Клиническое значение оценки субпопуляционного состава лимфоцитов крови пациентов с инфекционным поражением роговицы при кератопластике высокого риска

В.В. Нероев, Н.В. Балацкая, Е.В. Ченцова, И.Г. Куликова, Х.М. Шамхалова

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

Цель работы — исследование сдвигов в субпопуляционном составе лимфоцитов крови пациентов с инфекционным поражением роговицы в зависимости от количества перенесенных кератопластик (КП). **Материал и методы.** Обследовано 53 пациента в возрасте от 18 до 79 лет с инфекционным кератитом, разделенных в зависимости от количества проведенных КП на три группы: I (n = 27) — без КП; II (n = 12) — после одной КП; III группа (n = 14) — после двух и более КП. В контрольную группу включили 33 практически здоровых донора с гендерными и возрастными показателями, аналогичными группам исследования. Методом проточной цитометрии в крови определяли относительное и абсолютное содержание субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов (CD3+CD4+CD8-), Т-цитотоксических клеток (CD3+CD4-CD8+), дубль-позитивных Т-лимфоцитов (CD3+CD4+CD8+), NK-клеток (CD16+CD56+), В-лимфоцитов (CD19+), рассчитывали индекс CD4+/CD8+. **Результаты.** Анализ общей популяции Т-лимфоцитов и субпопуляции CD3+CD4+ показал достоверное повышение абсолютного количества Т-лимфоцитов у пациентов II группы (CD3+: $1,77 \pm 0,10 \times 10^9/\text{л}$, Т-хелперы: $1,02 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$) по сравнению с I группой ($1,44 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ и $0,85 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ соответственно). В III группе отмечалось существенное и значимое увеличение относительного количества CD3+CD4+ (50,1 ± 1,9 %) по сравнению с группами без КП (I: 43,2 ± 1,5 %) и однократным хирургическим вмешательством (II: 43,3 ± 1,8 %), что привело к достоверному увеличению соотношения CD4+/CD8+ в III группе (2,16 ± 0,19). В крови всех больных (I группа: $0,020 \pm 0,003 \times 10^9/\text{л}$, II: $0,030 \pm 0,002 \times 10^9/\text{л}$, III: $0,030 \pm 0,001 \times 10^9/\text{л}$) выявлено достоверное повышение абсолютного количества дубль-позитивных Т-лимфоцитов (CD3+CD4+CD8+) по сравнению с контролем ($0,009 \pm 0,007 \times 10^9/\text{л}$). **Заключение.** Выявленные изменения в клеточной составляющей иммунного статуса, общие для всех пациентов, характеризовались исключительно сдвигами Т-звена иммунитета. Индивидуальный анализ по характеру сдвигов Т-хелперов и CD4+/CD8+ в сторону повышения от нормы позволил качественно выделить III группу (с двумя и более КП). Полученные данные представляются важными для разработки критериев прогнозирования КП высокого риска и свидетельствуют о необходимости иммуносупрессии.

Ключевые слова: инфекция; кератит; язвы роговицы; бельма роговицы; кератопластика высокого риска; субпопуляции лимфоцитов

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Для цитирования: Нероев В.В., Балацкая Н.В., Ченцова Е.В., Куликова И.Г., Шамхалова Х.М. Клиническое значение оценки субпопуляционного состава лимфоцитов крови пациентов с инфекционным поражением роговицы при кератопластике высокого риска. Российский офтальмологический журнал. 2020; 13 (3): 30-5. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-3-30-35>

Clinical significance of assessing the subpopulation composition of blood lymphocytes in patients with infectious corneal lesions in high-risk keratoplasty

Vladimir V. Neroev, Natalia V. Balatskaya, Ekaterina V. Chentsova, Irina G. Kulikova, Hanika M. Shamkhalova

