

МЕТАБОЛИЗМ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В ПРОГНОЗЕ РЕЗУЛЬТАТА ПОВТОРНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ РОГОВИЦЫ

© 2019 г. Ю. А. Комах^{1*}, С. А. Борзенок¹, Т. В. Радыгина²,
С. В. Петричук², Д. Г. Герасимова²

*E-mail: komakh@yandex.ru

¹ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова»
Минздрава РФ, Москва, Россия;

²ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия

Поступила: 14.07.2019. Принята: 22.08.2019

В работе проведена оценка информативности соотношения активности митохондриальных дегидрогеназ глицерол-3-фосфата (ГФДГ) и сукцината (СДГ) в основных популяциях лимфоцитов для прогноза отторжения трансплантата у 15 реципиентов группы риска до проведения повторной трансплантации роговицы. У пациентов с неблагоприятным исходом выявлено увеличение отношения активности ГФДГ/СДГ во всех основных популяциях лимфоцитов, наиболее выраженное в В-лимфоцитах и НК-клетках. Отношение активности ГФДГ/СДГ может служить прогностическим показателем отторжения трансплантата при рекератопластике.

Ключевые слова: трансплантация роговицы, метаболизм лимфоцитов, иммунофенотипирование

DOI: 10.31857/S102872210007066-7

Адрес: 127486 Москва, Бескудниковский бульв., 59А, ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава РФ, лаборатория трансплантологии и клеточной биологии. Комах Юрий Алексеевич.
Тел./факс: +7 (499) 48889-39, 89035583209 (моб.).

E-mail: komakh@yandex.ru

Авторы:

Комах Ю. А., к.м.н., заведующий лабораторией трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

Борзенок С. А., д.м.н., профессор, заведующий Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

Радыгина Т. В., к.м.н., и.о. заведующей лабораторией экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия;

Петричук С. В., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Научный центр здоровья детей» МЗ РФ, Москва, Россия;

Герасимова Д. Г., м.н.с. лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Научный центр здоровья детей» МЗ РФ, Москва, Россия.

АКТУАЛЬНОСТЬ

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 повторных трансплантаций роговицы. При повторной трансплантации роговицы прозрачное приживление наблюдается лишь у 33–75% реципиентов [1].

Ранее нами была показана высокая информативность оценки малых популяций лимфоцитов у реципиентов в прогнозе сроков возникновения послеоперационных осложнений [1]. У реципиентов с неблагоприятным биологическим результатом рекератопластики выявлено достоверное увеличение количества агрессивных Th17-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 [2]. Известно, что каждый этап иммунного ответа характеризу-

ется определенным метаболическим профилем лимфоцитов. Так, например, в наивных Т-клетках преобладают процессы окислительного фосфорилирования, в пролиферирующих клетках преобладают процессы гликолиза и глутаминолиза. Дифференцировка Т-лимфоцитов связана с активацией разных метаболических путей. Для Th1, Th2 и Th17 клеток – это гликолиз, а для Т-регуляторных клеток – цикл окисления жирных кислот [3]. Нарушения метаболизма лимфоцитов приводят к развитию аутоиммунных и воспалительных процессов.

Цель исследования. Оценить информативность определения функциональной активности различных популяций лимфоцитов для прогноза исхода повторной трансплантации роговицы у реципиентов группы высокого риска.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 15 пациентов (1 группа) с помутнением трансплантата роговицы, которым планировалась повторная трансплантация роговицы. Возраст пациентов варьировал от 49 до 65 лет. Всем пациентам до операции проводилось стандартное офтальмологическое обследование. Кроме того, всем пациентам было проведено определение активности митохондриальных дегидрогеназ в разных популяциях лимфоцитов иммуноцитохимическим методом [4]. Определяли активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГФДГ) в основных популяциях лимфоцитов (ЛФ) на проточном цитометре с визуализацией (Image Stream ХМКП – Luminex, США). 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 6.0. (критерий Манна-Уитни). Данные представлены в виде медианы, нижней и верхней квартили. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биологический результат повторной кератопластики оценивали через год после операции: у 3 реципиентов получено прозрачное приживание трансплантата, а у 12 пациентов трансплантат помутнел в сроки от 1 до 8 месяцев после операции. Группу сравнения составили 24 условно-здоровых людей в возрасте 40–67 лет (2 груп-

