

Закордонець В.П., Зограб'ян Р.О., Вороняк О.С., Кубашко А.В., Баран В.Є.

ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова» НАМН України, м. Київ, Україна

Особливості стану імунної системи в потенційних реципієнтів ниркового трансплантата дитячого віку

For cite: Pochki. 2017;6:144-8. doi: 10.22141/2307-1257.6.3.2017.109029

Резюме. Актуальність. Стан імунної системи реципієнта має великий вплив на результати трансплантації й має враховуватися при виборі тактики імуносупресивної терапії. **Матеріали та методи.** Проведено ретроспективний аналіз цитометричного дослідження субпопуляції лімфоцитів периферичної крові: Т-клітини (CD3⁺, CD19⁻), Т-хелпери (CD3⁺, CD4⁺), Т-цитотоксичні (CD3⁺, CD8⁺), Т-активовані (CD3⁺, HLA-DR⁺), Т-NK-клітини (CD3⁺, CD16⁺56⁺), В-клітини (CD3⁻, CD19⁺, HLA-DR⁺), NK-клітини (CD3⁻, CD16⁺56⁺) у 40 дорослих пацієнтів віком 18–50 років і 20 дітей (вік 2–18 років) із термінальною хронічною нирковою недостатністю, які отримували нирково-замісну терапію методом програмного гемодіалізу перед алотрансплантацією нирки на базі Національного інституту хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова. **Результати.** У дітей із термінальною нирковою недостатністю порівняно з дорослими пацієнтами виявлена більша відносна кількість В-лімфоцитів і менша — Т-цитотоксичних і Т-активованих лімфоцитів. Відзначено також тенденцію до зниження рівнів Т-NK- і NK-клітин, а також підвищення співвідношення CD4⁺/CD8⁺. Стан імунної системи в пацієнтів із термінальною хронічною нирковою недостатністю дитячого віку перед трансплантацією відрізняється від такого в дорослих. Але, беручи до уваги суперечливість даних літератури з цього питання, вважаємо за необхідне продовжити дослідження з обов'язковим аналізом динаміки показників у посттрансплантаційному періоді. **Висновки.** Виявлені відмінності в кількісному складі субпопуляції лімфоцитів у дітей перед трансплантацією нирки необхідно враховувати для вибору оптимальної схеми імуносупресивної терапії.

Ключові слова: субпопуляції лімфоцитів; хронічна ниркова недостатність; реципієнт ниркового трансплантата

Вступ

Останнім десятиріччям трансплантація нирки є методом вибору в лікуванні пацієнтів із термінальною хронічною нирковою недостатністю (ТХНН). Особливо це стосується пацієнтів дитячого віку, оскільки, на відміну від інших методів замісної ниркової терапії, успішна трансплантація в дітей і підлітків не тільки ліквідує уремію, але й суттєво стимулює наявні резерви росту та фізичного розвитку, сприяє покращенню статевого дозрівання, психоемоційного й соціального розвитку. Проте, незважаючи на досягнення імуносупресивної терапії, реакція відторгнення

трансплантованого органа залишається основною причиною незадовільних результатів операції. Виникнення цього ускладнення багато в чому залежить від стану імунної системи, тому вивчення її в потенційних реципієнтів перед операцією становить великий інтерес для трансплантологів. Це також важливо для вибору оптимальної схеми імуносупресивної терапії.

Відомо, що розвиток хронічної ниркової недостатності (ХНН) супроводжується порушеннями імунної відповіді [1]. Крім того, за даними літератури, є різниця між імунологічними параметрами в дітей та дорослих, але це питання зали-