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia
dr.murnika@gmail.com

The purpose is to study the shifts in the subpopulation composition of blood lymphocytes in patients with infectious corneal lesions, depending on the number of keratoplasties (KP) undergone by the patient. **Material and methods.** We examined 53 patients (aged 18 to 79) with infectious keratitis, divided into three groups, depending on the number of KP: group I ($n = 27$) with no KP; groups II ($n = 12$) who underwent one KP; group III ($n = 14$) who has two or more KPs. The control group consisted of 33 apparently healthy donors. The relative and absolute content of subpopulations of T lymphocytes (CD3+), T helper cells (CD3+CD4+CD8-), T cytotoxic cells (CD3+CD4-CD8+), double positive T lymphocytes (CD3+CD4+CD8+), NK cells (CD16+CD56+), and B lymphocytes (CD19+) was determined using flow cytometry, the CD4+/CD8+ index was calculated. **Results.** The analysis of the total population of T lymphocytes and the CD3+CD4+ subpopulation showed a significant increase in the absolute number of T lymphocytes in group II (CD3+: $1.77 \pm 0.10 \times 10^9/l$; T helpers: $1.02 \pm 0.09 \times 10^9/l$) as compared to group I ($1.44 \pm 0.06 \times 10^9/l$ and $0.85 \pm 0.03 \times 10^9/l$, respectively). In group III, there was a substantial significant increase in the relative amount of CD3+CD4+ ($50.1 \pm 1.9\%$) as compared to groups without KP (I: $43.2 \pm 1.5\%$) and one surgery group (II: $43.3 \pm 1.8\%$), which led to a significant increase in the ratio of CD4+/CD8+ in group III (2.16 ± 0.19). In the blood of all patients (group I: $0.020 \pm 0.003 \times 10^9/l$; II: $0.030 \pm 0.002 \times 10^9/l$; III: $0.030 \pm 0.001 \times 10^9/l$) a significant increase in the absolute number of double positive T lymphocytes (CD3+CD4+CD8+) as compared to the control ($0.009 \pm 0.007 \times 10^9/l$) was revealed. **Conclusion.** The changes revealed in the cellular component of the immune status, common for all patients were characterized exclusively by shifts in the T link of immunity. Individual analysis of the nature of shifts of T helper cells and CD4+/CD8+ going upward from the norm allowed us to qualitatively identify group III (with two or more KPs). The obtained data are important for the development of the criteria for predicting high-risk keratoplasty and confirm that immunosuppression is needed.

Keywords: infection; keratitis; corneal ulcers; corneal worms; high-risk keratoplasty; subpopulations of lymphocytes

Conflict of interests: there is no conflict of interests.

Financial disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

For citation: Neroev V.V., Balatskaya N.V., Chentsova E.V., Kulikova I.G., Shamkhalova H.M. Clinical significance of assessing the subpopulation composition of blood lymphocytes in patients with infectious corneal lesions in high-risk keratoplasty. Russian ophthalmological journal. 2020; 13 (3): 30-5 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-3-30-35>

Хирургическая реабилитация пациентов с тяжелыми воспалительными поражениями роговицы (инфекционными, на фоне системных аутоиммунных заболеваний) является одной из наиболее трудных проблем в офтальмологии [1].

С внедрением современных достижений общей трансплантологии и иммунодиагностики, совершенствованием микрохирургической техники, включая тщательный отбор, подготовку и защиту донорского трансплантата, и разработкой схем пред- и постоперационной терапии появилась возможность предотвратить реакцию тканевой несовместимости, улучшить анатомические и функциональные результаты кератопластики (КП). Однако, несмотря на значительные успехи, частота неблагоприятных исходов пересадки роговицы все еще продолжает оставаться достаточно высокой [2, 3].

Известно, что роговица является иммунологически привилегированной аваскулярной тканью со слабой экспрессией молекул МНС (Major histocompatibility complex), наличием факторов, строго регламентирующих миграцию иммунокомпетентных клеток в эпителии, и иммуносупрессивных веществ (TGFB1, PDL-1, IDO и др.) во влаге передней камеры глаза. Продолжительное действие повреждающих агентов (инфекции, травмы, в том числе хирургической, особенно повторной) способно отменить иммунную привилегию посредством активации каскада локальных им-

мунологических механизмов, усиливая продукцию целого ряда медиаторов, ответственных за индукцию и стимуляцию ангио- и лимфогенеза в роговице, направление иммунного ответа, хемотаксис лейкоцитов в очаг воспаления и т. д. [4, 5].

Особенно высока вероятность неблагоприятных исходов КП у пациентов с поствоспалительными бельмами инфекционной этиологии, а также при повторных трансплантациях (группа пациентов высокого риска), поскольку как самостоятельно действующий инфекционный фактор, так и/или повышение уровня антигенной нагрузки при каждой новой пересадке, инициируя запуск эффекторных механизмов иммунитета и провоцируя новый виток аллосенсибилизации, могут привести к срыву системной иммунорегуляции, активации и доминированию патологических органоспецифических реакций и в итоге к усилению воспаления в оболочках глаза и необратимой потере зрительных функций [5].

Исследования иммунологического статуса пациентов с центральными инфекционными язвами роговицы представили убедительные доказательства системных нарушений в основных звеньях иммунитета, тесно ассоциированных с тяжестью деструктивного процесса и характеризующихся разнонаправленными сдвигами в субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови: как в адаптивном,

с доминирующими нарушениями в популяции Т-клеток (CD3+ CD4+) и Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+ CD8+), так и врожденном, с изменением содержания натуральных киллеров (NK; CD16+CD56+) [6].

Следует отметить, что анализ субпопуляционного состава лимфоцитов и, в частности, определение в крови пациентов абсолютного количества Т-хелперов (в том числе активированных), Тreg-клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов с расчетом индекса соотношения основных регуляторных субпопуляций CD4+/CD8+ в настоящее время широко востребован и применяется в общей трансплантологии для прогнозирования исходов трансплантации [7, 8].

В ряде зарубежных публикаций представлены доказательства клинической информативности исследования клеточной составляющей иммунного статуса пациентов для определения лечебной тактики, режимов введения иммуносупрессивной и противoinфекционной терапии при пересадках солидных органов [9–11].

Однако в офтальмологической клинике при кератотрансплантациях и особенно у пациентов группы высокого риска с тяжелыми инфекционными поражениями роговицы, а также при повторных КП этот вопрос специальному изучению не подвергался.

ЦЕЛЬ работы — исследование сдвигов в субпопуляционном составе лимфоцитов крови пациентов с инфекционным поражением роговицы в зависимости от количества перенесенных КП.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 53 пациента в возрасте от 18 до 79 лет (35 мужчин и 18 женщин) с бельмами роговицы, язвами роговицы и сквозного кератотрансплантата, мутным сквозным трансплантатом после перенесенного инфекционного кератита, находившихся на лечении в отделении реконструктивной хирургии и травматологии НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, где им была выполнена КП. Основанием для постановки диагноза служили данные анамнеза, клинические признаки, выявленные при биомикроскопии, а также лабораторные методы исследования.

В 21 (40 %) случае отмечали наличие поствоспалительного бельма, в 6 (11,3 %) — язвы роговицы, в 20 (37,7 %) — мутный сквозной трансплантат и в 6 (11,3 %) — язвы сквозного кератотрансплантата.

Данные оценки иммунного статуса, проанализированные в ходе сравнительного анализа в зависимости от возраста, не выявили значимого различия между показателями в подгруппах больных 18–45 лет и 51–79 лет соответственно.

В зависимости от количества проведенных пересадок роговицы пациенты были распределены на три группы: 27 (50,1 %) больных перед проведением первой КП составили I группу, во II группу вошли 12 (22,6 %) пациентов, госпитализированных для выполнения повторной (вторичной) трансплантации, 14 (26,4 %) пациентов после двух и более КП составили группу III.

В I группе бельма роговицы отмечены в 21 (77,7 %) случае, из них 3-й категории в 6 (22,2 %) случаях, 2-й категории — в 9 (33,3 %) случаях, 1-й категории — в 6 (22,2 %) случаях; язвы роговицы — в 6 (22,3 %) случаях. У 3 (11,1 %) пациентов проведена послойная КП, у 24 (88,9 %) — сквозная. Острота зрения до операции в планируемом для КП глазу была крайне низкая и составляла от правильной проекции света до 0,02. У 4 (14,8 %) пациентов отмечена поверхностная васкуляризация роговицы, у 2 (7,4 %) — глубокая.

У 7 (58,3 %) пациентов II группы определялся мутный сквозной трансплантат. Язвы кератотрансплантата выяв-

лены у 5 (41,7 %) пациентов. В 83,3 % случаях произведена сквозная пересадка роговицы. Острота зрения составила от неправильной светопроекции до 0,02. В 25 % случаев определена глубокая васкуляризация роговицы.