па). Цитохимический метод появился в офтальмотрансплантологии из общей трансплантологии в виде энзиматического теста Ю. М. Зарецкой. Было установлено, что инверсия ферментного статуса лимфоцитов (депрессия активности СДГ и гиперактивация ГФДГ) с увеличением коэффициента соотношения ГФДГ/СДГ больше 0,6 является доклиническим признаком отторжения трансплантата [1]. Ранее нами был предложен способ определения показаний к сквозной кератопластике, основанный на использовании данного коэффициента и операцию считают показанной при отношении ГФДГ/СДГ от 0,45 до 0,6 [1]. В настоящем исследовании изучалась активность ГФДГ и СДГ и их соотношение в основных популяциях ЛФ. В 1 группе соотношение ГФДГ/СДГ ферментов в популяциях составило: в Т-ЛФ – 0,82 [0,78;0,94], в В-ЛФ – 1,26 [1,11;1,65], в НК-клетках – 1,25 [1,03;1,67]. В группе 2 соотношение ГФДГ/СДГ ферментов в популяциях достоверно отличалось от группы 1 и составило: Т-ЛФ – 0,54 [0,36;0,74]; ($p=0,0017$), В-ЛФ – 0,76 [0,45;1,02]; ($p=0,0003$), НК-клетки – 0,59 [0,46;0,85]; ($p=0,0001$). Соотношение ферментов ГФДГ/СДГ в 1 группе в популяциях Т-ЛФ и В-ЛФ увеличено за счет повышения активности фермента ГФДГ, что косвенно отражает увеличение интенсивности гликолиза. В то же время увеличение соотношения активности ферментов в НК-клетках происходило за счет снижения активности СДГ, что свидетельствует о снижении процессов окислительного фосфорилирования в этих клетках. Таким образом, у пациентов с неблагоприятным исходом выявлено увеличение отношения активности ГФДГ/СДГ во всех основных популяциях ЛФ, наиболее выраженное в В-ЛФ и НК-клетках. Отношение активности ГФДГ/СДГ может служить прогностическим показателем отторжения трансплантата при рекератопластике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Комах Ю. А., Борзенко С. А., Петричук С. В., Самохина И. В. Реакция отторжения трансплантата роговицы: клинико-anamnestические и иммунологические критерии диагностики. Российский иммунологический журнал 2017, 4; 11 (20), 714–716. [Komakh Y. F., Borzenok S. A., Petrichuk S. V., Samokhina I. V. Corneal graft rejection: clinical-anamnetic and immunological criteria for diagnosis. Russian journal of immunology 2017, 4; 11 (20), 714–716.
2. Angajala A., Lim S., Phillips J. B., Kim J.-H., Yates Cl., You Z., Tan M. Diverse roles of mitochondria in im-

- immune responses: novel insights into immune-metabolism. *Frontiers in immunology*, 2018,9; 1805, 1–19.
3. *Ron-Harel N., Sharpe A. H., Haigis M. C.* Mitochondrial Metabolism in T Cell Activation and Senescence: A Mini-Review. *Gerontology*. 2015; 61,131–138.
 4. 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 патентоо-

бладатель 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.— № 2005141145/15; declared. 28.12.2005; publ. 10.07.2007.]

METABOLISM OF THE LYMPHOCYTE POPULATIONS IN THE OUTCOME OF REPEAT CORNEAL TRANSPLANTATION

© 2019 Y. A. Komakh^{1*}, S. A. Borzenok¹, T. V. Radygina²,
S. V. Petrichuk², D. G. Gerasimova²

*E-mail: komakh@yandex.ru

¹The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow, Russia;

²FSAI «Scientific Center of Children's Health» Moscow, Russia

Received: 14.07.2019. Accepted: 22.08.2019

In the study estimation of the informative definition of the activity ratio of mitochondrial dehydrogenases glycerol-3-phosphate (GPDG) and succinate (SDG) in the major populations of lymphocytes to predict graft rejection at the 15 recipients of the group's risk before rekeratoplasty. An increase in the ratio of GPDG/SDG activity in all major lymphocyte populations, most pronounced in B-lymphocytes and NK- cells, was found in patients with adverse outcome. The ratio of activity GPDG/SDG can serve as a prognostic indicator of graft rejection in keratoplasty.

Key words: corneal transplantation, lymphocyte metabolism, immunophenotyping

Authors:

Komakh Y. A., ☒ Ph.D., Head of the Transplantology and Cellular Biology Laboratory, S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution, Moscow, Russia. E-mail: komakh@yandex.ru;

Borzenok S. A., M.D., Ph.d., Prof., Head of the Center of Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Autonomous Institution, Moscow, Russia;

Radygina T. V., Ph.D. (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology. National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia;

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, Russia;

Gerasimova D. S., intern of the Laboratory of Experimental Immunology and Virology. National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia.