

Зыблева С.В., Зыблев С.Л.

Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

Zybleva S., Zyblev S.

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

Кластерный анализ субпопуляций лейкоцитов при трансплантации почки

Cluster Analysis of Leukocyte Subpopulations in Kidney Transplantation

Резюме

Цель. Выявить варианты иммунного реагирования у пациентов при трансплантации почки на основе кластерного анализа, характеризующие течение посттрансплантационного периода.

Материалы и методы. Обследовано 104 реципиента почечного трансплантата с терминальной стадией хронической болезни почек, которым выполнена трансплантация аллогенной почки, а также 90 здоровых добровольцев, составивших группу сравнения.

Оценены уровни лейкоцитов с использованием метода проточной цитометрии по безотмывочной технологии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter и BD, США) CD4 PC7, CD8 FITC, CD3 PC5.5, CD3 FITC, CD45 PerCP, CD19 APC, CD56⁺ CD16 PE, CD3 PC5.5, HLA-DR APC, CD38 PE, CD4 FITC, CD3 PC5.5, CD8 APC, CD69 PE, CD127 PE, CD25 APC CD154 PE, CD3 APC-AF750, IgD FITC, CD27 PC5.5, CD5 APC-AF750, CD40 PE, CD86 PE, CD14 PC7, CD64 FITC, CD86 PE LIN PE, CD123 PC7, Anti-HLA-DR APC-AF750 в объемах, рекомендуемых фирмой-производителем.

Результаты и обсуждение. В результате проведенного исследования разработана система оценки иммунного статуса реципиента почечного трансплантата, обеспечивающая персонализированный мониторинг, анализ и прогнозирование течения посттрансплантационного периода. Описаны виды регуляторных клеточных сетей и их синергический потенциал при трансплантации почки. В основе толерогенного иммунологического комплекса у пациентов после трансплантации почки лежат межклеточные взаимодействия, имеющие иерархическую систему, основа которой представлена кооперацией клеток CD3⁺CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}, CD3⁺CD4⁺CD8⁺, CD3⁺CD4⁺CD69⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD19⁺CD5⁺ и LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺. В основе гиперергического иммунологического комплекса при почечной аллотрансплантации лежат избыточно активированные компоненты иммунного ответа: CD3⁺CD8⁺CD69⁺, CD3⁺CD4⁺CD8⁺, CD3⁺CD8⁺CD38⁺, CD19⁺CD86⁺, CD19⁺IgD⁺CD27⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD38⁺, CD14^{low}CD86⁺, и LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ клетки.

Выводы. Выделенные иммунофенотипы позволят осуществить персонализированный подход к диагностике и лечению пациентов с различными вариантами иммунного реагирования при трансплантации почки. При выявлении иммунофенотипа, соответствующего толерогенному варианту иммунного ответа, терапии пациента в отдаленном посттрансплантационном периоде возможно проводить с учетом низкого иммунологического риска и минимизацией иммуносупрессивной нагрузки.

Ключевые слова: иммунофенотип, трансплантация почки, кластерный анализ.

Abstract

Purpose. To identify the variants of immune response in patients with kidney transplantation on the base of cluster analysis that characterize the course of the post-transplant period.

Materials and methods. We examined 104 kidney transplant recipients with end-stage chronic kidney disease, who underwent allograft transplantation, as well as 90 healthy volunteers, who made up the comparison group.

Their leukocyte levels were assessed using no-wash flow cytometry with monoclonal antibodies (Beckman Coulter and BD, USA) CD4 PC7, CD8 FITC, CD3 PC5.5, CD3 FITC, CD45 PerCP, CD19 APC, CD56⁺ CD16 PE, CD3 PC5.5, HLA-DR APC, CD38 PE, CD4 FITC, CD3 PC5.5, CD8 APC, CD69 PE, CD127 PE, CD25 APC CD154 PE, CD3 APC-AF750, IgD FITC, CD27 PC5.5, CD5 APC-AF750, CD40PE, CD86 PE, CD14 PC7, CD64 FITC, CD86 PE LIN PE, CD123 PC7, Anti-HLADR APC-AF750 in the volumes recommended by the manufacturer.

Results and discussion. As a result of the conducted study, the system for assessing the immune status of a kidney transplant recipient was developed, which provides personalized monitoring, analysis, and prediction of the course of the post-transplant period. The types of regulatory cellular networks and their synergistic potential in kidney transplantation are described. The tolerogenic immunological complex in patients after kidney transplantation is based on intercellular interactions that have a hierarchical system, the base of which is represented by the cooperation of CD3⁺CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}, CD3⁺CD4⁺CD8⁺, CD3⁺CD4⁺CD69⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD19⁺CD5⁺ and LIN⁺HLA⁺DR⁺CD11c⁺CD123⁺ cells. The hyperergic immunological complex in renal allotransplantation is based on over-activated components of the immune response: CD3⁺CD8⁺CD69⁺, CD3⁺CD4⁺CD8⁺, CD3⁺CD8⁺CD38⁺, CD19⁺CD86⁺, CD19⁺IgD⁺CD27⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD38⁺, CD14^{low}CD86⁺, and LIN⁺HLA⁺DR⁺CD11c⁺CD123⁺ cells.

Conclusion. The detected immunotypes will let to implement the personalized approach to the diagnostics and treatment of patients with various types of immune response in kidney transplantation. If an immunophenotype corresponding to a tolerogenic variant of the immune response is identified, the patient's therapy in the long-term post-transplant period can be carried out taking into account the low immunological risk and minimizing the immunosuppressive load.

Keywords: immunophenotype, kidney transplantation, cluster analysis.

■ ВВЕДЕНИЕ

Иммуносупрессивная терапия при трансплантации почки носит постоянный и длительный характер, вызывая состояние относительного иммунодефицита. Таким образом, помимо запланированного эффекта интенсивная иммуносупрессия препятствует активации механизмов формирования толерантности и повышает восприимчивость пациента к инфекции, а также приводит к возрастающему риску онкологических заболеваний и другим побочным эффектам. Постепенная минимизация доз иммуносупрессантов будет способствовать активации естественных адаптационных механизмов [1].

Методика кластерного анализа позволяет по особенностям распределения исследуемых показателей выделять группы параметров, имеющих однонаправленность эффектов с целью улучшения своих характеристик и оптимизации протекающих процессов [2–5].

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 104 реципиента почечного трансплантата (33 женщины и 71 мужчина) в возрасте от 19 до 70 лет (средний возраст $46 \pm 1,67$ года). Функция почечного трансплантата оценивалась на 7-е сутки после операции по уровню креатинина крови. При показателях ниже 300 мкмоль/л функция считалась первичной (ПФТ), при значениях, равных или превышающих 300 мкмоль/л, а также при возникновении необходимости в диализе на первой неделе после трансплантации состояние классифицировалось как дисфункция почечного трансплантата (ДФТ) (Cantaluppi V. et al., 2015). Удовлетворительная функция почечного трансплантата через год характеризовалась уровнем креатинина крови ниже 150 мкмоль/л, отсутствием эпизодов отторжения почечного трансплантата и необходимости в диализе на первом году наблюдения (Massart A. et al., 2017). Были сформированы две группы реципиентов почечного трансплантата: группа РПТ1 состояла из 76 человек с первичной функцией трансплантата на 7-е сутки и удовлетворительной функцией почечного трансплантата в течение первых 12 месяцев и группа РПТ2 – из 28 человек с дисфункцией почечного трансплантата на 7-е сутки и дисфункцией почечного трансплантата через 12 месяцев. Группы были сопоставимы по полу, возрасту ($p_{\text{Mann-Whitney U-test}} > 0,05$, $p_{\text{Fisher exact two-tailed}} > 0,05$ соответственно).

Материалом для исследования служили клетки периферической крови. Иммунологическое обследование, включающее определение содержания лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии с использованием аппарата BD FACS Canto II (США) и наборов моноклональных антител фирм «BeckmanCoulter» (Франция) и «Becton, Dickinson and Company» (США), BD Beckman Coulter (США), позволяющих выявлять: CD4 PC7, CD8 FITC, CD3 PC5.5, CD3 FITC, CD45 PerCP, CD19 APC, CD56⁺ CD16 PE, CD3 PC5.5, HLA-DR APC, CD38 PE, CD4 FITC, CD3 PC5.5, CD8 APC, CD69 PE, CD127 PE, CD25 APC CD154 PE, CD3 APC-AF750, IgD FITC, CD27 PC5.5, CD5 APC-AF750, CD40PE, CD86 PE, CD14 PC7, CD64 FITC, CD86 PE LIN PE, CD123 PC7, Anti-HLADR APC-AF750, и определение уровня сывороточного креатинина, проводили на 360-е сутки после операции.

Все пациенты получали иммуносупрессивную терапию согласно клиническим протоколам трансплантации почки (Приложение 1 к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 05.01.2010 № 6).

Группа сравнения представлена 90 здоровыми добровольцами (ГС), сопоставимыми по полу и возрасту, не имеющими в анамнезе патологии почек ($p_{\text{Mann-Whitney U-test}} > 0,05$, $p_{\text{Fisher exact two-tailed}} > 0,05$ соответственно).

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 [95% доверительный интервал, $\pm m$] – M [Confidence Interval –95%; +95%] и медиана [интерквартильный размах] – Me [Q25; Q75]. Для номинальных переменных использовался анализ таблиц сопряженности с оценкой различий в частотах с использованием критерия точного критерия Фишера (Pearson Chi-square, Fisher exact test). Для определения различий между группами по уровням количественных признаков использовали непараметрические

критерии (Mann – Whitney U-Test). Определение связи между показателями осуществляли с использованием ранговой корреляции Спирмена (Spearman Rank Order Correlations). Для типирования по классам реципиентов почечного трансплантата использовали метод кластерного анализа. Перед проведением кластерного анализа осуществлена стандартизация данных. Число кластеров определялось при иерархической классификации путем проведения объединения, дающего минимальное приращение внутригрупповой суммы квадратов отклонений (метод Варда). В качестве меры сходства был выбран метод Манхэттенского расстояния.

Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали равным и менее 0,05.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведена сравнительная оценка различий по иммунологическим показателям между группами реципиентов РПТ1 и РПТ2, которая представлена в табл. 1.

С учетом широкого спектра представленных субпопуляций лейкоцитов для объединения их в группы проведена иерархическая кластеризация иммунофенотипов в ГС, группах РПТ1 и РПТ2 и получены следующие результаты.

Установлено, что статистически значимо различающиеся в группе сравнения и группах РПТ субпопуляции лейкоцитов образовали три

Таблица 1
Результаты сравнительного анализа иммунологических показателей групп РПТ1 и РПТ2

Иммунологические показатели, %	U Манна – Уитни	Уровень значимости p	Корреляция с уровнем креатинина	
			r _s	p
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺	38,00	<0,0001	+0,57	<0,0001
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻	138,00	<0,0001	+0,40	0,001
CD14 ^{low} CD86 ⁺	112,50	<0,0001	+0,38	0,001
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	198,00	<0,0001	+0,32	0,005
CD3 ⁺ CD38 ⁺	251,00	0,001	+0,37	0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	280,50	0,001	+0,30	0,009
CD19 ⁺ CD86 ⁺	150,00	0,004	+0,36	0,010
LIN ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁻	342,00	0,008	+0,27	0,019
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺	337,00	0,014	+0,12	0,319
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺	334,00	0,020	+0,28	0,016
CD14 ^{mid/high} CD86 ⁺	346,00	0,047	+0,08	0,500
LIN ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁺	342,00	0,008	-0,27	0,019
CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺	191,00	0,003	-0,25	0,300
CD19 ⁺ CD5 ⁺	287,00	0,002	-0,29	0,022
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	325,00	0,001	-0,25	0,025
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	281,00	<0,0001	-0,53	<0,0001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	173,00	<0,0001	-0,60	<0,0001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{high} CD127 ^{low}	190,50	<0,0001	-0,50	<0,0001

Table 1
Results of a comparative analysis of immunological indicators of the KTR1 and KTR2 groups

Immunological indicators, %	Mann – Whitney U	Significance level p	Spearman's rank correlation coefficient	
			r _s	p
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺	38.00	<0.0001	+0.57	<0.0001
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻	138.00	<0.0001	+0.40	0.001
CD14 ⁺ lowCD86 ⁺	112.50	<0.0001	+0.38	0.001
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	198.00	<0.0001	+0.32	0.005
CD3 ⁺ CD38 ⁺	251.00	0.001	+0.37	0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	280.50	0.001	+0.30	0.009
CD19 ⁺ CD86 ⁺	150.00	0.004	+0.36	0.010
LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁻	342.00	0.008	+0.27	0.019
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺	337.00	0.014	+0.12	0.319
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺	334.00	0.020	+0.28	0.016
CD14 ⁺ mid/highCD86 ⁺	346.00	0.047	+0.08	0.500
LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁺	342.00	0.008	-0.27	0.019
CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺	191.00	0.003	-0.25	0.300
CD19 ⁺ CD5 ⁺	287.00	0.002	-0.29	0.022
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	325.00	0.001	-0.25	0.025
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻	281.00	<0.0001	-0.53	<0.0001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	173.00	<0.0001	-0.60	<0.0001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ highCD127 ⁺ low	190.50	<0.0001	-0.50	<0.0001

