

## МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРОГНОЗИРУЕМЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ИММУНОКОМПРОМЕНТИРОВАННЫХ РЕЦИПИЕНТОВ ПЕРЕД ПОВТОРНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ РОГОВИЦЫ

Комах Ю.А.<sup>1</sup>, Борзенко С.А.<sup>1</sup>, Петричук С.В.<sup>2</sup>, Купцова Д.Г.<sup>2</sup>,  
Радыгина Т.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Резюме.** Одной из актуальных проблем современной офтальмотрансплантологии является приживление трансплантата после повторных кератопластик. При проведении повторных трансплантаций роговицы частота возникновения отторжения трансплантата значительно возрастает. В исследовании был включен 121 пациент в возрасте от 19 до 89 лет с помутнением трансплантата роговицы, которым планировалась повторная трансплантация роговицы. Методом проточной цитометрии проводили иммунофенотипирование основных и малых популяций лимфоцитов периферической крови (CytoFlex BC, США). Интенсивность энергетического обмена в популяциях лимфоцитов определяли по активности сукцинатдегидрогеназы и НАДН-дегидрогеназы иммуноцитохимическим методом с использованием проточной цитометрии. Выявлено увеличение содержания В-лимфоцитов ( $p = 0,004$ ) и снижение Th17-лимфоцитов ( $p = 0,013$ ) после применения курса метаболической терапии. На фоне терапии достоверно повышается активность СДГ в популяции Т-лимфоцитов ( $p = 0,034$ ). Кроме того, в исследуемых популяциях лимфоцитов в группе реципиентов на фоне метаболической терапии наблюдается нормализация активности СДГ: уменьшается количество реципиентов с низкой и с высокой активностью фермента. После курса метаболической терапии выявлено достоверное снижение активности НАДН-ДГ ( $p = 0,034$ ). Показатели популяций лимфоцитов и активности митохондриальных ферментов у реципиентов после курса метаболической терапии свидетельствовали о более благоприятном прогнозе повторной трансплантации роговицы. Оценка результатов повторной кератопластики через год после операции показала, что у 59 реципиентов получено прозрачное приживление трансплантата, а у 62 пациентов трансплантат помутнел в сроки от 1 до 8 месяцев после операции. В группе пациентов с прозрачным приживлением трансплантата процент реципиентов, получавших метаболическую терапию, был достоверно выше, чем в группе реципиентов с помутнением трансплантата ( $41 \pm 2,05\%$  против  $21 \pm 2,91\%$ ,  $p < 0,001$ ). Проведение метаболической терапии до операции

### Адрес для переписки:

Комах Юрий Алексеевич  
ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ  
127486, Россия, Москва, Бескудниковский бул., 59а.  
Тел.: 8 (499) 488-89-39.  
E-mail: komakh@yandex.ru

### Address for correspondence:

Komakh Yuriy A.  
S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution  
127486, Russian Federation, Moscow,  
Beskudnikovskiy blvd, 59a.  
Phone: 7 (499) 488-89-39.  
E-mail: komakh@yandex.ru

### Образец цитирования:

Ю.А. Комах, С.А. Борзенко, С.В. Петричук, Д.Г. Купцова, Т.В. Радыгина «Метаболическая терапия прогнозируемых осложнений у иммунокомпроментированных реципиентов перед повторной трансплантацией роговицы» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 495-500.  
doi: 10.46235/1028-7221-1076-MTO

© Комах Ю.А. и соавт., 2021

### For citation:

Yu.A. Komakh, S.A. Borzenok, S.V. Petrichuk, D.G. Kuptsova, T.V. Radygina "Metabolic therapy of predicted complications in immunocompromised recipients before repeated corneal transplantation", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 495-500.  
doi: 10.46235/1028-7221-1076-MTO  
DOI: 10.46235/1028-7221-1076-MTO

уменьшает число реализованных неблагоприятных прогнозов результата рекератопластики, а мониторинг активности дегидрогеназ и содержания популяций лимфоцитов позволяет оценить эффективность лечебно-профилактических мероприятий у иммунокомпроментированных реципиентов.

