной из которых является субпопуляция дабланегативных $CD3^+CD4^-CD8^-$ Т-лимфоцитов (ДН Т-лимфоциты), составляющих около 3 % от общего числа периферических Т-клеток. Известна способность ДН Т-лимфоцитов вовлекаться в воспалительные реакции при аутоиммунных / воспалительных состояниях [5]. Описано свойство ДН Т-лимфоцитов ингибировать антигенспецифические ауто-, алло- или ксенореактивные $CD8^+$ лимфоциты, $CD4^+$ Т-лимфоциты или В-лимфоциты [6, 7, 8]. Однако механизмы, с помощью которых ДН Т-лимфоциты опосредуют антигенспецифическую супрессию, остаются малоизученными. Рядом исследователей описано подавление иммунного ответа ДН Т-лимфоцитами путем прямого цитолиза активированных антигенспецифических Т-эффекторных клеток [7, 9]. Также одним из механизмов иммуносупрессии является торможение ДН Т-лимфоцитами экспрессии костимулирующих молекул CD80 и CD86 на аллогенных дендритных клетках, активированных липополисахаридом. Кроме того, ДН Т-лимфоциты способны индуцировать гибель антигенспецифических дендритных клеток посредством Fas-FasL-взаимодействия [10].

К регуляторным Т-лимфоцитам относится также субпопуляция CD3⁺CD4⁺CD8⁺ даблпозитивных Т-лимфоцитов (ДП Т-лимфоциты). К настоящему времени установлено, что представители данной субпопуляции являются высокодифференцированными клетками памяти [11]. Рост количества ДП Т-лимфоцитов остается во многом необъяснимым, однако есть предположение, что эти клетки играют значимую роль в реакциях адаптивного иммунитета. Так, имеются данные о повышении уровня ДП Т-лимфоцитов при длительной антигенной стимуляции, при персистирующей патологии и некоторых вирусных инфекциях [11, 12, 13].

Цель исследования

Изучить динамику уровня даблпозитивных и даблнегативных Т-лимфоцитов у пациентов после трансплантации почки.

Материал и методы

В исследование включены 197 реципиентов трансплантата почки, которым выполнена трансплантация аллогенной почки в хирургическом отделении (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ». Исследование соответствовало критериям Хельсинкской декларации 1975 года, одобрено комитетом по этике ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» (протокол

№ 5 от 02.12.2013 г.). Пациенты сравниваемых групп не имели статистически значимых отличий по полу, возрасту, виду проводимого диализа до трансплантации и времени ишемии (таблица 1).

Из 197 реципиентов первичного почечного аллотрансплантата с первично удовлетворительной функцией (ПФТ) был 101 пациент (51,27 %), в группе с первичной дисфункцией почечного трансплантата (ДФТ) было 82 пациента (42,62 %). В третью группу (n = 14) вошли пациенты с первичной дисфункцией трансплантата и гистологически подтвержденным отторжением почечного трансплантата (ОПТ) (7,10 %). В качестве группы сравнения участвовали 90 практически здоровых пациентов.

Основными причинами развития терминальной стадии хронической болезни почек являлись: хронический гломерулонефрит (56,35 %), поликистоз почек (14,21 %), сахарный диабет (8,12 %), хронический пиелонефрит (7,61 %), хронический тубулоинтерстициальный нефрит (5,08 %), врожденные аномалии развития мочевых путей (4,06 %), другие причины (4,57 %).

Для определения иммунологических особенностей реципиентов почечного трансплантата применяли методику проточной цитометрии с применением многократного поступательного гейтирования.

Иммунологическое обследование пациентов проводилось перед операцией, на 1-е, 3-и, 7-е, 30-е и 90-е сутки после операции.

Таблица 1 — Пол и возраст пациентов, вид диализа, время ишемии в сравниваемых группах

Группа	Возраст, лет, М ДИ [-95 %; +95 %]	Пол, n (%)	Вид диализа, n (%)	Время ишемии, час, М ДИ [-95%; +95%]
Всего (n = 197)	45,85 [44,12; 47,58]	Жен. — 75 (38,07 %), Муж. — 122 (61,93 %)	ГД — 157 (79,70 %) ПД — 37 (18,78 %) ДД — 3 (1,52 %)	12,38 [11,77; 13,00]
Группа ПФТ (n = 101)	45,46 [42,92; 47,99]	Жен. — 38 (37,62 %) Муж. — 63 (62,38 %)	ГД — 76 (75,25 %) ПД — 23 (22,77 %) ДД — 2 (1,98 %)	11,93 [11,11; 12,75]
Группа ДФТ (n = 82)	46,32 [43,67; 48,97]	Жен. — 28 (34,15 %) Муж. — 54 (65,85 %)	ГД — 69 (84,15 %) ПД — 12 (14,63 %) ДД — 1 (1,22 %)	12,58 [11,62; 13,55]
Группа ОПТ (n = 14)	45,93 [39,92; 51,94]	Жен. — 9 (64,29 %) Муж. — 5 (35,71 %)	ГД — 12 (85,71 %) ПД — 2 (14,29 %)	13,85 [10,89; 16,81]
Сравнение показателей	p = 0,919 Kruskal-Wallis test	p = 0,100 Pearson Chi-square	p = 0,613 Pearson Chi-square	p = 0,245 Kruskal-Wallis test

