


Закордонець В.П., Зограб'ян Р.О., Вороняк О.С. , Кубашко А.В.  
Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова, м. Київ, Україна

## Особливості реакції імунної системи в реципієнтів ниркового трансплантата дитячого віку

For citation: *Роски. 2019;8(4):210-216. doi: 10.22141/2307-1257.8.4.2019.185120*

**Резюме. Актуальність.** Для покращання результатів трансплантації нирки необхідно враховувати вікову категорію пацієнта та стан його імунної системи. **Мета роботи:** вивчити особливості реакції імунної системи на нирковий трансплантат у реципієнтів дитячого віку. **Матеріали та методи.** Проведено ретроспективний аналіз цитометричного дослідження субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові, гейтованих за CD45++ із такими антигенами: CD3/4/8/45 (Т-хелпери, Т-цитотоксичні), CD3/DR/19/45 (Т-активовані, В-клітини), CD 3/16/56/45 (Т-NK- та NK-лімфоцити), CD38/45/19 (активовані, загальні та В-лімфоцити), розрахункового імунорегуляторного індексу (Ireg) — CD4+/CD8+ та рівнів загальних імуноглобулінів (Ig) класів А, М, G у сироватці крові в динаміці в 38 дорослих реципієнтів та 16 дітей, яким у 2016–2019 рр. у Національному інституті хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України була виконана перша алотрансплантація нирки від живого родинного донора. Дослідження стану імунної системи проводили перед трансплантацією нирки, наприкінці 1-го та 6-го місяців після трансплантації. **Результати.** У дітей спостерігаються більш виражені ознаки реакції імунної системи на трансплантат й імуносупресивну терапію, ніж у дорослих. Частина лімфоцитів, що беруть участь у відповіді імунної системи, у дітей демонструє значно більше пригнічення в кінці першого місяця спостереження (відносна кількість лімфоцитів CD45++, відносна й абсолютна кількість Т-лімфоцитів CD3+19-, активованих лімфоцитів CD38+45+high та В-активованих лімфоцитів CD38+19+) та через шість місяців (абсолютна кількість лімфоцитів CD45++, абсолютна та відносна кількість В-лімфоцитів CD3-19+, Т-активованих CD3+DR+). Інші субпопуляції лімфоцитів, навпаки, показують значно більше зростання через 30 днів (абсолютна та відносна кількість В-лімфоцитів CD3-19+) та через шість місяців після операції (відносна кількість лімфоцитів CD45++ та Т-лімфоцитів CD3+19-, відносна та абсолютна кількість активованих лімфоцитів CD38+45+high). Деякі з субпопуляцій лімфоцитів у дітей швидше відновлюються до передопераційного рівня (відносна кількість лімфоцитів CD45++ та Т-хелперів CD4+8-). **Висновки.** Аналіз отриманих даних свідчить про те, що реакція імунної системи на нирковий трансплантат у дітей та дорослих проявляється різнонаправленими змінами абсолютної і відносної кількості субпопуляцій лімфоцитів та рівнів імуноглобулінів, що необхідно врахувати при виборі схем імуносупресивної терапії. **Ключові слова:** трансплантація нирки в дітей та дорослих; субпопуляції лімфоцитів; імуноглобуліни

### Вступ

На сьогодні трансплантація нирки (ТН) визнана оптимальним методом лікування пацієнтів із термінальною хронічною нирковою недостатністю усіх вікових груп [1], однак особливе місце вона посідає в лікуванні дитячого контингенту, оскільки з усіх методів замісної ниркової терапії тільки вона дозволяє відновити фізичний та психоемоційний розвиток дитини.

Незважаючи на досягнення сучасної трансплантології, віддалені результати цих операцій залишаються незадовільними, на що впливають якість донорського органу, схеми імуносупресивної терапії, супутні захворювання реципієнта ниркового трансплантата (НТ) та ін. Проте однією з основних причин дисфункції та втрати трансплантованої нирки є відторгнення, що обумовлено реакцією імунної системи реципієнта на трансплан-

© 2019. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Вороняк Олександр Сергійович, лікар-хірург відділення трансплантації нирки, Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова» НАМН України, вул. Героїв Севастополя, 30, м. Київ, 03680, Україна; e-mail: dr.voroniak@gmail.com; контакт. тел.: +38 (093) 254-64-74

For correspondence: Oleksiy Voroniak, surgeon at the Department of Kidney Transplantation, State Institution "O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantation" of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Heroiv Sevastopolya st., 30, Kyiv, 03680, Ukraine; e-mail: dr.voroniak@gmail.com; phone.: +38 (093) 254-64-74

Full list of author information is available at the end of the article.

тат [2]. Збільшення тривалості виживання НТ є однією з головних задач сучасної трансплантології. Для цього важливим є індивідуальний підхід до вибору схеми лікування кожного пацієнта, особливо слід враховувати вікову категорію пацієнта та визначення стану його імунної системи.