*Ключевые слова:* отторжение трансплантата роговицы, метаболизм лимфоцитов, иммуномодуляторы

## METABOLIC THERAPY OF PREDICTED COMPLICATIONS IN IMMUNOCOMPROMISED RECIPIENTS BEFORE REPEATED CORNEAL TRANSPLANTATION

Komakh Yu.A.<sup>a</sup>, Borzenok S.A.<sup>a</sup>, Petrichuk S.V.<sup>b</sup>, Kuptsova D.G.<sup>b</sup>, Radygina T.V.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** One of the topical problems of modern ophthalmotransplantology is the graft engraftment after repeated keratoplasty. During repeated corneal transplantation, the frequency of graft rejection increases significantly. The study included 121 patients aged 19 to 89 years with corneal graft failure, who were scheduled for repeated corneal transplantation. Immunophenotyping of major and small populations of peripheral blood lymphocytes was performed by flow cytometry (CytoFlex BC, USA). The intensity of energy metabolism in lymphocyte populations was determined by the activity of succinate dehydrogenase and NADH dehydrogenase by immunocytochemical method using flow cytometry. An increase in the content of B lymphocytes ( $p = 0.004$ ) and a decrease in Th17 lymphocytes ( $p = 0.013$ ) were revealed after the use of a course of metabolic therapy. Against the background of therapy, the activity of SDH in the T lymphocyte population significantly increases ( $p = 0.034$ ). In addition, in the studied populations of lymphocytes in the recipient group, against the background of metabolic therapy, the normalization of SDH activity is observed: the number of recipients with low and high enzyme activity decreases. After a course of metabolic therapy, a significant decrease in NADH-DH activity was revealed ( $p = 0.034$ ). Indicators of lymphocyte populations and mitochondrial enzyme activity in recipients after a course of metabolic therapy indicated a more favorable prognosis for repeated corneal transplantation. Evaluation of the results of repeated keratoplasty a year after surgery showed that 59 recipients received transparent graft engraftment, and in 62 patients the graft became cloudy in the period from 1 to 8 months after surgery. In the group of patients with transparent graft engraftment, the percentage of recipients receiving metabolic therapy was significantly higher than in the group of recipients with graft opacity ( $41\% \pm 2.05\%$  vs  $21\% \pm 2.91\%$ ,  $p < 0.001$ ). Conducting metabolic therapy before surgery reduces the number of realized unfavorable prognoses of the result of rekeratoplasty, and monitoring the activity of dehydrogenases and the content of lymphocyte populations allows us to evaluate the effectiveness of therapeutic and preventive measures in immunocompromised recipients.

*Keywords:* corneal transplant rejection, lymphocyte metabolism, immunomodulators

### Введение

Трансплантация роговицы по количеству выполняемых операций в год занимает первое место среди всех трансплантаций органов и тканей, и в первый год после операции дает высокий процент успеха. К сожалению, в отдаленные сроки наблюдения, у реципиентов группы высокого риска отторжения трансплантата процент успеха снижается и через 10 лет составляет всего 35%. Возникает проблема проведения повтор-

ных трансплантаций роговицы. При повторной трансплантации роговицы прозрачное приживление наблюдается лишь у 33-75% реципиентов [5].

Ранее нами была показана высокая информативность оценки популяций лимфоцитов у реципиентов в прогнозе сроков возникновения послеоперационных осложнений [2]. У реципиентов с неблагоприятным биологическим результатом рекератопластики выявлено достоверное увеличение количества агрессивных Th17-лим-

фоцитов, повышение содержания НК-клеток и активированных Т-лимфоцитов на фоне снижения содержания В-лимфоцитов по сравнению с группой реципиентов с прозрачным приживлением трансплантата.

В последнее время большое внимание уделяется иммунометаболизму лимфоцитов и определению активности внутриклеточных ферментов в них при различных патологиях [4].

Для оценки процессов метаболизма в общей популяции лимфоцитов используется определение активности митохондриальных дегидрогеназ; сукцинатдегидрогеназы (СДГ), НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГФДГ) [2, 3]. СДГ отражает интенсивность цикла Кребса и II этапа окислительного фосфорилирования, активность НАДН-ДГ отражает интенсивность I этапа окислительного фосфорилирования, активность ГФДГ характеризует работу глицерофосфатного челночного механизма, отражающего интенсивность поступления электрон-эквивалентов с процесса гликолиза на окислительное фосфорилирование

При использовании проточной цитометрии нами было получено, что активность СДГ в основных популяциях лимфоцитов у пациентов с помутнением трансплантата была достоверно снижена по сравнению с пациентами с прозрачным приживлением трансплантата, причем снижение наблюдалось во всех основных популяциях. У пациентов с помутнением трансплантата достоверно увеличивается соотношение ГФДГ/СДГ во всех основных популяциях [2]. Ранее нами был предложен способ определения показаний к сквозной кератопластике, основанный на использовании коэффициента соотношения ГФДГ/СДГ, и повторную трансплантацию роговицы считают показанной при отношении менее 0,45 [2].