шається дискусійним. У дітей відбувається адаптація систем організму й ланок імунної системи до динамічних умов зовнішнього середовища, а також координація імунологічних механізмів з нейроендокринною регуляцією функцій організму. Поки не завершиться процес становлення імунної системи (до 16–18 років), вплив несприятливих хімічних, біологічних і фізичних факторів викликає більш глибоке порушення імунітету, ніж у зрілому віці. З огляду на особливості імунної системи в них — незрілість системи фагоцитозу, незрілість натуральних кілерів, знижений синтез інтерферонів, підвищений синтез лізоциму, висока функціональна активність тимуса — дана категорія пацієнтів із хронічною нирковою недостатністю потребує особливої уваги. За даними авторів, у додіалізних дітей із тяжкою хронічною нирковою недостатністю відмічалася значне зменшення загального числа лейкоцитів, нейтрофілів і лімфоцитів. Абсолютна кількість $CD3^+/CD45RO^+$ Т-клітин пам'яті і $CD3^+/CD45RO^+/CD62L^+$ Th2-клітин пам'яті в додіалізних пацієнтів дитячого віку з нирковою недостатністю була значно знижена порівняно зі здоровими дітьми [2]. За даними Bouts (2004), у дітей із хронічною нирковою недостатністю було виявлено значно меншу кількість В-клітин пам'яті порівняно зі здоровими, що також може сприяти низькому рівню Ig у цієї категорії пацієнтів [3]. У той же час існують дані про те, що в пацієнтів дитячого віку відмічаються більш високі показники Т- і В-клітин, більше співвідношення $CD4^+/CD8^+$ Т-клітин і підвищена бластна відповідь на антигенне подразнення. Вони можуть посилювати імунну реакцію на HLA-антигени, завдяки чому й підвищувати частоту відторгнення ниркового алотрансплантата в дітей [4]. Ряд досліджень свідчать про порушення імунної відповіді при ТХНН, що клінічно проявляється підвищеною частотою бактеріальних та вірусних інфекцій, які після серцево-судинних захворювань є другою, найбільш частою причиною смерті цих пацієнтів. Вони менше реагують на вакцинацію, у них частіше виникають новоутворення та знижена здатність розвивати реакції гіперчутливості уповільненого типу. Так, за даними Kurz et al., у пацієнтів на гемодіалізі відмічалася лімфопенія зі зменшенням числа $CD4^+$ і $CD8^+$ Т-лімфоцитів. Співвідношення T4/T8 перебували в межах нормального діапазону [5]. Деякі дослідження показують порушену функцію нейтрофілів, зменшення числа лімфоцитів, помірне зниження $CD3$ Т-лімфоцитів, зниження відношення $CD4$ до $CD8$ і зменшення числа В-лімфоцитів [6, 7]. У пацієнтів із тривалою ХНН лімфопенія може бути обумовлена зниженою проліферацією клітин [8] чи прискоренням апоптозу Т- і В-лімфоцитів [6]. При проходженні сеансів гемодіалізу деякі з цих показників змінюються, що може свідчити про

те, що уремія може відігравати роль у дисфункції імунної системи у хворих на термінальну ниркову недостатність [8, 9]. Проте всі механізми цих імунологічних змін при уремії ще невідомі [10]. У зв'язку з вищенаведеними даними ми вирішили дослідити особливості стану імунної системи в дітей порівняно з дорослими перед операцією трансплантації нирки.

Матеріали та методи

Визначення відносної кількості субпопуляцій лімфоцитів на сьогодні є одним з важливих діагностичних тестів для виявлення порушень імунної системи [11]. Цитометричне дослідження дозволяє оцінити всі основні популяції та мінорні субпопуляції лімфоцитів, що беруть участь у розвитку імунної відповіді. Проведено ретроспективний аналіз цитометричного дослідження субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові: Т-клітини ($CD3^+$, $CD19^-$), Т-хелпери ($CD3^+$, $CD4^+$), Т-цитотоксичні ($CD3^+$, $CD8^+$), Т-активовані ($CD3^+$, HLA-DR⁺), Т-NK-клітини ($CD3^+$, $CD16^+56^+$), В-клітини ($CD3^-$, $CD19^+$, HLA-DR⁺), NK-клітини ($CD3^-$, $CD16^+56^+$) у 40 дорослих пацієнтів віком 18–50 років та 20 дітей (віком 2–18 років) із ТХНН, які отримували нирково-замісну терапію шляхом програмного гемодіалізу (ПГД) перед алотрансплантацією нирки на базі Національного інституту хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова. Рівень субпопуляцій лімфоцитів визначався в сироватках крові на проточному цитофлуориметрі Beckman Coulter: Cytomics FC 500 (USA). Усі дослідження проводилися в день забору крові. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми MedStat. Отримані в ході дослідження показники відносної кількості субпопуляцій лімфоцитів крові наводили в таблиці у вигляді середнього (М) і похибки середнього (s). Порівнювали центральні тенденції для двох незалежних вибірок за W-критерієм Вілкоксона або критерієм Ст'юдента.

Результати та обговорення

Проведено порівняння відносної кількості субпопуляцій лімфоцитів у дітей та дорослих, які отримують нирково-замісну терапію і є кандидатами на трансплантацію нирки (табл. 1).

Встановлено, що кількість В-лімфоцитів у потенційних реципієнтів ниркового трансплантата дитячого віку була вірогідно більше, ніж у дорослих пацієнтів. Рівень Т-цитотоксичних і Т-активованих лімфоцитів у дітей, навпаки, був вірогідно менше. Виявлені також тенденції до зниження кількості Т-NK- та NK-клітин у дітей. У той же час співвідношення $CD4^+/CD8^+$ у дітей було дещо вищим, ніж у дорослих, проте вірогідно не відрізнялося.