В группе III в абсолютном большинстве случаев (n = 13; 92,8 %) определялся мутный сквозной трансплантат, у одного пациента выявлена язва кератотрансплантата (n = 1; 7,2 %). В 85,7 % случаев выявлена сквозная КП. Острота зрения в дооперационном периоде была крайне низкой и составляла от правильной проекции света до 0,01. Глубокая и поверхностная васкуляризация роговицы выявлена у 10 (71,4 %) больных.

Группу контроля составили 33 практически здоровых донора с гендерными и возрастными показателями, аналогичными группам исследования.

Материалом исследования служили пробы цельной крови, взятой из локтевой вены натощак в утренние часы (с 9:00 до 10:00 ч) при помощи вакуумных систем в пробирки Vacuette® с антикоагулянтом K₂EDTA. Иммунофенотипирование проведено методом лазерной цитофлуориметрии на проточном цитометре BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США) с использованием системы моноклональных антител Multitest 6-Color TBNK Reagent в пробирках BD TruCount (Becton Dickinson, США). Для лизиса эритроцитов и фиксации лейкоцитов использовался BD FACS TM Lysing Solution (Becton Dickinson, США). Относительное и абсолютное содержание популяций и субпопуляций лимфоцитов определялось в программе Canto (Becton Dickinson, США) с выделением анализируемого региона по общей популяции, экспрессирующей антиген CD45+, и по гранулярности клеток (CD45+PerCP-Cy5,5*/SSC); применялись меченные флуорохромами антитела к CD3+(FITC), CD4+(PE-Cy7*), CD8+(APCCy7*), CD16+/56+(PE), CD19+(APC*), позволяющие дифференцировать клетки: Т-лимфоциты (CD3+), Т-хелперы (CD3+CD4+CD8-), Т-цитотоксические (CD3+CD4-CD8+), дубль-позитивные Т-клетки (CD3+CD4+CD8+), NK-лимфоциты — натуральные киллеры (CD16+CD56+), В-лимфоциты (CD19+). Вычисляли соотношение субпопуляций CD3+CD4+/CD3+CD8+, отражающее баланс Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток (CD4+/CD8+).

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием приложения Microsoft Excel 2010 и статистической программы Statistica 10.1 (StatSoft, США). Проведен расчет среднего арифметического значения (M), стандартной ошибки среднего (m), минимальных (min) и максимальных (max) значений, размаха вариации (разность max-min). Для оценки достоверности полученных результатов при сравнении средних показателей использовался t-критерий Стьюдента. При сравнении частот выявления признака использовался точный критерий Фишера. Различия между выборками считали достоверными при p < 0,05, доверительный интервал — 95 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице представлены данные анализа субпопуляционного состава лимфоцитов пациентов основных групп и группы контроля.

Исследования показали, что содержание лимфоцитов (CD45+) в крови всех пациентов находилось в пределах нормы (в среднем на уровне $2,06 \pm 0,11 \times 10^9/\text{л}$).

Анализ средних значений как общей популяции циркулирующих Т-лимфоцитов (CD3+), так и субпопуляции CD3+CD4+ клеток (Т-хелперов) обнаружил достоверное повышение их абсолютного количества у пациентов по-

Таблица. Содержание основных субпопуляций лимфоцитов в крови пациентов группы КП высокого риска в зависимости от количества проведенных пересадок роговицы
Table. The content of the main subpopulations of lymphocytes in the blood of high-risk KP patients, depending on the number of corneal transplants