Показано также увеличение соотношения НАДН-ДГ/СДГ больше 1 в группе реципиентов с помутнением трансплантата по сравнению с группой с прозрачным приживлением за счет снижения активности СДГ и повышения активности НАДН-ДГ.

Основу консервативной терапии для профилактики и лечения отторжения трансплантата с целью повышения эффективности результата кератопластики составляют различные схемы применения иммуносупрессивной терапии, включающей кортикостероиды, антиметаболиты, ингибиторы кальцинейрина и малые иммуномодуляторы, к которым относят препараты метаболического действия, корректирующие метаболические сдвиги в иммунной системе при развитии реакций трансплантационного иммунитета.

Независимо от того, являются ли сдвиги в метаболизме иммунных клеток причиной или следствием реакции отторжения трансплантата, оптимизация энергетики приводит к улучшению функционального состояния клеток иммунной системы. Нами впервые в офтальмологии было показано значение предоперационной метаболической коррекции для предупреждения отторжения трансплантата роговицы при повторной трансплантации роговицы [1].

## Материалы и методы

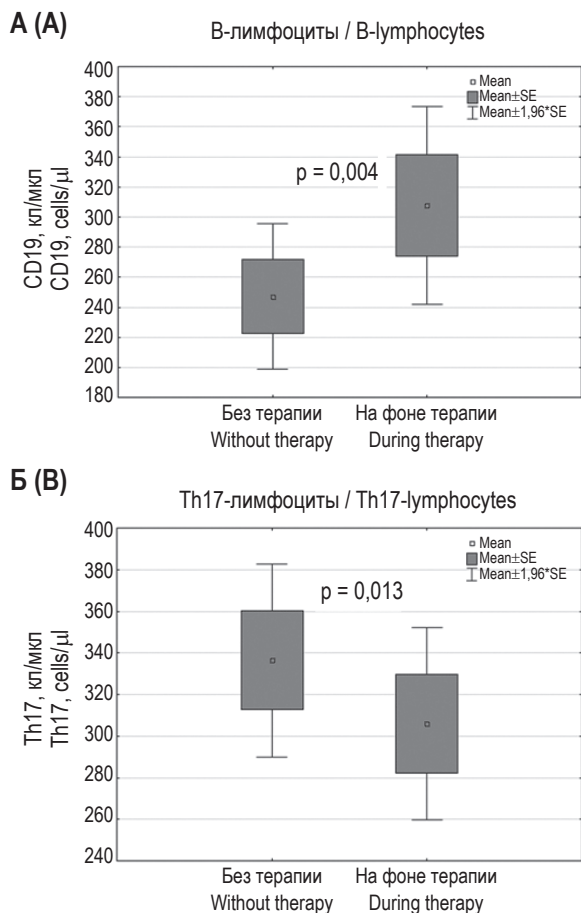
В нашей работе мы использовали два комплекса медикаментозных препаратов метаболического действия. Первый комплекс препаратов, улучшающий энергетику клеток и тканей при низкой активности митохондриальных дегидрогеназ составили субстраты и кофакторы цикла Кребса: цитофлавин, липоевая кислота и панангин. Второй комплекс препаратов метаболического действия составили препараты, необходимые для метаболической регуляции синтеза липидов, стабилизации клеточных мембран: ангиовит и элтацин.

Предоперационная медикаментозная метаболическая терапия состояла из трех курсов по 10 дней приема препаратов первого или второго комплексов, с интервалами между ними в 30 дней.

В исследование был включен 121 пациент с помутнением трансплантата роговицы, которым планировалась повторная трансплантация роговицы. Возраст пациентов варьировал от 19 до 89 лет. Всем пациентам до операции проводилось стандартное офтальмологическое обследование. Образцы крови подвергали первичной обработке согласно разработанному протоколу на проточном цитометре (CytoFlex BC, США), с исследованием субпопуляций лимфоцитов, описанных ранее [2]. Интенсивность энергетического обмена в популяциях лимфоцитов определяли по активности сукцинатдегидрогеназы – основного митохондриального фермента – иммуноцитохимическим методом с использованием проточной цитометрии [3]. Показатель активности в выделенных популяциях ЛФ определяли по приросту коэффициента бокового светорассеяния в процентах после проведения цитохимической реакции. Статистическая обработка была выполнена с помощью пакета Statistica 10.0. Использовали критерий Манна–Уитни, а также критерии Фишера (F) и хи-квадрат ( $\chi^2$ ) для достоверности различий распределений.