Методика определения относительного и абсолютного количества субпопуляций Т-лимфоцитов

Забор крови проводили из локтевой вены в пробирки с антикоагулянтом (ЭДТА). Для определения экспрессии поверхностных маркеров даблпозитивных и даблнегатив-

ных Т-лимфоцитов методом проточной цитометрии проводили пробоподготовку по безотмывочной технологии в панели оценки активационной способности Т-лимфоцитов. К 100 мкл крови добавляли МКАТ CD4PC7, CD8FITC, CD3PC5.5 (Beckman Coulter и BD, США) в объемах, рекомендуемых фир-

мой-производителем. Инкубировали 15 минут в темноте при комнатной температуре. Для лизиса эритроцитов использовали лизирующий раствор OptiLyse B. Пробы анализировали на проточном цитофлуориметре FACS CantoII (BD, США). Накапливали не менее 10000 событий. Популяцию Т-лимфоцитов определяли как CD3⁺ клетки в гейте SSC^{low}CD45^{bright}, характерной для лимфоцитов. Оценку даблпозитивной и даблнегативной популяций проводили по гистограмме, гейтированной по CD3⁺ Т-лимфоцитам по соотношению CD4⁺ и CD8⁺ клеток. В квадранте CD3⁺CD4⁺CD8⁺ определялись даблпозитивные Т-лимфоциты, в квадранте CD3⁺CD4⁻CD8⁻ — даблнегативные Т-лимфоциты. Необходимо отметить, что популяция CD3⁺CD4⁻CD8⁻ даблнегативных Т-лимфоцитов не подлежала иммунофенотипической дифференцировке на субпопуляции и могла включать в себя как даблнегативные Т-лимфоциты с экспрессией TCRαβ, так и TCRγδ-клетки. Для вычисления абсолютного содержания даблпозитивных и даблнегативных Т-лимфоцитов использовали результаты общего анализа крови, выполнявшегося из данной пробирки в тот же день.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ «Statistica», 10,0. Описательная статистика качественных признаков представлена абсолютными и относительными частотами, а количественных признаков — в формате: среднее (доверительный интервал) — М [Confidence -95 %; +95 %] и медиана (интерквартильный размах) — Me [Q25; Q75]. Для сравнения значений использовался метод числовых характеристик (Mann-Whitney U-Test, Wilcoxon Matched Pairs Test, Kruskal-Wallis test) с оценкой распределения переменных. Для номинальных переменных использовался анализ таблиц сопряженности с оценкой различий в частотах с использованием критерия Pearson Chi-square. Результаты считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости менее 0,05.

Результаты и обсуждение

При изучении уровня CD3⁺CD4⁻CD8⁻ даблнегативных Т-лимфоцитов у реципиентов почечного трансплантата выявлены следующие результаты (таблица 2, рисунки 1 и 2).

Таблица 2 — Показатели CD3⁺CD4⁻CD8⁻ даблнегативных Т-лимфоцитов у реципиентов почечного трансплантата и группы сравнения (Me [Q25; Q75])

Показатель		CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻		
ГС		3,50 [3,10; 7,20] %		
		0,06 [0,03; 0,14] 10 ⁹ /л		
Сутки	Ед. изм.	Группы		
		ПФТ	ДФТ	ОПТ
0	%	3,80 2,98; 4,50	3,96 2,51; 5,20	4,38 2,40; 5,42
	10 ⁹ /л	0,02* 0,013; 0,028	0,023* 0,02; 0,057	0,002* 0,01; 0,02
1	%	2,94 [§] 1,86; 3,46	4,78 [#] 3,65; 6,23	5,58 [#] 3,55; 6,80
	10 ⁹ /л	0,029 [§] 0,015; 0,038	0,06 [#] 0,05; 0,10	0,06 [#] 0,03; 0,07
3	%	1,86 [§] 1,57; 2,16	4,24 [#] 3,10; 4,88	4,30 [#] 2,62; 4,40
	10 ⁹ /л	0,011* 0,007; 0,019	0,02* [#] 0,01; 0,06	0,01* 0,00; 0,03
7	%	1,97 [§] 1,51; 2,47	4,52 [#] 3,06; 5,81	4,68 [#] 3,22; 6,29
	10 ⁹ /л	0,03 [§] 0,02; 0,048	0,06 [#] 0,04; 0,11	0,05 [#] 0,03; 0,06
30	%	1,98 [§] 1,80; 2,15	5,61 [#] 3,60; 5,81	5,93 [#] 2,60; 8,35
	10 ⁹ /л	0,03* [^] 0,022; 0,043	0,07 [#] 0,01; 0,12	0,06 0,01; 0,07
90	%	5,56 [§] 3,48; 7,00	5,63 [§] 4,20; 7,73	7,08 [^] 5,47; 8,21
	10 ⁹ /л	0,11 0,06; 0,16	0,12* 0,10; 0,16	0,11 0,10; 0,14

* — p < 0,05 относительно показателей ГС; # — p < 0,05 относительно показателей группы ПФТ; ^ — p < 0,05 относительно показателей группы ДФТ; § — p < 0,05 относительно показателей группы ОПТ

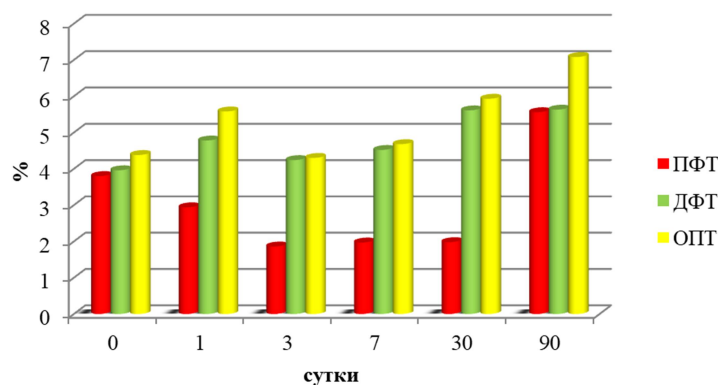


Рисунок 1 — Показатели относительного уровня CD3+CD4-CD8- дабнегативных Т-лимфоцитов

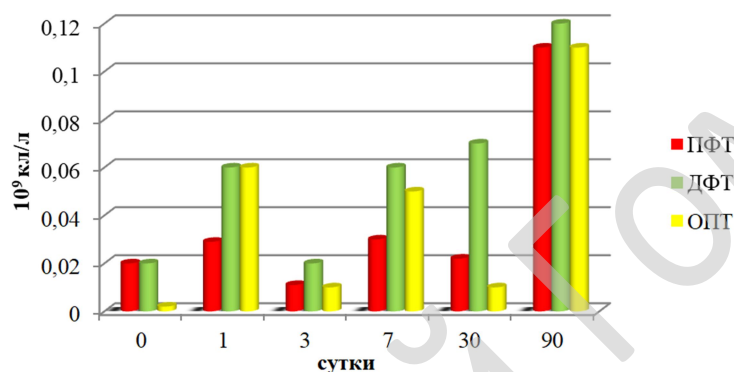


Рисунок 2 — Показатели абсолютного уровня CD3+CD4-CD8- дабнегативных Т-лимфоцитов

Относительный уровень минорной субпопуляции Т-лимфоцитов CD3+CD4-CD8- дабнегативных Т-лимфоцитов до проведения операции по трансплантации почки в группах реципиентов не имел значимых различий с группой сравнения и между собой. В 1-е сутки после операции в группе ПФТ отмечено значимое снижение уровня ДН Т-лимфоцитов (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{0,1ПФТотн} < 0,0001$). В группах ДФТ и ОПТ данный показатель вырос, причем в группе ДФТ рост был достоверным (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{0,1ДФТотн} = 0,045$, $p_{0,1ОПТотн} = 0,208$). В 1-е сутки количество CD3+CD4-CD8- лимфоцитов было значимо выше в группах ДФТ и ОПТ, чем в группе ПФТ (Mann-Whitney U-Test $p_{1ПФТ/ДФТотн} < 0,0001$, $p_{1ПФТ/ОПТотн} = 0,004$, $p_{1ДФТ/ОПТотн} = 0,673$). На протяжении первого месяца наблюдения наметившаяся динамика сохранялась: в группе ПФТ фиксировалось сниженное относительно группы сравнения и групп ДФТ и ОПТ количество ДН Т-лимфоцитов (Mann-Whitney U-Test $p_{3ПФТ/ГС} = 0,026$, $p_{7ПФТ/ГС} = 0,025$, $p_{30ПФТ/ГС} = 0,029$), а в группах ДФТ и ОПТ отмечался рост данной субпопуляции относительно дотрансплантационного уровня на 66,67 и 25,00 % соответственно (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{0,30ДФТотн} = 0,037$, $p_{0,30ОПТотн} =$