Таблица 2
Распределение по кластерам субпопуляций лейкоцитов

Кластер	Группы		
	ГС	РПТ1	РПТ2
1-й кластер	CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻	CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻	CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻
	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺
	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	CD14 ⁺ lowCD64 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻	CD14 ⁺ lowCD86 ⁺	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁻
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺	CD14 ⁺ mid/highCD86 ⁺	
		CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺	
2-й кластер	CD19 ⁺ CD5 ⁺	CD19 ⁺ CD5 ⁺	CD19 ⁺ CD5 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ highCD127 ⁺ low	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ highCD127 ⁺ low	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ highCD127 ⁺ low
	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁺	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁺	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺
	CD3 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻
	CD14 ⁺ lowCD86 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺
			CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺
3-й кластер	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺
	CD19 ⁺ CD86 ⁺	CD19 ⁺ CD86 ⁺	CD19 ⁺ CD86 ⁺
	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁻	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺
	CD14 ⁺ mid/highCD86 ⁺	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁻	CD14 ⁺ mid/highCD86 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD38 ⁺
	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺		CD14 ⁺ lowCD86 ⁺
	CD14 ⁺ lowCD64 ⁺		

Table 2
Distribution by leukocyte subpopulation clusters

Cluster	Groups		
	CG	KTR1	KTR2
1 cluster	CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻	CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻	CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻
	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺
	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	CD14 ⁺ lowCD64 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	CD14 ⁺ lowCD86 ⁺	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁻
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺	CD14 ⁺ mid/highCD86 ⁺	
2 cluster		CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺	
		CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	
	CD19 ⁺ CD5 ⁺	CD19 ⁺ CD5 ⁺	CD19 ⁺ CD5 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ highCD127 ⁺ low	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ highCD127 ⁺ low	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ highCD127 ⁺ low
	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁺	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁺	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺
	CD3 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺
3 cluster			CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺
	CD14 ⁺ lowCD86 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺
			CD14 ⁺ lowCD64 ⁺
	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺
	CD19 ⁺ CD86 ⁺	CD19 ⁺ CD86 ⁺	CD19 ⁺ CD86 ⁺
	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁻	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺
	CD14 ⁺ mid/highCD86 ⁺	LIN ⁺ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD123 ⁻	CD14 ⁺ mid/highCD86 ⁺
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD38 ⁺	CD3 ⁺ CD38 ⁺
	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺		CD14 ⁺ lowCD86 ⁺
	CD14 ⁺ lowCD64 ⁺		

основных кластера, имеющих неоднородные составы в группах с различными вариантами течения посттрансплантационного периода (табл. 2).

Исходя из полученных кластерных комбинаций (табл. 2), можно проанализировать характер взаимодействия и особенности формирования подгрупп субпопуляций лейкоцитов. Так, в группе сравнения, РПТ1 и РПТ2 в составе второго кластера находились три субпопуляции клеток CD19⁺CD5⁺, CD3⁺CD4⁺CD25⁺highCD127⁺low и LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺. В состав этого кластера в группе РПТ1 относительно ГС оказались добавлены субпопуляции CD3⁺CD4⁺CD69⁺, CD3⁺CD4⁺CD8⁺ и CD3⁺CD16⁺CD56⁺. В группе РПТ2 указанные клетки также вошли в состав второго кластера, при этом дополнительно включились активированные Т-хелперы CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺ и моноциты CD14⁺lowCD64⁺. Сравнив структуры клеточных кластеров пациентов с различными вариантами течения посттрансплантационного периода выявлено, что кластер 2-й группы РПТ1 характеризовался субпопуляционным составом клеток, содержание которых было статистически достоверно выше, чем в группе РПТ2, причем количество субпопуляций CD3⁺CD4⁺CD69⁺ и CD3⁺CD16⁺CD56⁺ было также значимо выше, а плазмацитоидных дендритных клеток LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ ниже, чем в группе сравнения ($p_{\text{РПТ1/ГС}}=0,001$, $p_{\text{РПТ1/ГС}}<0,0001$, $p_{\text{РПТ1/ГС}}=0,021$ соответственно).

Используя результаты корреляционного анализа Спирмена и с учетом прямой или обратной связи с уровнем сывороточного креатинина (табл. 1), из полученных кластерных коопераций нами был выделен толерогенный иммунологический комплекс клеток, сформировавшийся в отдельный кластер в группе РПТ1 и имеющий статистически значимую отрицательную корреляционную связь с уровнем креатинина через год после операции у реципиентов почечного трансплантата. Также был определен гиперергический иммунологический комплекс, преобладающий в группе РПТ2, состоящий из представителей 2-го и 3-го кластеров и имеющий положительную корреляционную связь с сывороточным креатинином. Выявлено, что в составе кластера толерогенного варианта иммунного ответа при благоприятном течении посттрансплантационного периода находится кооперация таких клеток, как CD3⁺CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} регуляторных и CD3⁺CD4⁺CD8⁺ даблнегативных Т-лимфоцитов (linkage distance 12,79), LIN-HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ и CD19⁺CD5⁺ (linkage distance 21,35), CD3⁺CD4⁺CD69⁺ (linkage distance 28,14) и НКТ лимфоцитов CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (linkage distance 42,00). Состав кластера при дисфункции почечного трансплантата представлен: CD3⁺CD8⁺CD69⁺ и CD3⁺CD4⁺CD8⁺ клетки (linkage distance 9,35) и CD3⁺CD8⁺CD38⁺ и CD19⁺CD86⁺ (linkage distance 10,20), CD19⁺IgD⁺CD27⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (linkage distance 10,85) и CD3⁺CD38⁺, CD14^{low}CD86⁺, CD14^{mid/high}CD86⁺ (linkage distance 10,86), CD3⁺CD4⁺CD38⁺ и LIN-HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ (linkage distance 16,00 и 20,60 соответственно).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для оценки варианта реактивности иммунного ответа при аллогенной трансплантации почки следует определять совокупность иммунных клеток: для толерогенного варианта иммунного ответа характерно преобладание субпопуляций CD3⁺CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}, CD3⁺CD4⁺CD8⁺, CD3⁺CD4⁺CD69⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD19⁺CD5⁺, LIN-HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺, для гиперергического варианта иммунного ответа характерно преобладание субпопуляций CD3⁺CD8⁺CD38⁺, CD19⁺CD86⁺, CD3⁺CD38⁺, LIN-HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺, CD19⁺IgD⁺CD27⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD8⁺CD69⁺, CD14^{low}CD86⁺. При выявлении иммунофенотипа, соответствующего толерогенному варианту иммунного ответа, терапию пациента в отдаленном посттрансплантационном периоде возможно проводить с учетом низкого иммунологического риска и минимизации иммуносупрессивной нагрузки.

Вклад авторов / Authors' contribution

Концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста – С.В. Зыблева; сбор материала, обработка, написание текста – С.Л. Зыблев.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Artamonov S.D., Velikij D.A., Onishchenko N.A., Bashkina L.V., Nikol'skaya A.O., Krashennnikov M.E., Ivanov I.M. (2012) Balans vzaimodejstviya effektivnykh i reguliruyemykh kletok pamyati kak osnova vyrabotki ustojchivoj immunoj tolerancii pri peresadke organov (Analiz problemy na primere transplantacii pecheni) [The balance of interaction of the effector and regulatory memory cells as the base of stable immune tolerance in organ transplantation (analysis of the problem on the example of liver transplantation)]. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*, vol. 14, no 2, pp. 86–97. Available at: <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2012-2-86-97>.
2. Sarap P.V., Vinnik Yu.S., Ostanin A.A. (2012) Formirovanie klasterov immunoj sistemy i dejstvie immunitropnykh lekarstvennykh sredstv u pacientov s urgentnoj hirurgicheskoj patologiej [Formation of the immune system clusters and effect of immunoactive medicines in patients with urgent surgical pathology]. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal*, vol. 6, no 1, pp. 85–92. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18918125>.
3. Franceschini J., Jardim J.R., Fernandes A.L., Jamnik S., Santoro I.L. (2013) Relationship between the magnitude of symptoms and the quality of life: a cluster analysis of lung cancer patients in Brazil. *J. Bras. Pneumol.*, vol. 39, no 1, pp. 23–31. Available at: <https://doi.org/10.1590/s1806-37132013000100004>.
4. Karim R., Mack W.J., Stiller T., Operskalski E., Frederick T., Landay A., Young M.A., Tien P.C., Augenbraun M., Strickler H.D., Kovacs A. (2013) Association of HIV clinical disease progression with profiles of early immune activation: results from a cluster analysis approach. *AIDS*, vol. 27, no 9, pp. 1473–1481. Available at: <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283601bad>.
5. Marques E.A., Pizarro A.N., Figueiredo P., Mota J., Santos M.P. (2013) Modifiable lifestyle behavior patterns, sedentary time and physical activity contexts: a cluster analysis among middle school boys and girls in the SALTA study. *Prev. Med.*, vol. 56, no 6, pp. 413–415. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2013.02.026>.

Подана/Submitted: 14.05.2021

Принята/Accepted: 27.05.2021

Контакты/Contacts: zyb-svetlana@yandex.by