## Результаты и обсуждение

На первом этапе работы оценивали сравнение содержания основных и малых популяций



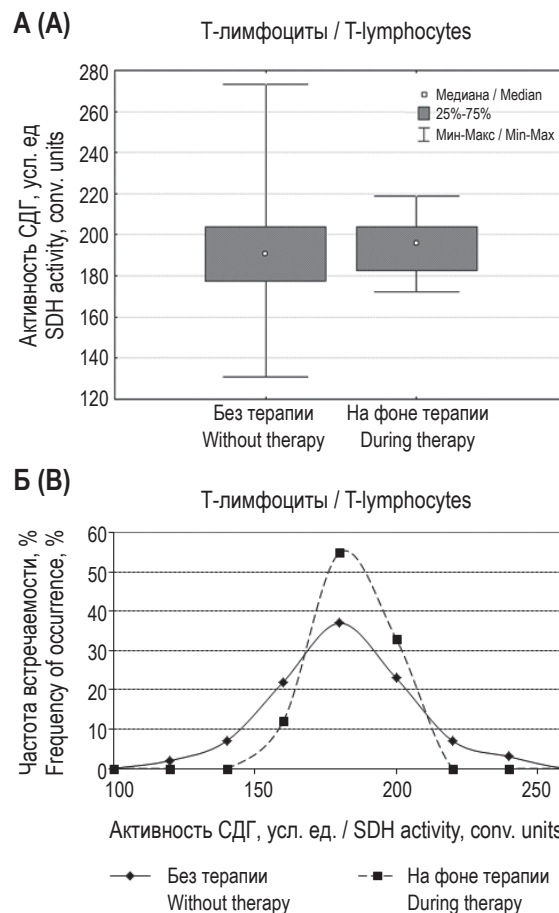
**Рисунок 1. Абсолютное количество В-лимфоцитов (А) и Th17-лимфоцитов (Б) в группах реципиентов без терапии и на фоне терапии**

Figure 1. Absolute number of B-lymphocytes (A) and Th17-lymphocytes (B) in recipient groups without therapy and during therapy

лимфоцитов у реципиентов без метаболической терапии и после курса метаболической терапии.

Выявлено, что в основных популяциях лимфоцитов изменения касаются В-клеток: у реципиентов после курса терапии достоверно увеличивается и приближается к норме абсолютное и относительное содержание клеток данной популяции (рис. 1А). Увеличение содержания В-лимфоцитов связано с увеличением популяции В2-лимфоцитов. Получено также, что после применения курса метаболической терапии достоверно снижается содержание Th17-лимфоцитов (рис. 1Б).

Оценка активности СДГ в основных и малых популяциях лимфоцитов показала, что во всех популяциях в группе реципиентов на фоне метаболической терапии существенно снижается разброс показателей (снижение коэффициента дисперсии): уменьшается количество реципиентов с низкой и с высокой активностью СДГ. Особо четко это проявляется в популяциях Т-лимфоцитов (рис. 2) и в активированных Т-лимфоцитах



**Рисунок 2. Активность СДГ в Т-лимфоцитах в группах реципиентов без терапии и на фоне терапии**

Примечание. А – сравнение групп по критериям Манна–Уитни ( $p = 0,034$ ) и Фишера ( $p < 0,01$ ). Б – сравнение распределений по критерию  $\chi^2$  ( $p < 0,01$ ).

Figure 2. SDH activity in T-lymphocytes in recipient groups without therapy and during therapy

Note. A, comparison of groups according to the Mann–Whitney ( $p = 0.034$ ) and Fisher ( $p < 0.01$ ) tests. B, comparison of distributions by the  $\chi^2$  test ( $p < 0.01$ ).

( $p < 0,01$ ). На фоне метаболической терапии достоверно повышается активность СДГ в популяции Т-лимфоцитов, причем это повышение связано с повышением активности в цитотоксических Т-лимфоцитах ( $p = 0,025$ ).

Анализ активности НАДН-ДГ показал, что по активности этого фермента группы пациентов без терапии и после курса метаболической терапии различались между собой, в группе после терапии выявлено достоверное снижение общей активности фермента НАДН-ДГ (871 (744-1072) усл. ед. против 791 (625-930) усл. ед.,  $p = 0,034$ ). Повышение активности СДГ и снижение активности НАДН-ДГ приводит к снижению соотношения НАДН-ДГ/СДГ. Таким образом, показатели содержания популяций лимфоцитов и активности митохондриальных ферментов у реципиентов после курса метаболической терапии

свидетельствовали о более благоприятном прогнозе повторной трансплантации роговицы.

Биологический результат повторной кератопластики оценивали через год после операции: у 59 реципиентов получено прозрачное приживление трансплантата, а у 62 пациентов трансплантат помутнел в сроки от 1 до 8 месяцев после операции. Анализ результатов у группы реципиентов с помутнением трансплантата (n = 62) показал, что 79% реципиентов (n = 49) не проходили предоперационную метаболическую терапию, а 21% реципиентов (n = 14) получили 3 курса метаболической терапии до операции.

Анализ результатов у группы реципиентов с прозрачным приживлением (n = 59) показал, что

59% реципиентов (n = 35) не проходили предоперационную метаболическую терапию, а 41% реципиентов (n = 24) получили 3 курса метаболической терапии до операции ( $41 \pm 2,05\%$  против  $21 \pm 2,91\%$ ,  $p < 0,001$ ).

## Заключение

Таким образом, проведение метаболической терапии до операции уменьшает число реализованных неблагоприятных прогнозов результата рекератопластики, а иммуноцитохимический метод позволяет оценить эффективность лечебно-профилактических мероприятий у иммунокомпроментированных реципиентов.

## Список литературы / References

1. Комах Ю.А., Борзенко С.А., Радыгина Т.В., Купцова Д.Г., Петричук С.В. Фактор транскрипции NF-κB в прогнозе результата рекератопластики // Офтальмологический журнал, 2021. Т. 2, № 499. С. 16-22. [Komakh Yu.A., Borzenok S.A., Radygina T.V., Kuptsova D.G., Petrichuk S.V. Transcription factor NF-κB in the prognosis of rekeratoplasty result. *Oftalmologicheskii zhurnal = Journal of Ophthalmology (Ukraine)*, 2021, Vol. 2, no. 499, pp. 16-22. (In Russ.)]
2. Комах Ю.А., Борзенко С.А., Радыгина Т.В., Петричук С.В., Герасимова Д.Г. Метаболизм популяций лимфоцитов в прогнозе результата повторной трансплантации роговицы // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 4. С. 1485-1487. [Komakh Yu.A., Borzenok S.A., Radygina T.V., Petrichuk S.V., Gerasimova D.G. Metabolism of the lymphocyte populations in the outcome of repeat corneal transplantation. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 13 (22), no. 4, pp. 1485-1487. (In Russ.)]
3. Патент 2302635 РФ, МПК G01 № 33/53, G01 № 33/50 Способ измерения митохондриальной активности лимфоцитов / С.В. Петричук, Т.Д. Измайлова, Т.В. Радыгина; заявитель и патентообладатель Государственное учреждение Научный центр здоровья детей РАМН. № 2005141145/15; заявл. 28.12.2005; опубл. 10.07.2007. [Patent 2302635 RF, MPK G01 № 33/53, G01 № 33/50 Method of measurement of mitochondrial activity of lymphocytes / S.V. Petrichuk, T.D. Izmailova, T.V. Radygina; applicant and patentee State institution Scientific center for children's health RAMS. No. 2005141145/15; declared. 28.12.2005; publ. 10.07.2007.]
4. Angajala A., Lim S., Phillips J.B., Kim J.-H., Yates C., You Z., Tan M. Diverse roles of mitochondria in immune responses: novel insights into immune-metabolism. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 1805. doi: 10.3389/fimmu.2018.01605.
5. Kitazava K., Wakimasu K., Kayukawa K., Yokota I., Inatomi T., Hieda O., Sotozono C., Kinoshita S. Moderately long-term safety and efficacy of repeat penetrating keratoplasty. *Cornea*, 2018, Vol. 37, no. 10, pp. 1255-1259.

### Авторы:

**Комах Ю.А.** — к.м.н., заведующий лабораторией трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Борзенко С.А.** — д.м.н., профессор, заведующий Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

### Authors:

**Komakh Yu.A.**, PhD (Medicine), Head, Laboratory of Transplantology and Cellular Biology, S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution, Moscow, Russian Federation

**Borzenok S.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Center of Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution, Moscow, Russian Federation

**Петричук С.В.** — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Купцова Д.Г.** — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Радыгина Т.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

**Petrichuk S.V.**, PhD, MD (Biology), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

**Kuptsova D.G.**, Junior Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

**Radygina T.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

---

Поступила 03.08.2021  
Принята к печати 20.08.2021

Received 03.08.2021  
Accepted 20.08.2021