0,208). Весь указанный период уровень CD3+CD4-CD8- лимфоцитов был значимо ниже в группе ПФТ в сравнении с группами ДФТ и ОПТ, между которыми достоверных различий выявлено не было (Mann-Whitney U-Test $p_{3ПФТ/ДФТотн} < 0,0001$, $p_{3ПФТ/ОПТотн} < 0,0001$, $p_{3ДФТ/ОПТотн} = 0,747$, $p_{7ПФТ/ДФТотн} < 0,0001$, $p_{7ПФТ/ОПТотн} < 0,0001$, $p_{7ДФТ/ОПТотн} = 0,963$, $p_{30ПФТ/ДФТотн} < 0,0001$, $p_{30ПФТ/ОПТотн} = 0,025$, $p_{30ДФТ/ОПТотн} = 0,667$). К 90-м суткам в группе ДФТ содержание ДН Т-лимфоцитов осталось без существенной динамики (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{30,90ДФТотн} = 0,080$). В группе ПФТ отмечен значимый рост данной субпопуляции в 4 раза относительно 30-х суток, и ее уровень от группы ДФТ достоверно не отличался (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{30,90ПФТотн} < 0,0001$, Mann-Whitney U-Test $p_{90ПФТ/ДФТотн} = 0,140$). Однако с группой ОПТ сохранялась значимая разница, обусловленная параллельным ростом количества ДН Т-лимфоцитов в этой группе на 40,00 % (Mann-Whitney U-Test $p_{90ПФТ/ДФТ} = 0,049$).

Абсолютное содержание CD3+CD4-CD8- лимфоцитов в группе ПФТ в период с 1-х по 30-е сутки было достоверно ниже ГС, а также на 1-е и 7-е сутки ниже группы ОПТ (Mann-Whitney U-Test $p_{1ПФТ/ГСабс} = 0,017$, $p_{3ПФТ/ГСабс} = 0,004$, $p_{7ПФТ/ГСабс} = 0,018$

р_{30ПФТ/ГСабс} = 0,025, р_{1ПФТ/ОПТабс} = 0,039, р_{7ПФТ/ОПТабс} = 0,016). С группой ДФТ уровень ДН Т-лимфоцитов в группе с удовлетворительной функцией трансплантата схожие различия были выявлены на 1-е, 3-и, 7-е и 30-е сутки (Mann-Whitney U-Test р_{1ПФТ/ДФТабс} < 0,0001, р_{3ПФТ/ДФТабс} < 0,0001, р_{7ПФТ/ДФТабс} < 0,0001, р_{30ПФТ/ДФТабс} = 0,001). На 90-е сутки значимой разницы по абсолютному коли-

честву CD3⁺CD4⁺CD8⁻ лимфоцитов между группами реципиентов почечного трансплантата выявлено не было (Mann-Whitney U-Test р_{90ПФТ/ДФТотн} = 0,059, р_{90ПФТ/ОПТотн} = 0,649, р_{90ДФТ/ОПТотн} = 0,754).

При изучении уровня даблпозитивных Т-лимфоцитов у реципиентов почечного трансплантата выявлены следующие результаты (таблица 3, рисунки 3 и 4).

Таблица 3 — Показатели даблпозитивных Т-лимфоцитов у реципиентов почечного трансплантата и группы сравнения (Ме [Q25; Q75])

Показатель		CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺		
ГС		1,40 [0,90; 3,80] %		
		0,02 [0,01; 0,06] 10 ⁹ /л		
Сутки	Ед. изм.	Группы		
		ПФТ	ДФТ	ОПТ
0	%	2,10 ^{§^} 1,20; 3,11	1,32 [#] 0,73; 1,75	1,24 [#] 0,90; 1,52
	10 ⁹ /л	0,009 ^{§^} 0,005; 0,018	0,006 [#] 0,004; 0,009	0,005 [#] 0,003; 0,006
1	%	1,17 ^{§^} 0,62; 1,69	0,54 [#] 0,40; 0,62	0,54 [#] 0,44; 0,68
	10 ⁹ /л	0,01 [§] 0,007; 0,024	0,006 [#] 0,004; 0,01	0,005 [#] 0,005; 0,007
3	%	1,40 ^{§^} 0,94; 1,82	0,51 [#] 0,42; 0,62	0,61 [#] 0,47; 0,63
	10 ⁹ /л	0,008 ^{§^} 0,004; 0,015	0,002 [#] 0,002; 0,004	0,002 [#] 0,00; 0,006
7	%	1,04 ^{§^} 0,94; 1,82	0,65 [#] 0,56; 0,76	0,67 [#] 0,55; 0,87
	10 ⁹ /л	0,014 ^{§^} 0,008; 0,025	0,012 [*] 0,006; 0,017	0,007 [#] 0,005; 0,009
30	%	2,17 ^{§^} 1,50; 3,04	0,41 [#] 0,24; 1,00	0,50 [#] 0,29; 1,30
	10 ⁹ /л	0,034 ^{§^} 0,02; 0,054	0,006 [#] 0,001; 0,011	0,006 [#] 0,003; 0,009
90	%	1,52 ^{§^} 0,97; 2,35	0,70 [#] 0,65; 0,74	0,72 [#] 0,69; 0,98
	10 ⁹ /л	0,03 ^{§^} 0,02; 0,05	0,015 [#] 0,013; 0,02	0,013 [#] 0,01; 0,016

* — p < 0,05 относительно показателей ГС; # — p < 0,05 относительно показателей группы ПФТ; ^ — p < 0,05 относительно показателей группы ДФТ; § — p < 0,05 относительно показателей группы ОПТ

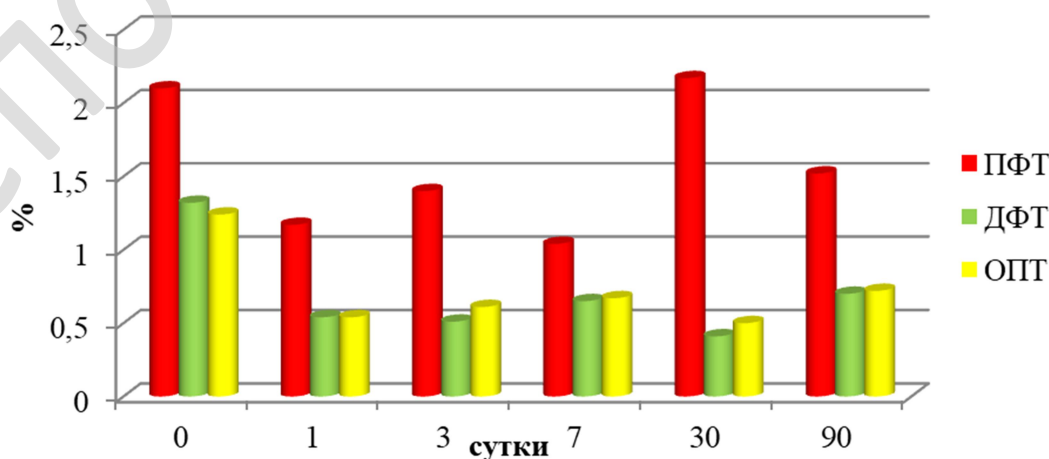


Рисунок 3 — Показатели относительного уровня CD3⁺CD4⁺CD8⁺ даблпозитивных Т-лимфоцитов