Показатель Parameter		Группы Groups			
		контроль control n = 33	I n = 27	II n = 12	III n = 14
Лимфоциты CD45+ Lymphocytes CD45+	$\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{л}$	$2,06 \pm 0,11$	$2,08 \pm 0,08$	$2,38 \pm 0,22$	$1,97 \pm 0,15$
Т-лимфоциты CD3+ T-lymphocytes (total population) CD3+	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{л}$	$73,10 \pm 0,87$	$72,30 \pm 1,42$	$74,00 \pm 1,18$	$75,9 \pm 1,7$
Т-хелперы CD3+CD4+ T helpers CD3+CD4+	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{л}$	$45,70 \pm 1,19$	$43,2 \pm 1,5^{***}$	$43,3 \pm 1,8$	$50,1 \pm 1,9^{**}$
Т-цитотоксические лимфоциты CD3+CD8+ T cytotoxic lymphocytes CD3+CD8+	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{л}$	$25,60 \pm 1,04$	$26,70 \pm 1,40$	$29,1 \pm 1,8$	$25,2 \pm 1,8$
Дубль-позитивные Т-лимфоциты CD3+CD4+CD8+ Double-positive T-lymphocytes CD3+CD4+CD8+	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{л}$	$0,54 \pm 0,31$	$1,08 \pm 0,13$	$1,15 \pm 0,23$	$1,4 \pm 0,4$
В-лимфоциты CD19+ B-lymphocytes CD19+	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{л}$	$12,80 \pm 0,63$	$11,4 \pm 0,8$	$11,8 \pm 1,0$	$10,8 \pm 1,2$
Натуральные киллеры CD16+CD56+ Natural killers CD16+CD56+	% $\times 10^9/\text{л}$ $\times 10^9/\text{л}$	$14,00 \pm 0,87$	$15,6 \pm 1,4$	$13,6 \pm 1,7$	$12,8 \pm 1,4$
CD4+/CD8+ Ratio CD4+/CD8+	Расчетн. ед. Conventional units	$1,95 \pm 0,12$	$1,79 \pm 0,14$	$1,56 \pm 0,10$	$2,16 \pm 0,19^{**}$

Примечание. n — количество пациентов; p — достоверность различия параметров: * — у больных групп I и II, ** — между II и III группами, *** — при сравнении I и III групп, # — при сравнении с контролем ($p < 0,05$).
Note. n — number of patients; p — statistical significance of the difference: * — between patients of groups I and II, ** — between patients of groups II and III, *** — between patients of groups I and III, # — as compared to the control ($p < 0.05$).

сле однократно проведенной трансплантации роговицы (II группа; Т-лимфоциты: $1,77 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$; Т-хелперы: $1,02 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$) по сравнению с таковыми I (без КП: $1,44 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ и $0,85 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ соответственно; $p < 0,05$) и тенденцией к различию с III группой.

В случаях многократных, двух и более, пересадок роговицы (III группа) в крови больных отмечалось существенное статистически значимое увеличение относительного содержания CD3+CD4+ по сравнению с этим показателем в группах без КП (I группа) и у пациентов, перенесших одну КП (II группа) ($50,1 \pm 1,9$ % против $43,2 \pm 1,5$ и $43,3 \pm 1,8$ % соответственно), что привело к дисбалансу в составе иммунорегуляторных субпопуляций — повышению индекса CD4+/CD8+ в III группе (до $2,16 \pm 0,19$ расчетн. ед., $p < 0,05$).

Достоверное увеличение в крови абсолютного и относительного количества Т-цитотоксических (CD3+CD8+) лимфоцитов качественно выделило группу пациентов с однократно проведенной КП в анамнезе, и напротив, у больных III группы наблюдалась тенденция к снижению данной субпопуляции.

Обнаруженные сдвиги Т-хелперных клеток, а также повышение соотношения иммунорегуляторных субпопуляций (CD4+/CD8+) в крови согласуются с данными как отечественных, так и зарубежных работ из общей трансплантологии, отметивших подобную динамику этих показателей при пересадках солидных органов (почек и печени) [12, 13].

Обратим внимание, что в настоящее время широко обсуждается роль неспецифических эффекторных механизмов в трансплантационном иммунитете — участие натуральных киллеров в развитии острой реакции тканевой несовместимости: в работах ряда авторов приведены факты повышения количества этой популяции лимфоцитов в периферической крови больных при отторжении трансплантатов солидных органов [14–16].

В нашем исследовании наблюдалась тенденция к снижению абсолютного и относительного количества этих клеток в крови пациентов с проведенной КП, наиболее выраженная в III группе (у больных с двумя и более пересадками роговицы).

В целом отмеченное нами снижение циркулирующих НК-лимфоцитов (CD16+CD56+) в случае одной и много-

кратных пересадок и повышение в крови пациентов этих групп субпопуляции Т-хелперов (абсолютного количества во II и относительного (процентного) содержания в III группе) (см. таблицу) позволяют думать о доминировании и быстрой мобилизации специфических эффекторных механизмов с накоплением клеток памяти и их вероятном участии в неблагоприятных исходах повторных кератотрансплантаций, однако исследовать эти механизмы в настоящей работе не представилось возможным.

В пользу данного предположения могут свидетельствовать как достоверное повышение абсолютного количества дубль-позитивных Т-лимфоцитов крови пациентов всех групп по сравнению с контролем (см. таблицу), так и показателя относительного содержания этой субпопуляции лимфоцитов, для которого отмечались похожие сдвиги с максимальным средним значением у пациентов с многократными КП (III группа), но ввиду небольшой выборки этой группы они не нашли статистического подтверждения.

Как известно, дубль-позитивные Т-лимфоциты являются минорной субпопуляцией клеток, характеризуются фенотипом CD3+CD4+CD8+ и могут быть обнаружены в периферической крови человека наряду с основными эффекторными популяциями врожденного и адаптивного иммунитета. На сегодняшний день установлено, что дубль-позитивные Т-лимфоциты являются высокодифференцированными клетками памяти [17]. Поэтому нельзя исключить их вероятное участие в инициации и быстром накоплении специфических эффекторных лимфоцитов, участвующих в отторжении донорской аллогенной ткани. Субпопуляцию CD3+CD4+CD8+ клеток сегодня также принято рассматривать и в аспекте защиты от инфекций. Имеются сведения об увеличении CD4+CD8+ лимфоцитов в периферической крови при мононуклеозе, вызванном вирусом Эпштейна — Барр, ВИЧ-инфекции и др.

Достоверное увеличение абсолютного количества Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+) в крови пациентов II группы, как и субпопуляции CD3+CD4+CD8+ у всех обследованных больных может служить доказательством иммунного ответа на присутствие инфекционных возбудителей, которое было подтверждено перед лечением специальными лабораторными методами (серологическими исследованиями при определении этиологии процесса поражения).

Закономерности, выявленные при оценке клеточной составляющей иммунологического статуса, нашли свое подтверждение и в индивидуальном анализе сдвигов от нормы для каждой исследуемой группы (рис. 1, 2).

Рис. 1. Частота сдвигов относительно нормы абсолютного количества популяций/субпопуляций Т-лимфоцитов (%) у пациентов в зависимости от количества КП

Fig. 1. The frequency of shifts (relative to the norm) of the absolute number of populations/subpopulations of T-lymphocytes (%) in patients depending on the number of keratoplasties

При анализе частоты сдвигов от нормальных значений наиболее сильные и в подавляющем количестве случаев однонаправленные колебания (как абсолютного, так и процентного содержания) обнаружены в Т-клеточном звене иммунитета (рис. 1, 2).

Независимым от количества выполненных трансплантаций в анамнезе и характерным признаком во всех группах явилась однонаправленная динамика количественных показателей субпопуляции: ни в одном случае не было выявлено их снижения относительно нормы.

Эти результаты выступают косвенным доказательством наличия иммунного ответа на присутствие инфекционных возбудителей, активация которых, как известно, крайне нежелательна при проведении трансплантаций и должна приниматься во внимание для определения диагностической (лабораторного подтверждения инфицированности) и лечебной тактики (назначения противовирусных средств).

Повышение относительного содержания Т-хелперов и, как следствие, увеличение соотношения CD4+/CD8+, чаще всего выявляемое (в 42 и 28 % соответственно) у пациентов в III группе, свидетельствуют о разбалансировке регуляторных субпопуляций лимфоцитов, напряженности эффекторного клеточного звена иммунитета и должны учитываться при определении вида и режимов иммуносупрессивной терапии.

Практически у трети больных из всех госпитализированных для проведения КП отмечено повышение абсолютного числа цитотоксических CD3+CD8+ лимфоцитов относительно нормы, несколько чаще, более чем в 40 % случаев, описанные сдвиги встречались во II группе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные изменения в клеточной составляющей иммунного статуса, общие для всех пациентов с инфекционным поражением роговицы групп КП высокого риска, характеризовались исключительно сдвигами субпопуляций (как абсолютного, так и относительного количества) Т-звена иммунитета. Индивидуальный анализ частоты и характера сдвигов Т-хелперов и CD4+/CD8+ в сторону повышения от нормы качественно выделил III группу (с двумя и более КП). Тяжелый системный дисбаланс основных иммунорегуляторных субпопуляций выявлялся практически в трети случаев. Полученные данные представляются важными для разработки критериев прогнозирования КП высокого риска и свидетельствуют о необходимости целенаправленной иммуносупрессии.

Рис. 2. Частота сдвигов относительно нормы процентного количества популяций/субпопуляций Т-лимфоцитов (%) у пациентов в зависимости от количества КП

Fig. 2. The frequency of shifts (relative to the norm) of the percentage of populations/subpopulations of T-lymphocytes (%) in patients depending on the number of keratoplasties

Литература/References

1. Слепова О.С., Быковская Г.Н., Макаров П.В. и др. Исследование эффективности применения циклоспорина А у больных с высоким риском отторжения кератотрансплантата. Вестник офтальмологии. 2007; 123 (4): 19–22. [Slepova O.S., Bykovskaya G.N., Makarov P.V., et al. Investigation of the effectiveness of Cyclosporin A in patients with a high risk of keratograft rejection. Vestnik oftal'mologii. 2007; 123 (4): 19–22 (in Russian)].
2. Труфанов С.В., Суббот А.М., Маложен С.А., Крахмалева Д.А., Саловарова Е.П. Реакция тканевой несовместимости после трансплантации роговицы. Офтальмология. 2017; 14 (3): 180–7. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2017-3> [Trufanov S.V., Subbot A.M., Malozhen S.A., Krakhmalev D.A., Salovarova E.P. Tissue incompatibility reaction after corneal transplantation. Ophthalmology. 2017; 14 (3): 180–7 (in Russian). <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2017-3>]
3. Гундорова Р.А., Ченцова Е.В., Макаров П.В., Кузусева А.Э., Ракова А.В. Опыт пересадки обезвоженной роговицы. Вестник офтальмологии. 2011; (4): 59–62. [Gundorova R.A., Chentsova E.V., Makarov P.V., Kuzusheva A.E., Rakova A.V. Experience of transplanting a dehydrated cornea. Vestnik oftal'mologii. 2011; (4): 59–62 (in Russian)].
4. Труфанов С.В., Суббот А.М., Саловарова Е.П. Факторы риска, клинические проявления, методы профилактики и лечения реакции отторжения трансплантата роговицы. Вестник офтальмологии. 2016; 132 (6): 108–16. [Trufanov S.V., Subbot A.M., Salovarova E.P. Risk factors, clinical manifestations, methods of prevention and treatment of corneal graft rejection. Vestnik oftal'mologii. 2016; 132 (6): 108–16 (in Russian)].
5. Миронкова Е.А., Демкин В.В., Слепова О.С. и др. Диагностика и роль ВГЧ-6 инфекции при кератопластике высокого риска. Российский офтальмологический журнал. 2012; 5 (3): 30–4. [Mironkova E.A., Demkin V.V., Slepova O.S., et al. Diagnostics and role of HHV-6 infection in high-risk keratoplasty. Russian ophthalmological journal. 2012; 5(3): 30–4 (in Russian)].
6. Куликова И.Г., Балацкая Н.В., Ковалева Л.А., Макаров П.В. Частота сдвигов от нормы в субпопуляционном составе крови пациентов с центральной язвой роговицы. Медицинская иммунология. 2018; 20 (2): 263–70. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-263-270> [Kulikova I.G., Balatskaya N.V., Kovaleva L.A., Makarov P.V. Frequency of deviations from normal values in the blood subpopulations' profile in the patients with central corneal ulcers. Medical Immunology (Russia). 2018; 20 (2): 263–70 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-263-270>]
7. Носик А.В., Коротков С.В., Смольникова В.В. и др. Эффекторные CD4+ Т-лимфоциты и дендритные клетки — неинвазивные биомаркеры позднего клеточного отторжения при трансплантации почки. Трансплантология. 2018; 10 (3): 207–16. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2018-10-3-207-216> [Nosik A.V., Korotkov S.V., Smolnikova V.V., et al. Effector CD4+ T-lymphocytes and dendritic cells — noninvasive biomarkers of late cell rejection in transplantation kidneys. Transplantation. 2018; 10 (3): 207–16 (in Russian). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2018-10-3-207-216>]
8. Коротков С.В., Носик А.В., Смольникова В.В. и др. CD4+ Т-клетки и их популяции как прогностический маркер острого отторжения при трансплантации почки. Наука и инновации. 2016; (8): 33–7. [Korotkov S.V., Nosik A.V., Smolnikova V.V., et al. CD4+ T cells and their populations as a predictive marker of acute rejection in kidney transplantation. Science and innovation. 2016; (8): 33–7 (in Russian)].
9. Kotton C.N. CMV: Prevention, diagnosis and therapy. Amer. J. Transplant. 2013; (13): 24–40. doi:10.1111/ajt.12006
10. Maguire O., Tario J.D., Shanahan T.C., Wallace P.K., Minderman H. Flow cytometry and solid organ transplantation: a perfect match. Immunol. Invest. 2014; 43 (8): 756–74. doi: 10.3109/08820139.2014.910022
11. Wood K.J., Bushell A., Hester J. Regulatory immune cells in transplantation. Nat. Rev. Immunol. 2012 May 25; 12 (6): 417–30. doi: 10.1038/nri3227
12. Шутко А.Н., Герасимова О.А., Екимова Л.П., Жеребцов Ф.К., Гранов А.М. Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов крови у реципиентов в течение первого месяца после пересадки печени. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2015; 17 (1): 68–73. doi: 10.15825/1995-1191-2015-1-68-73 [Shutko A.N., Gerasimova O.A., Ekimova L.P., Zherebtsov F.K., Granov A.M. Features of the subpopulation composition of blood lymphocytes in recipients during the first month after liver transplantation. Bulletin of Transplantation and artificial organs. 2015; 17 (1): 68–73 (in Russian). doi: 10.15825/1995-1191-2015-1-68-73]
13. Adenugba A. NK cells in transplantation. Transplantation. 2017; 101 (10): 2262–4. doi: 10.1097/TP.0000000000001914
14. Shaffer B.C., Hsu K.C. How important is NK alloreactivity and KIR in allogeneic transplantation? Best Pract. Res. Clin. Haematol. 2016; 29 (4): 351–8. doi: 10.1016/j.beha.2016.10.010
15. Cuff A.O., Robertson F.P., Stegmann K.A., et al. Eomeshi NK cells in human liver are long-lived and do not recirculate but can be replenished from the circulation. J. Immunol. 2016 Dec 1; 197 (11): 4283–91. doi: 10.4049/jimmunol.1601424
16. Nascimbeni M., Shin E.C., Chiriboga L., Kleiner D.E., Rehmann B. Peripheral CD4 (+) CD8 (+) T cells are differentiated effector memory cells with antiviral functions. Blood. 2004 Jul 15; 104 (2): 478–86. doi: 10.1182/blood-2003-12-4395
17. Балацкая Н.В., Еремеева Е.А., Слепова О.С. и др. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией. Медицинская иммунология. 2015; 17 (5): 461–6. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2015-5-461-466> [Balatskaya N.V., Eremeeva E.A., Slepova O.S., et al. Peripheral blood subpopulation of lymphocytes of patients with age-related macular degeneration. Medical immunology. 2015; 17 (5): 461–6 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2015-5-461-466>]