Раніше ТН у дітей була ускладнена технічними та імунологічними проблемами, що призводило до гіршого виживання пацієнтів і трансплантатів у дітей, ніж у дорослих. За останні 15 років вдосконалено хірургічну техніку, розроблені новітні імуносупресивні та протівірусні препарати, що значно покращило виживання ниркових трансплантатів та реципієнтів дитячого віку [3, 4]. Деякі аспекти клінічної ТН у дітей та дорослих схожі. Імуносупресивні препарати та схеми лікування подібні, а рівень креатиніну та швидкість клубочкової фільтрації є основними сироватковими біомаркерами функції нирки. Механізми відторгнення ниркового трансплантата загалом однакові [5–8], а пункційна біопсія залишається золотим стандартом для діагностики відторгнення.

Однак є багато аспектів, які відрізняються в дітей та дорослих — етіологія ураження нирок, що стало причиною розвитку ниркової недостатності, стан імунної та інших фізіологічних систем організму.

Проведені нами раніше дослідження виявили певні відмінності в імунному статусі потенційних реципієнтів НТ, а саме в дітей перед трансплантацією нирки порівняно з дорослими відмічаються вірогідно 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 [9]. Проте поодинокі роботи мають різні результати і не викликають загальної думки, тому висновки неоднозначні. Відмінності в розвитку імунної відповіді в дітей та дорослих, які перенесли алотрансплантацію нирки, вимагають подальших досліджень та, можливо, визначення нових підходів у веденні таких пацієнтів у посттрансплантаційному періоді.

**Мета роботи:** дослідити стан імунної системи реципієнтів ниркового трансплантата, визначити особливості динаміки показників у післяопераційному періоді в дітей і дорослих.

## Матеріали та методи

До груп дослідження було включено 16 дітей (група А) та 38 дорослих (група Б) реципієнтів, яким у 2016–2019 рр. у Національному інституті хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України була виконана перша алотрансплантація нирки від живого родинного донора. Показанням до алотрансплантації нирки у всіх реципієнтів була термінальна стадія хронічної ниркової недостатності різного генезу. Для індукції імуносупресії всім пацієнтам перед операцією та на 4-ту добу після проводили внутрішньовенну інфузію базиліксимабу. За тиждень до та після трансплантації нирки усім пацієнтам призначали трикомпонентну

імуносупресивну терапію, яка включала інгібітор кальциневрину (переважна більшість пацієнтів отримувала такролімус), препарат мікофенолової кислоти та метилпреднізолон (отримували всі пацієнти) (табл. 1).

Дослідження стану імунної системи проводили перед трансплантацією нирки (період I), наприкінці першого (період II) та шостого (період III) місяців після трансплантації. Функцію ниркового трансплантата оцінювали за рівнем креатиніну сироватки крові та швидкістю клубочкової фільтрації. Моніторинг клініко-лабораторних показників крові та сечі, концентрації інгібіторів кальциневрину ( $C_0$ ) здійснювався на постійній основі тричі на тиждень протягом першого місяця, двічі на місяць протягом двох-трьох місяців та 1 раз на місяць до кінця року.

Пункційна біопсія трансплантованої нирки проводилась за показаннями в разі порушення її функції з метою діагностики патології НТ, а саме гострого та хронічного відторгнення, характер та ступінь якого визначали згідно з Banff-класифікацією [10].

Стан імунної системи реципієнтів характеризувався рівнями показників клітинного та гуморального імунітету. Клітинний імунітет оцінювали за відносним та абсолютним рівнем субпопуляцій лімфоцитів у периферичній крові (ПК), геитованих за CD45++ із такими антигенами: CD3/4/8/45 (Т-хелпери, Т-цитотоксичні), CD3/DR/19/45 (Т-активовані, В-клітини), CD3/16/56/45 (Т-NK- та NK-лімфоцити), CD38/45/19 (активовані, загальні та В-лімфоцити) за допомогою проточного цитофлуориметра FC-500 Cytomics (BeckmanCoulter, США) з урахуванням розрахункового імунорегуляторного індексу (Ireg) — CD4+/CD8+. Гуморальний імунітет оцінювався за рівнями загальних імуноглобулінів (Ig) класів А, М, G у сироватці крові методом турбідиметрії на апараті HORIBA ABX Pentra 400 (Франція).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою статистичного пакета StatSoft (2010) Statistica 9.1 for Windows, StatSoft Inc., Tulsa. Проводився дескриптивний аналіз кожної вибірки з розрахунком середнього значення (M) та стандартного відхилення (SD) [11]. Порівняння двох незалежних сукупностей здійснювалося за непараметричним тестом — U-тестом Манна — Уїтні (U-test Mann — Whitney). Розбіжності між сукупностями вважались статистично значимими при значеннях коефіцієнта вірогідності  $p < 0,05$ . Характер зв'язку між змінними показників оцінювався за рівнем коефіцієнта кореляції Pearson ( $rp$ ) при значеннях коефіцієнта вірогідності  $p < 0,05$  [12].