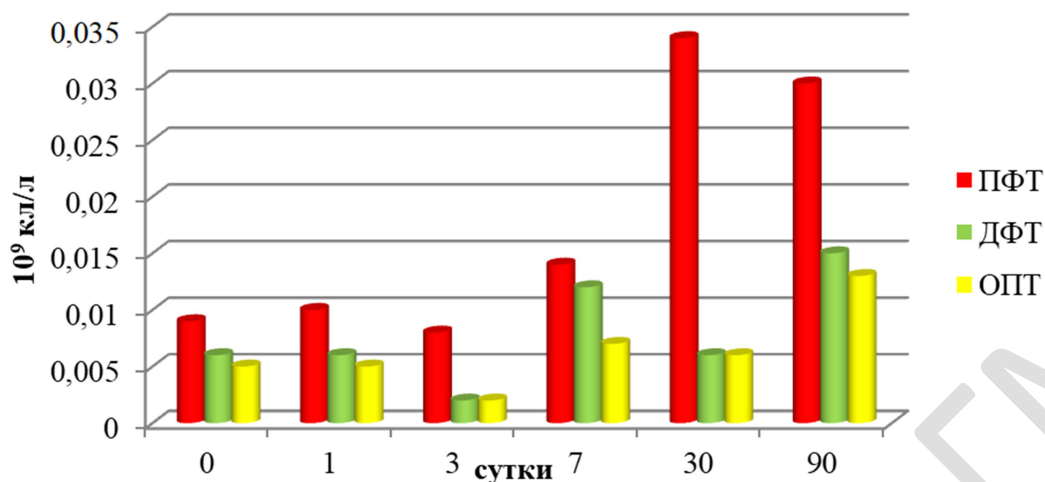


Рисунок 4 — Показатели абсолютного уровня CD3⁺CD4⁺CD8⁺ даблпозитивных Т-лимфоцитов

В дотрансплантационном периоде уровень ДП Т-лимфоцитов был значимо выше в группе ПФТ, чем в группах ДФТ и ОПТ (Mann-Whitney U-Test $p_{\text{ОПФТ/ДФТотн}} < 0,0001$, $p_{\text{ОПФТ/ОПТотн}} = 0,003$, $p_{\text{ДФТ/ОПТотн}} = 0,659$). Во всех группах наблюдения было отмечено снижение ДП Т-лимфоцитов в 1-е сутки (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{0,1\text{ПФТотн}} = 0,0002$, $p_{0,1\text{ДФТ}} < 0,0001$, $p_{0,1\text{ОПТотн}} = 0,038$). Однако в группе ПФТ относительный уровень данной субпопуляции был значимо выше, чем в группах ДФТ и ОПТ, а между группами ДФТ и ОПТ достоверных различий выявлено не было (Mann-Whitney U-Test $p_{1\text{ПФТ/ДФТотн}} < 0,0001$, $p_{1\text{ПФТ/ОПТотн}} = 0,007$, $p_{1\text{ДФТ/ОПТотн}} = 0,491$). Подобная достоверная разница сохранялась весь ранний посттрансплантационный период (Mann-Whitney U-Test $p_{3\text{ПФТ/ДФТотн}} < 0,0001$, $p_{3\text{ПФТ/ОПТотн}} = 0,001$, $p_{3\text{ДФТ/ОПТотн}} = 0,381$, $p_{7\text{ПФТ/ДФТотн}} = 0,098$, $p_{7\text{ПФТ/ОПТотн}} = 0,048$, $p_{7\text{ДФТ/ОПТотн}} = 0,375$, $p_{30\text{ПФТ/ДФТотн}} < 0,0001$, $p_{30\text{ПФТ/ОПТотн}} < 0,0001$, $p_{30\text{ДФТ/ОПТотн}} = 0,618$). Через 3 месяца после трансплантации почки в группах ОПТ и ДФТ сохранялось сниженное относительно группы ПФТ количество ДП Т-лимфоцитов (Mann-Whitney U-Test $p_{3\text{ПФТ/ДФТотн}} < 0,0001$, $p_{3\text{ПФТ/ОПТотн}} = 0,034$, $p_{3\text{ДФТ/ОПТотн}} = 0,303$).

Уровень абсолютного содержания ДП Т-лимфоцитов в группе ПФТ весь период наблюдения был выше, чем в группах ДФТ и ОПТ (Mann-Whitney U-Test $p_{1\text{ПФТ/ДФТабс}} < 0,0001$, $p_{1\text{ПФТ/ОПТабс}} = 0,007$, $p_{1\text{ДФТ/ОПТабс}} = 0,709$, $p_{3\text{ПФТ/ДФТабс}} < 0,0001$, $p_{3\text{ПФТ/ОПТабс}} = 0,001$, $p_{3\text{ДФТ/ОПТабс}} = 0,446$, $p_{7\text{ПФТ/ДФТабс}} < 0,0001$, $p_{7\text{ПФТ/ОПТабс}} = 0,003$, $p_{7\text{ДФТ/ОПТабс}} = 0,185$, $p_{30\text{ПФТ/ДФТабс}} < 0,0001$, $p_{30\text{ПФТ/ОПТабс}} < 0,0001$, $p_{30\text{ДФТ/ОПТабс}} = 0,941$, $p_{90\text{ПФТ/ДФТабс}} < 0,0001$, $p_{90\text{ПФТ/ОПТабс}} = 0,001$, $p_{90\text{ДФТ/ОПТабс}} = 0,240$).

Заключение

Таким образом, в результате нашего исследования можно сделать следующие выводы.

1. У пациентов с первично функционирующим почечным трансплантатом отмечается снижение показателей ДП Т-лимфоцитов на фоне роста уровня ДП Т-лимфоцитов в течение первых трех месяцев.