Вклад авторов в работу: В.В. Нероев — финальное редактирование; Н.В. Балацкая — концепция исследования, написание текста, редактирование; Е.В. Ченцова — редактирование, И.Г. Куликова — статистическая обработка результатов; Х.М. Шамхалова — сбор материала, написание текста.

Поступила: 23.03.2020

Переработана: 17.04.2020

Принята к печати: 20.04.2020

Originally received: 23.03.2020

Final revision: 17.04.2020

Accepted: 20.04.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

Владимир Владимирович Нероев — академик РАН, профессор, д-р мед. наук, директор

Наталья Владимировна Балацкая — канд. биол. наук, и. о. руководителя отдела иммунологии и вирусологии

Екатерина Валериановна Ченцова — д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела травматологии и реконструктивной хирургии

Ирина Геннадьевна Куликова — старший научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии

Ханика Магомедовна Шамхалова — аспирант отдела иммунологии и вирусологии

Для контактов: Ирина Геннадьевна Куликова,
dr.murnika@gmail.com;
Ханика Магомедовна Шамхалова,
avatarnika@gmail.com

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia

Vladimir V. Neroev — Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Dr. of Med. Sci., director

Natalia V. Balatskaya — Cand. of Biol. Sci., head of the department of immunology and virology

Ekaterina V. Chentsova — Dr. of Med. Sci., professor, head of the department of traumatology and reconstructive surgery

Irina G. Kulikova — senior researcher, department of immunology and virology

Hanika M. Shamkhalova — PhD student, department of immunology and virology

Contact information: Irina G. Kulikova,
dr.murnika@gmail.com;
Hanika M. Shamkhalova,
avatarnika@gmail.com