## Результати та обговорення

З метою визначення особливостей реакції імунної системи на нирковий трансплантат нами проведено порівняльний аналіз динаміки показників субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів у дітей та дорослих після ТН (табл. 2–5).

У динаміці відносна кількість лімфоцитів (CD45++) у дітей та дорослих через 30 днів після операції ТН

зменшувалася порівняно з доопераційним рівнем на 34 та 35 % відповідно. Проте до кінця 6-го місяця їх кількість у дітей відновлювалася до передопераційного рівня, а в дорослих зменшувалася ще на 8,1 %. Абсолютна кількість лімфоцитів як у дітей, так і в дорослих до кінця першого місяця практично не змінювалася, проте через 6 місяців цей показник у дорослих зменшувався на 50 %, а в дітей — всього на 20,5 %. Це може

бути пов'язано не тільки з віковими особливостями досліджуваних пацієнтів. Може мати значення також етіологічний фактор, а саме первинне захворювання, яке призвело до виникнення ниркової недостатності, якщо воно має імунзапальний генез. Так, у дорослих пацієнтів хронічну ниркову недостатність частіше викликають діабетична нефропатія, артеріальна гіпертензія, полікістоз нирок, хронічний гломеруло-

Таблиця 1. Характеристика реципієнтів ниркового трансплантата

Параметри	Педіатричні реципієнти, n = 16	Дорослі реципієнти, n = 38	p
Вік, роки, M ± m	8,1 ± 1,4	36,0 ± 1,6	
Стать: ч, n (%) ж, n (%)	7 (43,8) 9 (56,2)	22 (57,9) 16 (42,1)	> 0,05 > 0,05
Імуносупресія: Cyclosporin, n (%) Tacrolimus, n (%) Mycophenolate, n (%) Methylprednisolone, n (%)	4 (25) 12 (75) 16 (100) 16 (100)	10 (27,6) 28 (72,4) 38 (100) 38 (100)	> 0,05 > 0,05 > 0,05 > 0,05
Cross-match позитивний	0	0	

Таблиця 2. Динаміка абсолютних та відносних рівнів Т- і В-лімфоцитів у дітей та дорослих до та на різних етапах після трансплантації нирки

Група/період	Лімфоцити (CD45++)		Т-лімфоцити (CD3+19-)		В-лімфоцити (CD3-19+)	
	%	× 10 <sup>9</sup> /л	%	× 10 <sup>9</sup> /л	%	× 10 <sup>9</sup> /л
До ТН, діти, n = 9 (група Ia)	34,4 ± 5,5	3,8 ± 1,2	55,9 ± 5,1	3,5 ± 1,2	25,4 ± 4,9	0,9 ± 0,3
До ТН, дорослі, n = 29 (група Ib)	20,8 ± 1,2	1,7 ± 0,1	68,3 ± 1,7	1,2 ± 0,1	7,8 ± 0,9	0,15 ± 0,02
30 дів після ТН, діти, n = 16 (група IIa)	22,4 ± 2,9	3,9 ± 0,6	45,6 ± 3,6	2,1 ± 0,4	42,0 ± 4,5	1,6 ± 0,3
30 дів після ТН, дорослі, n = 15 (група IIб)	13,5 ± 2,3	1,8 ± 0,3	69,3 ± 2,8	1,3 ± 0,2	16,4 ± 1,4	0,28 ± 0,04
6 міс. після ТН, діти, n = 6 (група IIIa)	34,5 ± 2,8	3,1 ± 0,4	63,2 ± 6,6	2,1 ± 0,4	19,5 ± 3,5	0,6 ± 0,1
6 міс. після ТН, дорослі, n = 10 (група IIIб)	12,4 ± 2,1	0,9 ± 0,1	61,5 ± 8,0	0,5 ± 0,1	9,2 ± 2,8	0,11 ± 0,03

Таблиця 3. Динаміка субпопуляцій Т-лімфоцитів у дітей та дорослих до та на різних етапах після трансплантації нирки