У пацієнтів із ТХНН відмічається зниження загального рівня лімфоцитів периферичної крові,

Таблиця 1. Рівні субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові в потенційних реципієнтів дитячого віку та дорослих перед операцією трансплантації нирки

Показники	Діти на ПГД, n = 20	Дорослі на ПГД, n = 40	p
T-клітини (CD3 ⁺ , CD19 ⁻)	74,6000 ± 0,6067	76,75 ± 1,69	0,066
T-хелпери (CD3 ⁺ , CD4 ⁺)	51,850 ± 2,389	47,35 ± 2,15	0,612
T-цитотоксичні (CD3 ⁺ , CD8 ⁺)	19,8000 ± 0,7015	24,900 ± 1,882	< 0,001
T-активовані (CD3 ⁺ , HLA-DR ⁺)	3,7000 ± 0,2963	6,45 ± 1,05	0,003
T-NK-клітини (CD3 ⁺ , CD16 ⁺ 56 ⁺)	2,500 ± 1,404	4,45 ± 1,06	0,181
B-клітини (CD3 ⁻ , CD19 ⁺ , HLA-DR ⁺)	13,6500 ± 0,4961	8,360 ± 1,083	< 0,001
NK-клітини (CD3 ⁻ , CD16 ⁺ 56 ⁺)	6,1000 ± 0,5184	9,1 ± 1,2	0,239
Індекс (CD4 ⁺ /CD8 ⁺)	2,637 ± 0,194	2,165 ± 0,149	0,083

що розцінюється деякими авторами як предиктор смертності в пацієнтів на гемодіалізі. Знижена кількість субпопуляції лімфоцитів у пацієнтів із ХНН може призвести до зниження клітинної проліферації і/або підвищення апоптозу клітин [12]. Bouts et al. писав про те, що рівні загальних лімфоцитів та їх популяцій були знижені в дітей перед гемодіалізом та на гемодіалізі порівняно з групою контролю [12]. Раніше проведені дослідження підтвердили суттєве зниження загальної кількості В-клітин периферичної крові в даній категорії пацієнтів [13, 16]. Однак ми виявили більший рівень В-лімфоцитів у дітей, які перебувають на лікуванні гемодіалізом, порівняно з дорослими пацієнтами з ТХНН.

Відносна кількість Т-клітин, а також Т-хелперів вірогідно не відрізнялася в усіх досліджуваних нами пацієнтів, що збігається з даними Bouts [14]. Проте рівні Т-цитотоксичних CD8⁺ лімфоцитів у обстежених нами дітей були дещо нижчими, ніж у дорослих пацієнтів, і, як наслідок, індекс CD4/CD8 у дітей мав тенденцію до збільшення порівняно з дорослими.

У багатьох інших дослідженнях у дітей з перитонеальним та гемодіалізом відзначають нормальне співвідношення CD4/CD8 [15, 16]. У той же час W.C. Waltzer et al. [17], L. Morra et al. [18] описують зниження цих показників у пацієнтів з уремією порівняно з групами контролю.

Т-хелпери необхідні для негайної клітинної імунної відповіді, В-клітини — для диференціації в антитілоутворюючі клітини. Т-цитотоксичні — важливі для захисту проти вірусних інфекцій. Це може означати, що діти з хронічною нирковою недостатністю будуть більш схильні до вірусних інфекцій. У дорослих пацієнтів з уремією може спостерігатися, наприклад, висока чутливість до вірусу грипу або більш тяжкий клінічний перебіг інфекційних ускладнень [12].

Отже, стан імунної системи в реципієнтів ниркового трансплантата дитячого віку певним чином

відрізняється від такого в дорослих, але ці відмінності потребують подальшого дослідження, аналізу й динамічного спостереження.

Висновки

У дітей перед трансплантацією нирки порівняно з дорослими відмічається більша відносна кількість В-лімфоцитів та менший рівень Т-цитотоксичних і Т-активованих лімфоцитів. Виявлені також тенденції до зниження кількості Т-NK- та NK-клітин та підвищення співвідношення CD4⁺/CD8⁺ порівняно з дорослими.

Виявлені відмінності в кількісному складі субпопуляцій лімфоцитів у дітей перед трансплантацією нирки необхідно враховувати для вибору оптимальної схеми імуносупресивної терапії.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

Рецензенти: д.м.н., проф. І.О. Дудар, зав. відділу еферентних технологій ДУ «Інститут нефрології» НАМН України; д.м.н., проф В.Є. Дріянська, заступник директора з наукової роботи та зав. лабораторії імунології ДУ «Інститут нефрології» НАМН України.

References

1. Eleftheriadis T, Liakopoulos V, Leivaditis K, Antoniadis G, Stefanidis I. Infections in hemodialysis: a concise review. Part II: blood transmitted viral infections. Hippokratia. 2011;15(2):120-6. PMID: PMC3209673.

2. Nairn J, Hodge G, Henning P. Changes in leukocyte subsets: clinical implications for children with chronic renal failure. Pediatr Nephrol. 2005 Feb;20(2):190-6. doi: 10.1007/s00467-004-1727-2. PMID: 15625618.

3. Bouts AH, Davin JC, Krediet RT, Monnens LA, Nauta J, Schröder CH, van Lier RA, Out TA. Children with chronic renal failure have reduced numbers of memory B cells. Clin Exp Immunol. 2004 Sep;137(3):589-94. PMID:

15320911. PMCID: PMC1809136. doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02571.x.

4. Danovich GM. *Transplantacija pochki [Kidney transplantation]*. Moisiuk JaG, translator. Moscow: GEOTAR-ME-DIA; 2014. 848 p.

5. Kuiz P, Kohler H, et al. Impaired cellular immune responses in chronic renal failure: Evidence for a T cell defect. *Kidney International*. 1986;29(6):1209-14. PMID: 3489122.

6. Cendroglu M, Jaber BL, Balakrishnan VS, Perianayagam M, King AJ, Pereira BJ. Neutrophil apoptosis and dysfunction in uremia. *J Am Soc Nephrol*. 1999 Jan;10(1):93-100.

7. Fernandez-Fresnedo G, Ramos MA, Gonzalez-Pardo MC, Martin de Francisco AL, Lopez-Hoyos M, Arias M. B lymphopenia in uremia is related to an accelerated in vitro apoptosis and dysregulation of Bcl-2. *Nephrol Dial Transplant*. 2000 Apr;15(4):502-10. PMID: 10727545.

8. Kaul H, Girndt M, Sester U, Sester M, Köhler H. Initiation of hemodialysis treatment leads to improvement of T cell activation in patients with end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*. 2000 Apr;35(4):611-6. PMID: 10739780.

9. Manal Abdel-Salam, Shaimaa Abdelmalik Pessar. Peripheral Blood Lymphocyte Subsets Counts in Children on Regular Hemodialysis. *International Journal of Immunology*. 2015;3(1):1-6. doi: 10.11648/j.iji.20150301.11.

10. Alvarez-Lara MA, Carracedo J, Rafael RR, Alejandro MM, Mariano R, Juan AM, Pedro A. The imbalance in the ratio of Th1 and Th2 helper lymphocytes in uraemia is mediated by an increased apoptosis of Th1 subset. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(12):3084-90. doi: 10.1093/ndt/gfh382.

11. Khaidukov SV, Zurochka AV, Totolian Areg A, Chereshev VA. Major and lymphocyte populations of human peripheral blood lymphocytes and their reference values as assayed by multi-colour cytometry. *Medicinskaja Immunologija*. 2009;11(2-3):227-38.

12. Bouts AH, Out TA, Schröder CH, et al. Characteristics of peripheral and peritoneal white blood cells in children with chronic renal failure dialyzed or not. *Perit Dial Int*. 2000;20(6):748-56. PMID: 11216570.

13. Madeleine VP, Gollapudi S, Sepassi L, Gollapudi P, Elahimehr R, Vaziri ND. Effect of end-stage renal disease on B-lymphocyte subpopulations, IL-7, BAFF and BAFF receptor expression. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Jan;25(1):205-12. PMID: 19684120. PMCID: PMC2796898. doi: 10.1093/ndt/gfp397.

14. Bouts AHM. Functional and immunological studies in children with chronic renal failure: the effects of uremia and dialysis treatment; 2001. 183 p. Available from: https://pure.uva.nl/ws/files/3204402/14596_UBA002000394_02.pdf

15. Hisano S, Miyazaki C, Hatae K, Kaku Y, Yamane I, Ueda K, et al. Immune status of children on continuous peritoneal dialysis. *Pediatr Nephrol*. 1992;6(2):179-81. PMID: 1571217.

16. Deenitchina SS, Ando T, Okuda S, Kinukawa N, Hirakata H, Nagashima A, et al. Cellular immunity in hemodialysis patients: a quantitative analysis of immune cell subsets by flow cytometry. *Am J Nephrol*. 1995;15(1):57-65. PMID: 7872366.

