

Показатели субпопуляционного состава лимфоцитов для прогноза дисфункции почечного аллотрансплантата

С.В. Зыблева*, С.Л. Зыблев, В.Н. Мартинков

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»,
246040, Республика Беларусь, Гомель, ул. Ильича, д. 290

*Контактная информация: Светлана Валерьевна Зыблева, канд. мед. наук, врач-иммунолог, ученый секретарь
Республиканского научно-практического центра радиационной медицины и экологии человека,
e-mail: zyb-svetlana@yandex.ru

Введение. Одной из основных проблем в трансплантологии является выявление простых, надежных и неинвазивных маркеров, которые позволят прогнозировать неблагоприятные иммунные реакции и своевременно адаптировать иммуносупрессивную терапию у реципиентов донорских органов.

Цель исследования. Установить иммунологические критерии прогноза дисфункции почечного трансплантата.

Материал и методы. Обследованы 197 реципиентов почечного трансплантата. Всем проводили иммунологическое обследование с определением более 40 субпопуляций лейкоцитов. Функцию почечного трансплантата оценивали на 7-е сутки с разделением пациентов на две группы: с первичной функцией и дисфункцией трансплантата. Для прогнозирования дисфункции почечного трансплантата была использована простая и множественная логистическая регрессия. Предварительный статистический анализ проводился методами непараметрической статистики.

Результаты и обсуждение. Создана система балльной оценки прогнозирования функции почечного трансплантата. При значении $CD19^+IgD^+CD27^-$ не более 72,7% начисляют 1 балл, а при значении более 72,7%, – 0 баллов. При значении $CD3^+CD8^+CD69^+$ меньше 9,7% начисляют 1 балл, при уровне $CD3^+CD8^+CD69^+$ не более 9,7% – 0 баллов. Итоговый показатель определяют суммированием балльных оценок. При итоговом показателе, равном нулю, прогнозируют первичную функцию трансплантата, а при его значении не менее единицы – дисфункцию трансплантата. Чувствительность системы равна 91,9%, специфичность – 100%, точность – 94,9%, прогностическая ценность положительного результата теста – 1, а прогностическая ценность отрицательного результата теста – 0,877.

Выводы. 1. Для прогноза дисфункции почечного трансплантата можно использовать показатели $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^+CD8^+CD69^+$. 2. При значениях $CD19^+IgD^+CD27^-$, не превышающих 72,7%, и $CD3^+CD8^+CD69^+$ более 9,7% прогнозируется развитие дисфункции почечного трансплантата.

Ключевые слова: трансплантация почки, $CD19^+IgD^+CD27^-$, $CD3^+CD8^+CD69^+$, дисфункция трансплантата почки

Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов
Финансирование Исследование проводилось без спонсорской поддержки

Зыблева С.В., Зыблев С.Л., Мартинков В.Н. Показатели субпопуляционного состава лимфоцитов для прогноза дисфункции почечного аллотрансплантата. Трансплантология. 2020;12(3):189–198. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2020-12-3-189-198>

Studying some lymphocyte subpopulations in search for predictors of renal graft dysfunction

S.V. Zybleva*, S.L. Zyblev, V.N. Martinkov

Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology,
290 Il'ich St., Gomel 246040 Republic of Belarus

* Correspondence to: Svetlana V. Zybleva, Cand. Med. Sci., Immunologist, Academic Secretary, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, e-mail: zyb-svetlana@yandex.ru

Introduction. One of the main problems in transplantology is the detection of simple, reliable and non-invasive markers that could predict adverse immune reactions and adjust immune suppressive therapy in allograft recipients in a timely manner.

Objective. To determine the immunological criteria for the prediction of a graft dysfunction.

Material and methods. We have examined 197 recipients who underwent kidney transplantation. All of them were immunologically examined with the identification of more than 40 subpopulations of leukocytes. Allograft function was assessed on day 7 with the division of patients into two groups: with either primary or graft dysfunction. Simple and multiple logistic regressions were used to predict a graft dysfunction. Preliminary statistical analysis was performed using nonparametric statistics.

Results and discussion. A scoring system to predict the graft function has been worked out. At $CD19^+IgD^+CD27^- \leq 72.7\%$, score 1 is assigned, and 0 score is given at $> 72.7\%$. At $CD3^+CD8^+CD69^+ > 9.7\%$ score 1 is assigned, and 0 score is given at $CD3^+CD8^+CD69^+ \leq 9.7\%$. Total score is calculated by summing up the scores. The total score = 0 predicts a primary graft function; total score ≥ 1 predicts a graft dysfunction. This scoring system has the sensitivity of 91.9%, epy specificity of 100%, epy accuracy of 94.9%, positive predictive value of 1 and negative predictive value of 0.877.

Conclusions. 1. Percentage of $CD19^+IgD^+CD27^-$ and $CD3^+CD8^+CD69^+$ subpopulations can be used to predict a graft dysfunction. 2. At values of $CD19^+IgD^+CD27^-$ not exceeding 72.7% and $CD3^+CD8^+CD69^+$ more than 9.7%, the development of a graft dysfunction can be anticipated.

Keywords: kidney transplantation, $CD19^+IgD^+CD27^-$, $CD3^+CD8^+CD69^+$, graft dysfunction

CONFLICT OF INTERESTS Authors declare no conflict of interest

FINANCING The study was performed without external funding

Zybleva SV, Zyblev SL, Martinkov VN. Studying some lymphocyte subpopulations in search for predictors of renal graft dysfunction. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2020;12(3):189–198. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2020-12-3-189-198>

ГД – гемодиализ
ДД – додиализная стадия
ДИ – доверительный интервал
ДФТ – дисфункция трансплантата
ИП – итоговый показатель
ИСТ – иммуносупрессивная терапия
ПД – перитонеальный диализ

ПТ – почечный трансплантат
ПФТ – первичная функция трансплантата
ТП – трансплантация почки
NPV – прогностическая ценность отрицательного результата теста
PPV – прогностическая ценность положительного результата теста

Введение

Наиболее эффективным методом лечения пациентов с терминальной стадией болезни почек является трансплантация почки (ТП). По данным ряда авторов, дисфункция трансплантата (ДФТ) является одним из основных факторов, влияющих на выживаемость трансплантата после одного года, длительность пребывания в стационаре и частоту эпизодов острого отторжения [1, 2].

По литературным данным, у 20–33% реципиентов почечных аллотрансплантатов, полученных от умершего донора, и у 3–5% реципиентов почек, полученных от живых доноров, наблюдается ранняя ДФТ [2–4]. В трансплантологии созда-

ны модели расчета риска развития дисфункции донорского органа на основании таких показателей, как время холодовой ишемии, качество аллотрансплантата, уровень креатинина донора, индекс массы тела донора, возраст пациента и имеющиеся у него сопутствующие заболевания, иммунологическая сенсбилизация [3, 5, 6].

До недавнего времени степень влияния многочисленных факторов риска на развитие ДФТ оставалась равнозначной. Благодаря достижениям в иммуносупрессивной терапии (ИСТ) многие иммунологические факторы потеряли свою актуальность [6]. Однако на фоне современных тенденций в трансплантологии, направленных на выявление и формирование иммунологиче-

Материал и методы

ской толерантности и, тем самым, обоснование возможности минимизации ИСТ, все больший интерес вызывают иммунологические критерии, ассоциированные с развитием дисфункции донорского органа. Так, исследования последних лет свидетельствуют о том, что ранний отказ от кортикостероидов у реципиентов с ДФТ может быть не обоснован [7].

В последние годы мы стали свидетелями публикаций номограмм и прогнозных показателей в области ТП с применением множества предикторов для прогнозирования дисфункции донорского органа. В ряде исследований разработаны номограммы для прогнозирования скорости клубочковой фильтрации через год после операции, однако значительное число предикторов (18) может ограничить широкое применение номограмм в клинической практике [5]. Включение большого набора предикторов предлагает и другое исследование, основанное на применении базы данных UNOS/OPTN (obtained from United Network for Organ Sharing/Organ Procurement and Transplantation), и использующее для прогнозирования 20 переменных ДФТ.

Эти исследования можно сравнить с более простым подходом, предлагаемым учеными, которые разработали номограммы для прогнозирования дисфункции донорского органа с гораздо меньшим набором предикторов: время холодовой ишемии, возраст пациента и его масса тела, несовпадение по HLA-DR, уровень предсуществующих антител и возраст донора [6, 8].

Как результат, одной из основных проблем в трансплантологии является открытие простых, надежных и неинвазивных маркеров, которые позволят предугадать неблагоприятные иммунные реакции и своевременно адаптировать ИСТ у реципиентов донорских органов. Отражением системности происходящих процессов является изменение состава некоторых специфических рецепторов на клетках иммунной системы. При проведении иммунологического мониторинга реципиентов после аллотрансплантации оценивается широкий спектр иммунологических показателей, однако выявление наиболее информативных и значимых из них для изучения в посттрансплантационном периоде остается важным направлением в современной иммунологии.

Цель исследования. Установить иммунологические критерии прогноза дисфункции почечного трансплантата.

Работа выполнена на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель. Сформирована группа исследования из 197 реципиентов почечного трансплантата (ПТ) с терминальной стадией хронической болезни почек, которым выполнена трансплантация аллогенной почки в хирургическом отделении (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Клиническое исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 года и одобрено комитетом по этике ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» (протокол № 5 от 02.12.2013).

Критериями включения в группу исследования являлись: первичная почечная трансплантация; индукционная терапия моноклональными анти-CD25-антителами; трехкомпонентная иммуносупрессивная терапия. Отрицательный результат прямой перекрестной пробы (cross-match) наблюдался в 100% случаев.

Пациенты были разделены на две группы по виду функционирования ПТ, а именно с первичной функцией трансплантата (ПФТ) – 101 больной; с ранней ДФТ – 96 больных. Ранняя функция ПТ оценивалась на 7-е сутки после операции по уровню креатинина крови и необходимости проведения диализа. При показателях креатинина ниже 300 мкмоль/л функция считалась первичной (ПФТ), а при значениях, равных или превышающих 300 мкмоль/л, и при возникновении необходимости в диализе на первой неделе после трансплантации пациенты были отнесены в группу ДФТ [9]. В качестве группы сравнения участвовали 90 здоровых добровольцев.

Среди реципиентов ПТ было 122 мужчины (61,9%) и 75 женщин (38,1%). Средний возраст больных составил $45,9 \pm 0,9$ года [95% доверительный интервал (ДИ) 44,1; 47,57]. Время холодовой ишемии было равно $12,38 \pm 0,3$ часа [95% ДИ 11,8; 13,0]. До трансплантации 79,7% пациентов находились на программном гемодиализе, а 18,78% – на перитонеальном диализе; 3 пациента (1,5%) были на додиализной стадии. По продолжительности диализа отмечалось следующее распределение: 5 лет и более – 33 пациента (16,8%), от одного года до 5 лет – 116 (58,9%) и до одного года – 45 (22,8%).

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

Иммунологическое исследование проводили на 3-и посттрансплантационные сутки. Для определения экспрессии поверхностных маркеров лимфоцитов методом проточной цитометрии крови производили пробоподготовку по безотмывочной технологии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter и BD, США) в объемах, рекомендуемых фирмой-производителем.

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] – М [ДИ -95%; +95%] и медиана [интерквартильный размах] – Me [Q25; Q75]. Для определения различий между группами по уровням количественных признаков использовали непараметрические критерии (Mann-Whitney U Test, Wilcoxon Matched Pairs Test). Для номинальных переменных использовался анализ таблиц сопряженности с оценкой различий в частотах с использованием критерия Хи-квадрат (χ^2) Пирсона и точного критерия Фишера (Pearson Chi-square, Fisher exact test). Определение корреляции между показателями осуществляли с использованием ранговой корреляции Спирмена (Spearman Rank Order Correlations). Для оценки показателей и их сочетаний при прогнозировании функции ПТ были использованы простая и множественная логистическая регрессия с пошаговым включением и исключением показателей (Forward и Backward Stepwise соответственно). Качество уравнения логистической регрессии оценивали с учетом статистической значимости для уравнения в целом, значения R-квадрат

Нэйджелкерка, способности переклассифицировать наблюдения и согласия Хосмера-Лемешева. Кроме того, оценивали значимость коэффициентов уравнения регрессии и нормальность распределения остатков.

При создании системы балльной оценки для прогнозирования функции ПТ использовали процедуру категориальной регрессии. Качество уравнения категориальной регрессии оценивали с учетом статистической значимости для уравнения в целом ($p < 0,05$), значения R-квадрат и значимости рассчитанных коэффициентов уравнения регрессии. Для определения количества баллов, приписываемых показателям, использовали значения Важности для коэффициентов модели. Результаты считали статистически значимыми при уровне значимости менее 0,05.

Результаты и обсуждение

Пациенты сравниваемых групп не имели статистически значимых отличий по полу, возрасту, виду проводимого диализа до трансплантации и времени ишемии, что представлено в табл. 1.

Перед операцией показатели креатинина в изучаемых группах не имели значимых отличий ($p = 0,032$), в то время как у пациентов с ДФТ уровень мочевины был статистически значимо ниже по сравнению с таковыми при ПФТ ($p = 0,0001$). Показатели креатинина и мочевины на 7-е сутки послеоперационного периода были статистически значимо ниже при ПФТ, чем при развитии ДФТ, что объясняется дизайном исследования (табл. 2).

На первом этапе исследования с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни проведена оценка различий между имму-

Таблица 1. Сравнительная характеристика пациентов

Table 1. Comparative characteristics of patients

Группа	Возраст, лет М ДИ [-95%; +95%]	Пол, n (%)	Вид диализа, n (%)	Время ишемии, час М ДИ [-95%; +95%]
Всего (n=197)	45,9 [44,1; 47,6]	жен – 75 (38,1%), муж – 122 (61,9%)	ГД – 157 (79,7%) ПД – 37 (18,8%) ДД – 3 (1,5%)	12,38 [11,8; 13,0]
ПФТ (n=101)	45,5±1,3 [42,9; 48,0]	жен – 38 (37,6%), муж – 63 (62,4%)	ГД – 76 (75,2%) ПД – 23 (22,8%) ДД – 1 (2,00%)	11,9 ± 0,4 [11,1; 12,8]
ДФТ (n=96)	46,3±1,2 [43,9; 48,7]	жен – 37 (38,5%), муж – 59 (61,5%)	ГД – 81 (84,4%) ПД – 14 (14,6%) ДД – 2 (1,00%)	12,79 ± 0,46 [11,9; 13,7]
Сравнение показателей ПФТ и ДФТ	p=0,772 Mann-Whitney U-test	p=0,506 Fisher exact p, one-tailed	p=0,274 Pearson Chi-square	p=0,145 Mann-Whitney U-test

Примечания: ГД – гемодиализ; ДД – додиализная стадия; ПД – перитонеальный диализ

нологическими показателями выделенных групп пациентов в зависимости от функции трансплантата на 7-е сутки. Также на 7-е сутки оценили корреляцию по Спирмену между всеми анализируемыми иммунологическими показателями и уровнем креатинина.

Из всех иммунологических показателей, между которыми наблюдались статистически значимые отличия, были выделены 9 показателей с минимальным значением Z-критерия (табл. 3).

По итогам корреляционного анализа выделены также 9 показателей, для которых определена статистически значимая корреляция с уровнем креатинина на 7-е сутки с максимальным по модулю значением коэффициента корреляции Спирмена, результаты которой представлены в табл. 4.

Таким образом обобщая результаты из таблиц 3 и 4, мы отобрали 11 иммунологических показателей для проведения дальнейших этапов исследования (табл. 5).

Учитывая полученные данные, выявленные в ходе исследования, в табл. 5 приведены иммунологические показатели периферической крови, по которым различались исследуемые нами груп-

пы пациентов, и которые могут служить прогностическими маркерами, отражающими развитие ДФТ.

После этого для выделенных на предыдущих этапах показателей провели индивидуальную оценку с использованием логистической регрессии, вычислив 2 Log-правдоподобие, R-квадрат Нэйджелкерка, процент правильно классифицированных случаев и площадь под характеристической кривой (AUC) с 95% доверительным интервалом [95%ДИ]. Для всех моделей логистической регрессии определены хорошие прогностические характеристики в отношении статуса пациентов на 7-е сутки после ТП (табл. 6).

Как видно из табл. 6, для всех моделей логистической регрессии определены хорошие прогностические характеристики в отношении функции трансплантата на 7-е сутки после ТП.

Для прогнозирования функции ПТ была принята попытка создания модели на основе уравнения множественной логистической регрессии.

Выделенные показатели проанализированы на наличие взаимной корреляции по Спирмену. Для построения прогностической модели предпо-

Таблица 2. Биохимические показатели пациентов (Me [Q25; Q75])

Table 2. Biochemical parameters in patients (Me [Q25; Q75])

Показатель	Сутки	Первичная функция трансплантата	Дисфункция трансплантата	p, Mann–Whitney U-Test
Креатинин, мкмоль/л	0	687,00 [579,00; 932,00]	818,00 [627,00; 997,00]	$p_{FT/ДФТ}=0,032$
	7	148,50 [115,50; 197,00]	525,00 [360,00; 707,00]	$p_{FT/ДФТ}<0,0001$
Мочевина, ммоль/л	0	19,00 [15,20; 21,30]	15,80 [10,60; 19,00]	$p_{FT/ДФТ}=0,0001$
	7	10,30 [7,80; 14,50]	22,90 [17,30; 34,40]	$p_{FT/ДФТ}<0,0001$

Таблица 3. Результаты сравнительного анализа иммунологических показателей между группами первичной функции трансплантата и дисфункции трансплантата

Table 3. The results of a comparative analysis of the immunological parameters between the primary graft function and graft dysfunction groups

Иммунологические показатели	U Манна–Уитни	W Вилкоксона	Z	Уровень значимости p
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺ , %	53,500	3293,500	-10,261	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , %	68,500	3308,500	-9,920	<0,001
CD3 ⁺ CD127 ⁺ , %	126,500	3207,500	-9,909	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺ , %	136,500	3062,500	-9,796	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	253,500	3493,500	-9,492	<0,001
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁺ , %	125,500	1895,500	-9,458	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , %	352,500	2698,500	-9,111	<0,001
Lym71 ⁺ , 10 ⁹ /л	109,500	2125,500	-9,105	<0,001
CD19 ⁺ CD40 ⁺ , %	143,000	1574,000	-8,630	<0,001

чительно использовали сочетания показателей, между которыми не наблюдалось сильной корреляции (величина коэффициента ранговой корреляции Спирмена меньше 0,7 по модулю).

В силу этого на первом этапе для построения модели в качестве предсказывающих переменных были использованы первые 6 показателей из 11, представленных в табл. 6. В результате применения пошагового метода включения и исключения показателей (forward и backward stepwise) создано уравнение, включающее два показателя CD3⁺CD4⁺CD8⁻ и CD19⁺IgD⁺CD27⁻, которое характеризовалось высоким значени-

ем R-квадрат Нэйджелкерка (0,990), способностью верно переклассифицировать наблюдения (99%) и уровнем значимости $p > 0,05$ при проверке согласия Хосмера–Лемешева. Однако то, что рассчитанные коэффициенты уравнения регрессии были статистически незначимы, а также ненормальное распределение остатков свидетельствовало о неустойчивости модели.