2. Для пациентов с дисфункцией почечного трансплантата и с отторжением донорского органа характерно повышение уровня ДП Т-лимфоцитов на фоне снижения показателей ДП Т-лимфоцитов на протяжении первых 90 суток посттрансплантационного периода.

3. Изучение субпопуляций ДП Т-лимфоцитов и ДН Т-лимфоцитов у пациентов после трансплантации почки дает возможность прогнозировать варианты течения посттрансплантационного периода, что позволит персонифицировать терапевтическую схему иммуносупрессивной терапии этой категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roncarolo MG, Gregori S, Bacchetta R, Battaglia M. Tr1 cells and the counter-regulation of immunity: natural mechanisms and therapeutic applications. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2014;380:39-68. doi:10.1007/978-3-662-43492-5_3
2. Głobińska A, Boonpiyathad T, Satitsuksanoa P, Kleuskens M, van de Veen W, Sokolowska M, et al. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: Diverse mechanisms of immune tolerance to allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2018; 121(3):306-12. doi:10.1016/j.anai.2018.06.026
3. Roncarolo MG, Gregori S, Bacchetta R, Battaglia M, Gagliani N. The Biology of T Regulatory Type 1 Cells and Their Therapeutic Application in Immune-

- Mediated Diseases. *Immunity*. 2018;49(6):1004-19. doi:10.1016/j.immuni.2018.12.001
4. Martin-Moreno PL, Tripathi S, Chandraker A. Regulatory T Cells and Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(11):1760-64. doi:10.2215/CJN.01750218
 5. Brandt D, Hedrich CM. TCR $\alpha\beta$ ⁺CD3⁺CD4⁻CD8⁻ (double negative) T cells in autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2018;17(4):422-30. doi:10.1016/j.autrev.2018.02.001. Epub 2018 Feb 9. PMID: 29428806
 6. Ford MS, Chen W, Wong S, Li C, Vanama R, Elford AR, Asa SL, et al. Peptide-activated double-negative T cells can prevent autoimmune type-1 diabetes development. *Eur J Immunol*. 2007;37:2234-41.
 7. Voelkl S, Gary R, Mackensen A. Characterization of the immunoregulatory function of human TCR-alpha-beta1CD4⁻ CD8double-negative T cells. *Eur J Immunol*. 2011;41:739-48.
 8. Hillhouse EE, Beauchamp C, Chabot-Roy G, Dugas V, Lesage S. Interleukin-10 limits the expansion of immunoregulatory CD4-CD8⁻ T cells in autoimmune-prone non-obese diabetic mice. *Immunol Cell Biol*. 2010;88:771-80.
 9. Ford McIntyre MS, Gao JF, Li X, Naeini BM, Zhang L. Consequences of double negative regulatory T cell and antigen presenting cell interaction on immune response suppression. *Int Immunopharmacol*. 2011;11(5):597-603. doi:10.1016/j.intimp.2010.11.015. Epub 2010 Nov 23. PMID: 21109036
 10. Gao JF, McIntyre MS, Juvet SC, et al. Regulation of antigen-expressing dendritic cells by double negative regulatory T cells. *Eur J Immunol*. 2011;41(9):2699-708. doi: 10.1002/eji.201141428. Epub 2011 Aug 4. PMID: 21660936
 11. Балацкая НВ, Еремеева ЕА, Слепова ОС, Куликова ИГ, Рябина МВ, Сорожкина ЕС. Исследование CD3+CD4+CD8+ субпопуляции лимфоцитов периферической крови пациентов с возрастной макулярной дегенерацией. *Заболевания Сетчатки и Зрительного Нерва. Точка Зрения. Восток - Запад*. 2015;1:117.
 12. Jiménez E, Sacedón R, Vicente A, Hernández-López C, Zapata AG, Varas A. Rat peripheral CD4+CD8+ T lymphocytes are partially immunocompetent thymus-derived cells that undergo post-thymic maturation to become functionally mature CD4+ T lymphocytes. *J Immunol*. 2002;168(10):5005-13. doi: 10.4049/jimmunol.168.10.5005. PMID: 11994452
 13. Хайдуков СВ. Малые субпопуляции Т-хелперов (Th наивные тимические, Th наивные центральные, TH9, TH22 И CD4+CD8+ дважды положительные Т-клетки). *Медицинская Иммунология*. 2013;15(6):503-12.
 2. Głobińska A, Boonpiyathad T, Satitsuksanoa P, Kleuskens M, van de Veen W, Sokolowska M, et al. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: Diverse mechanisms of immune tolerance to allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2018;121(3):306-12. doi:10.1016/j.anai.2018.06.026