17. Waltzer WC, Bachvaroff RJ, Raisbeck AP, Egeland-B, Pullis C, Shen L, Rapaport FT. Immunological monitoring in patients with end-stage renal disease. *J Clin Immunol*. 1984;4(5):364-8. PMID: 6238042.

18. Morra L, Ponassi GA, Gurreri G, Moccia F, Mela GS, Bessone G. T lymphocyte subsets in chronic uremic patients treated with maintenance hemodialysis. *Biomed Pharmacother*. 1990;44(1):53-6. PMID: 1369694.

Надійшла 03.08.2017,
надійшла у виправленому вигляді 07.08.2017,
прийнята до друку 08.08.2017 ■

Закордонцев В.Ф., Зограбян Р.О., Вороняк А.С., Кубашко А.В., Баран В.Е.

ГУ «Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А.А. Шалимова» НАМН Украины, г. Киев, Украина

Особенности состояния иммунной системы у потенциальных реципиентов почечного трансплантата детского возраста

Резюме. Актуальность. Состояние иммунной системы реципиента может оказывать большое влияние на результаты трансплантации и должно учитываться при выборе тактики иммуносупрессивной терапии. **Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ цитометрического исследования субпопуляции лимфоцитов периферической крови: Т-клетки (CD3⁺, CD19⁻), Т-хелперы (CD3⁺, CD4⁺), Т-цитотоксические (CD3⁺, CD8⁺), Т-активированные (CD3⁺, HLA-DR⁺), Т-НК-клетки (CD3⁺, CD16⁺56⁺), В-клетки (CD3⁻, CD19⁺, HLA-DR⁺), НК-клетки (CD3⁻, CD16⁺56⁺) у 40 взрослых пациентов в возрасте 18–50 лет и 20 детей (возраст 2–18 лет) с терминальной хронической почечной недостаточностью, которые получали почечно-заместительную терапию методом программного гемодиализа перед аллотрансплантацией почки на базе Национального института хирургии и трансплантологии имени А.А. Шалимова. **Результаты.** У детей с терминальной почечной недостаточностью по сравнению со взрослыми пациентами выявлено боль-

шее относительное количество В-лимфоцитов и меньшее — Т-цитотоксических и Т-активированных лимфоцитов. Отмечены также тенденции к снижению уровней Т-НК- и НК-клеток, а также повышению соотношения CD4⁺/CD8⁺. Состояние иммунной системы у пациентов с терминальной хронической почечной недостаточностью детского возраста перед трансплантацией отличается от такого у взрослых. Но, принимая во внимание разноречивость данных литературы по этому вопросу, считаем необходимым продолжить исследование с обязательным анализом динамики показателей в посттрансплантационном периоде. **Выводы.** Выявленные отличия количественного состава субпопуляций лимфоцитов у детей перед трансплантацией почки необходимо учитывать для выбора оптимальной схемы иммуносупрессивной терапии.

Ключевые слова: субпопуляция лимфоцитов; хроническая почечная недостаточность; реципиент почечного трансплантата

V.P. Zakordonets, R.O. Zograbian, O.S. Voroniak, A.V. Kubashko, V.Ye. Baran

SI "Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology of NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Immune system features in pediatric candidates for kidney transplantation

Abstract. Background. The state of the recipient's immune system may influence significantly the results of transplantation and should be taken into account when choosing the tactics of immunosuppressive therapy. **Materials and methods.** The retrospective analysis of cytometric peripheral blood lymphocytes examination: T cells (CD3⁺, CD19⁻), T-helper cells (CD3⁺, CD4⁺), T-cytotoxic (CD3⁺, CD8⁺), T-activated (CD3⁺, HLA-DR⁺), T-NK cells (CD3⁺, CD16⁺56⁺), B cells (CD3⁻, CD19⁺, HLA-DR⁺), NK-cells (CD3⁻, CD16⁺56⁺) was done in 40 adult and 20 pediatric patients with end stage renal disease (ESRD) on haemodialysis the day before kidney transplantation in O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantation. **Results.** Higher B-lymphocytes and lower T-cytotoxic and T-activated levels were found in children

with end stage renal disease compared to adult patients. There were also tendencies to decreased T-NK and NK-cell levels, as well as to increased CD4⁺/CD8⁺ ratio in pediatric patients. The state of immune system in pediatric patients with ESRD before transplantation differs from that in adults. But, taking into account the contradictory published data on this issue, we consider it necessary to continue the investigation with a mandatory analysis of parameters dynamics in posttransplant period. **Conclusions.** The differences of lymphocyte subsets repertoire in children before kidney transplantation should be considered when choosing optimal scheme of immunosuppressive therapy.

Keywords: lymphocyte subset; chronic renal failure; renal transplant recipient