Група	Т-хелпери (CD4+8-)		Т-цитотоксичні (CD4-8+)		Т-активовані (CD3+DR+)		Ireg, ум.од.
	%	× 10 <sup>9</sup> /л	%	× 10 <sup>9</sup> /л	%	× 10 <sup>9</sup> /л	
До ТН, діти, n = 9 (група Ia)	41,7 ± 3,6	1,7 ± 0,6	17,4 ± 1,8	0,7 ± 0,2	2,0 ± 0,4	0,07 ± 0,02	2,5 ± 0,3
До ТН, дорослі, n = 29 (група Ib)	46,6 ± 1,8	0,7 ± 0,1	26,6 ± 1,4	0,44 ± 0,05	3,5 ± 0,4	0,06 ± 0,01	1,9 ± 0,1
30 дів після ТН, діти, n = 16 (група IIa)	30,6 ± 2,3	1,4 ± 0,3	16,8 ± 1,4	0,7 ± 0,1	2,0 ± 0,3	0,08 ± 0,02	1,8 ± 0,1
30 дів після ТН, дорослі, n = 15 (група IIб)	43,4 ± 2,8	0,8 ± 0,2	25,3 ± 2,6	0,5 ± 0,1	4,2 ± 0,8	0,08 ± 0,03	2,00 ± 0,26
6 міс. після ТН, діти, n = 6 (група IIIa)	39,9 ± 4,3	1,2 ± 0,2	23,0 ± 1,9	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,02 ± 0,01	1,8 ± 0,2
6 міс. після ТН, дорослі, n = 10 (група IIIб)	37,2 ± 4,7	0,3 ± 0,1	32,0 ± 5,1	0,3 ± 0,1	9,2 ± 4,1	0,05 ± 0,02	1,5 ± 0,3

пієлонефрит, а в дітей — вроджені аномалії сечової системи (дисплазія чи гіпоплазія нирок, обструктивна уропатія і рефлюкс-нефропатія), а також фокальний сегментарний гломерулосклероз, гемолітико-уремічний синдром [13].

Відносне число Т-лімфоцитів (CD3+19-) в динаміці в дітей знижувалося на 18 % до 1-го місяця після ТН із подальшим збільшенням на 38 % до 6-го місяця після операції. У дорослих відносна кількість Т-лімфоцитів практично не змінювалася: відмічалася їх збільшення на 1,5 % через 1 місяць та зменшення на 8,8 % через 6 місяців. Причому абсолютна кількість через 1 місяць збільшувалася на 8,3 %, а в подальшому зменшувалася на 61,5 %. У дітей абсолютна кількість Т-лімфоцитів зменшувалася на 40 % до кінця 1-го місяця та залишалася не зміненою через 6 місяців. Це може бути пов'язано з більш вираженою відповіддю імунної системи в дітей на базові імуносупресанти (інгібітор кальциневрину та препарат мікофенолової кислоти), які

пригнічують проліферацію Т- і В-лімфоцитів. Збільшення Т-лімфоцитів може вказувати на високу активність імунної системи, а зниження є ризиком недостатності клітинної ланки імунітету.

CD19+ — це основний маркер В-лімфоцитів. Дані клітини є найважливішою ланкою для реалізації гуморальної імунної відповіді. В динаміці в дітей після ТН відмічалася збільшення абсолютної кількості В-лімфоцитів на 77 %, а відносної кількості — на 65 % до кінця 1-го місяця з подальшим зменшенням їх абсолютної кількості на 62,5 %, а відносної кількості — на 53,5 % через пів року. У дорослих через 1 місяць відмічалася збільшення і відносної, й абсолютної кількості В-лімфоцитів на 110 та 86,7 % відповідно, а через 6 місяців їх відносна й абсолютна кількість зменшувалася на 43,9 і на 60 % відповідно. Таким чином, можна констатувати схожість реакції цих клітин, які беруть участь як у гуморальних, так і в клітинних механізмах відторгнення, на ТН у дітей та дорослих [14].

**Таблиця 4. Динаміка кілерних лімфоцитів у дітей та дорослих до та на різних етапах після трансплантації нирки**

Група	ТНК (CD3+16+56+)		НК (CD3-16+56+)	
	%	× 10 <sup>9</sup> /л	%	× 10 <sup>9</sup> /л
До ТН, діти, n = 9 (група Ia)	1,4 ± 0,4	0,05 ± 0,01	6,5 ± 1,2	0,3 ± 0,1
До ТН, дорослі, n = 29 (група Ib)	5,9 ± 0,9	0,09 ± 0,01	9,4 ± 0,8	0,2 ± 0,03
30 дів після ТН, діти, n = 16 (група IIa)	1,8 ± 0,3	0,07 ± 0,01	4,5 ± 0,7	0,17 ± 0,04
30 дів після ТН, дорослі, n = 15 (група IIб)	6,3 ± 0,8	0,12 ± 0,03	4,9 ± 0,9	0,08 ± 0,02
6 міс. після ТН, діти, n = 6 (група IIIa)	2,9 ± 1,5	0,09 ± 0,04	8,5 ± 1,9	0,25 ± 0,04
6 міс. після ТН, дорослі, n = 10 (група IIIб)	4,6 ± 1,1	0,04 ± 0,01	9,4 ± 2,8	0,10 ± 0,05

**Таблиця 5. Динаміка відносних та абсолютних активованих загальних та В-лімфоцитів у дітей та дорослих до та на різних етапах після трансплантації нирки**