 3. Roncarolo MG, Gregori S, Bacchetta R, Battaglia M, Gagliani N. The Biology of T Regulatory Type 1 Cells and Their Therapeutic Application in Immune-Mediated Diseases. *Immunity*. 2018;49(6):1004-19. doi:10.1016/j.immuni.2018.12.001
 4. Martin-Moreno PL, Tripathi S, Chandraker A. Regulatory T Cells and Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(11):1760-64. doi:10.2215/CJN.01750218
 5. Brandt D, Hedrich CM. TCR $\alpha\beta$ ⁺CD3⁺CD4⁻CD8⁻ (double negative) T cells in autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2018;17(4):422-30. doi:10.1016/j.autrev.2018.02.001. Epub 2018 Feb 9. PMID: 29428806
 6. Ford MS, Chen W, Wong S, Li C, Vanama R, Elford AR, Asa SL, et al. Peptide-activated double-negative T cells can prevent autoimmune type-1 diabetes development. *Eur J Immunol* 2007;37:2234-41.
 7. Voelkl S, Gary R, Mackensen A. Characterization of the immunoregulatory function of human TCR-alpha-beta1CD4⁻ CD8double-negative T cells. *Eur J Immunol*. 2011;41:739-48.
 8. Hillhouse EE, Beauchamp C, Chabot-Roy G, Dugas V, Lesage S. Interleukin-10 limits the expansion of immunoregulatory CD4-CD8⁻ T cells in autoimmune-prone non-obese diabetic mice. *Immunol Cell Biol*. 2010;88:771-80.
 9. Ford McIntyre MS, Gao JF, Li X, Naeini BM, Zhang L. Consequences of double negative regulatory T cell and antigen presenting cell interaction on immune response suppression. *Int Immunopharmacol*. 2011;11(5):597-603. doi:10.1016/j.intimp.2010.11.015. Epub 2010 Nov 23. PMID: 21109036
 10. Gao JF, McIntyre MS, Juvet SC, et al. Regulation of antigen-expressing dendritic cells by double negative regulatory T cells. *Eur J Immunol*. 2011;41(9):2699-708. doi: 10.1002/eji.201141428. Epub 2011 Aug 4. PMID: 21660936
 11. Balackaja NV, Eremeeva EA, Slepova OS, Kulikova IG, Rjabina MV, Sorozhkina ES. Issledovanie CD3+CD4+CD8+ subpopuljacji limfocitov perifericheskoj krovi pacientov s vozrastnoj makuljarnoj degeneraciej. *Zabolevanija Setchatki i Zritel'nogo Nerva Tochka Zrenija. Vostok - Zapad*. 2015;1:117 (in Russ.)
 12. Jiménez E, Sacedón R, Vicente A, Hernández-López C, Zapata AG, Varas A. Rat peripheral CD4+CD8+ T lymphocytes are partially immunocompetent thymus-derived cells that undergo post-thymic maturation to become functionally mature CD4+ T lymphocytes. *J Immunol*. 2002;168(10):5005-13. doi: 10.4049/jimmunol.168.10.5005. PMID:11994452
 13. Hajdukov SV. malye subpopuljacji T-helperov (Th naivnye timicheskie, Th naivnye central'nye, TH9, TH22 I CD4+CD8+ dvazhdy polozhitel'nye T-kletki). *Medicinskaja Immunologija*. 2013;15(6):503-12 (in Russ.)

REFERENCES

Поступила 24.08.2020
Received 24.08.2020

Принята в печать 24.09.2020
Accepted 24.09.2020

Сведения об авторах:

Зыблева Светлана Валерьевна — к.м.н., врач-иммунолог, ученый секретарь ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»; e-mail: zyb-svetlana@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3061-5324>

Зыблев Сергей Леонидович — к.м.н., доцент, врач-хирург хирургического отделения (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»; <https://orcid.org/0000-0002-0968-6630>

Автор, ответственный за переписку:

Зыблева Светлана Валерьевна — e-mail: zyb-svetlana@yandex.ru

Information about authors:

Svetlana V. Zybleva — Candidate of Medical Sciences, immunologist, academic secretary of the SI «Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology»; e-mail: zyb-svetlana@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3061-5324>

Sergey L. Zyblev — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, surgeon of the Transplantation, Endocrine and Reconstructive Surgery Department of the SI «Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology»; <https://orcid.org/0000-0002-0968-6630>

Corresponding author:

Svetlana V. Zybleva — e-mail: zyb-svetlana@yandex.ru