Група	Активовані лімфоцити (CD38+45+high)		В-активовані лімфоцити (CD38+19+)	
	%	× 10 <sup>9</sup> /л	%	× 10 <sup>9</sup> /л
До ТН, діти, n = 9 (група Ia)	23,7 ± 5,8	1,1 ± 0,4	6,4 ± 2,9	0,19 ± 0,07
До ТН, дорослі, n = 29 (група Ib)	9,9 ± 1,0	0,17 ± 0,02	0,4 ± 0,1	0,02 ± 0,01
30 дів після ТН, діти, n = 16 (група IIa)	7,9 ± 1,7	0,25 ± 0,05	1,0 ± 0,3	0,03 ± 0,01
30 дів після ТН, дорослі, n = 15 (група IIб)	6,4 ± 0,9	0,10 ± 0,02	0,3 ± 0,1	0,004 ± 0,001
6 міс. після ТН, діти, n = 6 (група IIIa)	13,1 ± 3,3	0,36 ± 0,09	1,0 ± 0,4	0,07 ± 0,04
6 міс. після ТН, дорослі, n = 10 (група IIIб)	13,5 ± 4,8	0,13 ± 0,06	0,5 ± 0,2	0,02 ± 0,01

**Таблиця 6. Динаміка загальних імуноглобулінів у дітей та дорослих до та на різних етапах після трансплантації нирки**

Група	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
До ТН, діти, n = 7 (група Ia)	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,2	6,5 ± 1,2
До ТН, дорослі, n = 24 (група Ib)	1,6 ± 0,2	2,1 ± 0,9	9,1 ± 0,9
30 дів після ТН, діти, n = 15 (група IIa)	0,7 ± 0,1	1,1 ± 0,1	4,5 ± 0,7
30 дів після ТН, дорослі, n = 11 (група IIб)	1,6 ± 0,3	0,8 ± 0,1	7,9 ± 0,8
6 міс. після ТН, діти, n = 6 (група IIIa)	0,6 ± 0,3	1,1 ± 0,1	5,7 ± 1,2
6 міс. після ТН, дорослі, n = 10 (група IIIб)	1,2 ± 0,3	0,3 ± 0,1	4,6 ± 1,0



Т-хелпери (CD4+8-) беруть участь в індукції специфічної імунної відповіді, стимулюють запуск і розвиток імунних реакцій. У динаміці в дітей через 30 днів після операції відмічалось зменшення відносної кількості цих клітин на 26,6 %, а абсолютної кількості — на 17,6 %. Через 6 місяців абсолютне число Т-хелперів зменшувалося ще на 14 %, проте відносна кількість збільшувалася на 30 %. У дорослих відносна кількість Т-хелперів практично не змінювалася через 1 місяць, проте через 6 місяців зменшувалася на 62,5 %. Також відмічалася поступова тенденція до зменшення абсолютної кількості Т-хелперів через 1 та 6 місяців.

Функція Т-цитотоксичних лімфоцитів (CD4-8+) полягає в знищенні власних пошкоджених клітин, заражених вірусами, пухлинних клітин та ін. Вони діють через запуск у таргетній клітині механізмів апоптозу і є головними ефektorними клітинами в механізмах розвитку реакцій відторгнення. При аналізі динаміки цих показників у різні періоди після ТН у дітей і дорослих суттєвих відмінностей не відмічалось.

Т-активовані лімфоцити (CD3+DR+) з'являються внаслідок дії подразнюючих факторів, зазвичай після 3-го дня гострого захворювання. За їх рівнем можна судити про вираженість і силу імунної відповіді. Збільшення експресії на Т-лімфоцитах DR-антигенів може бути при багатьох захворюваннях, пов'язаних із хронічним запаленням. Відзначено їх підвищення в пацієнтів із гепатитом С, пневмоніями, ВІЛ-інфекцією, солідними пухлинами, аутоімунними захворюваннями. В кінці 1-го місяця після ТН у дітей динаміки цього показника не відмічалось, проте через 6 місяців констатовано значне зменшення абсолютного та відносного рівня цих клітин на 75 та 119 % відповідно. У дорослих, навпаки, відмічалася тенденція до значного збільшення відносної кількості Т-активованих клітин (на 20 % у кінці 1-го місяця та на 119 % через 6 місяців після ТН), причому їх абсолютна кількість змінювалася незначно.

ТНК-лімфоцити виявляють здатність до цитолізу (руйнування) вірус-інфікованих і онкогенних клітин, з одного боку, і цитокін-продукуючу активність — з іншого. Зниження їх у ПК може спостерігатися при різних органоспецифічних захворюваннях і системних аутоімунних процесах. Збільшення кількості ТНК-лімфоцитів відзначено при запальних захворюваннях різної етіології, пухлинних процесах. При аналізі динаміки кілерних лімфоцитів ТНК (CD3+16+56+) виявлено тенденцію до збільшення їх абсолютної та відносної кількості в дітей, а в дорослих спочатку відмічався ріст на 33 %, проте через 6 місяців їх кількість зменшилася на 20 % нижче рівня перед проведенням трансплантації.

Натуральні кілери (НК-клітини) — популяція великих гранулярних лімфоцитів, які здатні лізувати клітини-мішені, інфіковані вірусами й іншими внутрішньоклітинними антигенами, пухлинні клітини, а також інші клітини аlogenного і ксеногенного походження. Вони першими розпізнають донорські HLA.

Збільшення кількості НК-клітин може бути пов'язано з активацією трансплантаційного імунітету. Зниження їх кількості спостерігається при вроджених імунodefіцитах, паразитарних інфекціях, аутоімунних захворюваннях, опроміненні, лікуванні цитостатиками і кортикостероїдами. В динаміці у дітей відмічалось зменшення відносної й абсолютної кількості натуральних кілерів через 1 місяць на 30 і 43 % відповідно, проте через 6 місяців їх кількість збільшувалася на 88 і 47 % відповідно. У дорослих відносна й абсолютна кількість НК-клітин також зменшувалася на 47,9 і 60 % відповідно, проте через 6 місяців відмічалася тенденція до відновлення майже до рівня передтрансплантаційного періоду.

У динаміці в дітей відмічалось також різке зменшення абсолютної кількості (у 3 рази) та відносної кількості (у 4,5 рази) активованих лімфоцитів (CD38+45+high) через 1 місяць після ТН із підвищенням їх рівня через 6 місяців. У дорослих прослідковувалася не настільки виражена динаміка, проте рівні відносної й абсолютної кількості цих клітин через 1 місяць зменшувалися на 35 та 41 % відповідно, а через 6 місяців їх відносна кількість зростала майже у 2 рази, а абсолютна кількість збільшувалася на 30 %.

Відносний та абсолютний рівень В-активованих лімфоцитів (CD38+19+) у дітей різко зменшувався до кінця 1-го місяця в 6 разів. Відносний рівень цих клітин залишався таким же через 6 місяців, а абсолютна їх кількість мала тенденцію до зростання. У дорослих такої закономірності не було, у них відносний рівень CD38+19+ зменшувався на 25 % у кінці 1-го місяця, проте підвищувався на 67 % до кінця 6-го місяця після ТН, а абсолютна кількість зменшувалася через 30 днів на 80 % та поверталась до доопераційного рівня через 6 місяців.

Рівень імуноглобулінів є неспецифічним показником гуморального імунітету. В динаміці в дітей та дорослих рівень IgA, який бере участь у забезпеченні місцевого імунітету, не змінювався через 1 місяць та зменшувався на 14 % у дітей та на 25 % у дорослих через 6 місяців після ТН.

Рівень IgM, який забезпечує первинну імунну відповідь, у дітей збільшувався через 1 місяць на 22 % і залишався стабільним до 6 місяців, а у дорослих, навпаки, зменшувався в кінці 1-го місяця на 61,9 %, а через 6 місяців — ще на 62,5 %.

Рівень IgG, який забезпечує вторинну імунну відповідь, в динаміці в дітей та дорослих через 30 днів після ТН зменшувався на 30 та 13,2 % відповідно, а через 6 місяців у дітей зростав на 26 %, а в дорослих зменшувався ще на 41,8 %. У дітей рівень IgG через 6 місяців залишався меншим за показники до проведення ТН на 12 %, а в дорослих — на 50,5 %.

Таким чином, імунологічні аспекти алотрансплантації нирок у дітей та дорослих відрізняються. Результати проведеного дослідження свідчать про те, що в дітей спостерігаються більш виражені ознаки реакції імунної системи на трансплантат і імуносупресивну терапію, ніж у дорослих. У дітей частина лімфоцитів, що

беруть участь у відповіді імунної системи, демонструє значно більше пригнічення, ніж у дорослих, у кінці 1-го місяця спостереження (відносна кількість лімфоцитів CD45<sup>++</sup>, відносна й абсолютна кількість Т-лімфоцитів CD3+19<sup>-</sup>, активованих лімфоцитів CD38+45+high та В-активованих лімфоцитів CD38+19<sup>+</sup>) чи через шість місяців (абсолютна кількість лімфоцитів CD45<sup>++</sup>, абсолютна та відносна кількість В-лімфоцитів CD3-19<sup>+</sup>, Т-активованих CD3+DR<sup>+</sup>). Інші клітини, навпаки, показують суттєво більше зростання через 30 днів (абсолютна та відносна кількість В-лімфоцитів CD3-19<sup>+</sup>) та через 6 місяців після операції (відносна кількість лімфоцитів CD45<sup>++</sup> та Т-лімфоцитів CD3+19<sup>-</sup>, відносна та абсолютна кількість активованих лімфоцитів CD38+45+high). Деякі із субпопуляцій лімфоцитів у дітей швидше відновлюються до передопераційного рівня (відносна кількість лімфоцитів CD45<sup>++</sup> та Т-хелперів CD4+8<sup>-</sup>).

## Висновки

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що реакція імунної системи на нирковий трансплантат у дітей та дорослих має певні відмінності, що проявляється різнонаправленими змінами абсолютної і відносної кількості субпопуляцій лімфоцитів та рівнів імуноглобулінів. Ці зміни обумовлені подразненням імунної системи алогенним органом та її реакцією на імуносупресивну терапію. Ці особливості потребують подальшого дослідження та врахування при виборі схем імуносупресивної терапії та тривалості застосування високих доз препаратів у ранньому посттрансплантаційному періоді.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

**Внесок авторів у роботу над статтею:** *Закардонет В.П.* — аналіз отриманих даних, написання тексту; *Зограб'ян Р.О.* — концепція і дизайн дослідження; *Вороняк О.С.* — збирання й обробка матеріалів; *Кубашко А.В.* — збирання й обробка матеріалів.

## References

1. Krystufkova E, Sekerkova A, Striz I, Brabcova I, Girmanova E, Viklicky O. Regulatory T cells in kidney transplant recipients: the effect of induction immunosuppression therapy. *Nephrol Dial Transplant.* 2012 Jun;27(6):2576-82. doi: 10.1093/ndt/gfr693.
2. Justiz Vaillant AA, Waheed A, Mohseni M. *Chronic Transplantation Rejection.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019.

3. 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.

4. Bouts AH, Davin JC, Krediet RT, et al. Children with chronic renal failure have reduced numbers of memory B cells. *Clin Exp Immunol.* 2004 Sep;137(3):589-94. doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02571.x.

5. Danovitch GM. *Handbook of Kidney Transplantation.* Los Angeles: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. 496 p.

6. Kurz P, Köhler H, Meuer S, Hütteroth T, Meyer zum Büschenfelde KH. Impaired cellular immune responses in chronic renal failure: evidence for a T cell defect. *Kidney Int.* 1986 Jun;29(6):1209-14. doi: 10.1038/ki.1986.129.

7. Cendoroglo 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.

8. Fernández-Fresnedo G, Ramos MA, González-Pardo MC, de Francisco AL, López-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. doi: 10.1093/ndt/15.4.502.

9. Zakordonets VP, Zograbyan RO, Voroniak OS, Kubashko AV, Baran VYe. Immune system features in pediatric candidates for kidney transplantation. *Kidneys.* 2017;6(3):144-148. doi: 10.22141/2307-1257.6.3.2017.109029.

10. Loupy A, Haas M, Solez K, et al. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. *Am J Transplant.* 2017 Jan;17(1):28-41. doi: 10.1111/ajt.14107.

11. Lanh TA, Sesyk M, authors; Leonova VP, editor. *Kak opisyvat' statistiku v meditsine: Annotirovannoe rukovodstvo dlia avtorov, redaktorov i retsenzentov [How to describe statistics in medicine: Annotated Guide for Authors, Editors, and Reviewers].* Moscow: Prakticheskaia medytyna; 2011. 480 p. (in Russian).

12. Dunn OJ, Clark VA. *Basic Statistics: A Primer for the Biomedical Science.* 4th ed. New Jersey: Wiley; 2009. 272 p.

13. Cho MH. Pediatric kidney transplantation is different from adult kidney transplantation. *Korean J Pediatr.* 2018 Jul;61(7):205-209. doi: 10.3345/kjp.2018.61.7.205.

14. Mehrotra A, Heeger PS. B cells and kidney transplantation: beyond antibodies. *J Am Soc Nephrol.* 2014 Jul;25(7):1373-4. doi: 10.1681/ASN.2014020132.

Отримано/Received 15.10.2019

Рецензовано/Revised 24.10.2019

Прийнято до друку/Accepted 04.11.2019 ■

## Information about authors

Vladislav Zakordonets, Head of the Department of Kidney Transplantation, State Institution "O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology" of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
 Ruben Zograbyan, MD, PhD, Head of the Kidney Transplantation and Dialysis Department, State Institution "O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology" of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
 Oleksiy Voroniak, surgeon at the Department of Kidney Transplantation, State Institution "O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology" of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7188-5596>

Закордонец В.Ф., Зограб'ян Р.О., Вороняк А.С., Кубашко А.В.  
 Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А.А. Шалимова, г. Киев, Украина

### Особенности реакции иммунной системы у реципиентов почечного трансплантата детского возраста

**Резюме. Актуальность.** Для улучшения результатов трансплантации почки необходимо учитывать возрастную категорию пациента и состояние его иммунной системы. **Цель работы:** изучить особенности реакции иммунной системы на почечный трансплантат у реципиентов детского возраста. **Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ цитометрического исследования субпопуляций лимфоцитов периферической крови, гейтованных по CD45++ со следующими антигенами: CD3/4/8/45 (Т-хелперы, Т-цитотоксические), CD3/DR/19/45 (Т-активированные, В-клетки), CD 3/16/56/45 (Т-NK- и NK-лимфоциты), CD38/45/19 (активированные, общие и В-лимфоциты), расчетного иммунорегуляторного индекса (Ireg) — CD4+/CD8+ и уровней общих иммуноглобулинов (Ig) классов А, М, G в сыворотке крови в динамике у 38 взрослых реципиентов и 16 детей, которым в 2016–2019 гг. в Национальном институте хирургии и трансплантологии им. А.А. Шалимова НАМН Украины была выполнена первая аллотрансплантация почки от живого родственного донора. Исследование состояния иммунной системы проводили перед трансплантацией почки, в конце 1-го и 6-го месяцев после трансплантации. **Результаты.** У детей наблюдаются более выраженные признаки реакции иммунной системы на трансплантат и иммуносупрессивную терапию, чем у взрослых. Часть лимфоцитов, участвующих в ответе иммунной системы, у детей демонстрирует

значительно большее подавление в конце первого месяца наблюдения (относительное количество лимфоцитов CD45++, относительное и абсолютное количество Т-лимфоцитов CD3+19–, активированных лимфоцитов CD38+45+high и В-активированных лимфоцитов CD38+19+) и через шесть месяцев (абсолютное количество лимфоцитов CD45++, абсолютное и относительное количество В-лимфоцитов CD3–19+ Т-активированных CD3+DR+). Другие субпопуляции лимфоцитов, наоборот, показывают значительно больший рост через 30 дней (абсолютное и относительное количество В-лимфоцитов CD3–19+) и через шесть месяцев после операции (относительное количество лимфоцитов CD45++ и Т-лимфоцитов CD3+19–, относительное и абсолютное количество активированных лимфоцитов CD38+45+high). Некоторые из субпопуляций лимфоцитов у детей быстрее восстанавливаются до предоперационного уровня (относительное количество лимфоцитов CD45++ и Т-хелперов CD4+8–). **Выводы.** Анализ полученных данных свидетельствует о том, что реакция иммунной системы на почечный трансплантат у детей и взрослых проявляется разнонаправленными изменениями абсолютного и относительного количества субпопуляций лимфоцитов и уровней иммуноглобулинов, что необходимо учесть при выборе схем иммуносупрессивной терапии. **Ключевые слова:** трансплантация почки у детей и взрослых; субпопуляции лимфоцитов; иммуноглобулины

V.P. Zakordonets, R.O. Zograbyan, A.S. Vroniak, A.V. Kubashko  
 State Institution "O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology", Kyiv, Ukraine

### Features of the immune system response in pediatric renal transplant recipients

**Abstract. Background.** We need to take into account patients' age and their immune system status to improve the results of kidney transplantation. **Objective:** to study the characteristics of the immune system response to a kidney transplant in pediatric recipients. **Materials and methods.** We performed a retrospective analysis of the cytometric study of peripheral blood lymphocytes subsets gated on CD45++ with the following antigens: CD3/4/8/45 (T-helper, T-cytotoxic), CD3/DR/19/45 (T-activated, B-cells), CD3/16/56/45 (T-NK- and NK-lymphocytes), CD38/45/19 (activated, total and B-lymphocytes), immunoregulatory index — CD4+/CD8+, and levels of immunoglobulin classes A, M, G in the blood serum in 38 adult and 16 pediatric recipients, who got the first kidney allograft from a living related donor in 2016–2019 at O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology. Immune tests were performed before kidney transplantation, by the end of the first and sixth months after surgery. **Results.** Children have more pronounced signs of an immune system response to transplant and immunosuppressive therapy than adults. Some of the lymphocyte subsets in children show significantly stronger suppression by the end of the first

month after surgery (relative number of CD45++ lymphocytes, relative and absolute number of CD3+19– T-lymphocytes, activated lymphocytes CD38+45+high and B-activated lymphocytes CD38+19+) and in six months (absolute CD45++ lymphocyte count, absolute and relative CD3–19+ B-lymphocyte count, T-activated CD3+DR+). Other lymphocyte subsets, on the contrary, show significantly greater increase in 30 days (absolute and relative CD3–19+ lymphocyte count) and 6 months (relative CD45++ lymphocyte count and T-lymphocytes CD3+19–, relative and absolute count of activated lymphocytes CD38+45+high) after transplantation. Some of the lymphocyte subsets in children recover to preoperative levels faster (relative numbers of CD45++ lymphocytes and T-helper cells CD4+8–). **Conclusions.** The analysis of the results shows that immune system response to kidney transplant in children and adults is somewhat different and is manifested by multidirectional changes in the absolute and relative number of lymphocyte subsets and immunoglobulin levels, which should be considered when choosing immunosuppressive therapy. **Keywords:** pediatric and adult kidney transplantation; lymphocyte subsets; immunoglobulins