Для построения более устойчивой модели последовательно применена логистическая регрессия с поочередной заменой показателей с наименьшей оценкой (score) при их одновременном использовании для построения уравнения.

Таблица 4. Корреляционный анализ иммунологических показателей на 3-и сутки и уровня креатинина в крови на 7-е сутки

Table 4. Correlation analysis of immunological parameters on day 3 and creatinine blood level on day 7

Иммунологические показатели	Коэффициент корреляции Спирмена	Уровень значимости p
CD3 ⁺ CD127 ⁺ , %	+0,745608	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺ , %	+0,742719	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ , %	+0,738619	<0,001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺ , %	+0,710220	<0,001
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻ , %	-0,687203	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , %	-0,686814	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	+0,658460	<0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺ , %	-0,648654	<0,001
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁺ , %	+0,573618	<0,001

$$P = \frac{1}{(1 + \text{Exp}(-Y))},$$

Стандартная модель логистической регрессии имеет вид:

где P – вероятность отнесения пациента к группе риска, Y – константа $B + a_1X_1 + a_2X_2 + a_nX_n$, a_n – коэффициенты регрессии (B для каждого значения), X_n – значения вошедших в модель показателей.

В результате были получены два уравнения с хорошими прогностическими характеристиками и статистически значимыми коэффициентами (с использованием двух пар показателей CD19⁺IgD⁺CD27⁻ и CD3⁺CD4⁺CD8⁺ и D19⁺IgD⁺CD27⁻ и CD3⁺CD8⁺CD69⁺), представленными в табл. 7, 8.

Таблица 5. Иммунологические показатели в группах исследования

Table 5. Immunological parameters in the studied groups

Иммунологические показатели	Группа сравнения	Первичная функция трансплантата	Дисфункция трансплантата
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD69 ⁺ , %	7,90 [5,45;12,00]	6,71 [5,33;8,74]*	15,22 [12,13;19,20]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ , %	3,50 [3,10;7,20]	1,86 [1,57;2,16]*	4,24 [3,10;4,72]
Lym71 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,02 [0,01;0,03]	0,01 [0,01;0,03]	0,25 [0,17;0,53] *
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺ , %	9,70 [7,10;15,80]	4,45 [2,58;6,74]*	16,35 [13,78;21,44]
CD3 ⁺ CD127 ⁺ , %	82,60 [80,80;87,20]	82,90 [81,10;84,90]	89,59 [87,31;91,80]*
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁻ , %	50,90 [44,00;62,90]	81,08 [77,06;84,38]*	52,20 [47,63;58,24]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	15,90 [7,40;22,60]	8,54 [5,58;10,12]*	24,43 [15,50;28,49]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , %	1,40 [0,90; 3,80]	1,40 [0,94;1,82]	0,53 [0,42;0,63]
CD19 ⁺ CD40 ⁺ , %	97,10 [93,80;98,50]	86,20 [82,20;90,70]*	96,35 [94,53;98,90]
CD19 ⁺ IgD ⁺ CD27 ⁺ , %	22,80 [19,10;27,70]	15,28 [12,11;18,44]*	31,68 [29,24;33,23]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD38 ⁺ , %	45,20 [42,30;52,10]	52,78 [47,81;57,74]*	36,51 [30,47;45,90]

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями группы сравнения

При этом уравнение на основе пары $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^+CD4^+CD8^+$ отличалось уровнем значимости $p < 0,05$ при проверке согласия Хосмера–Лемешева, что не подтверждало ее хорошего качества.

Таким образом, при использовании результатов, приведенных в табл. 8, было составлено уравнение логистической регрессии, с помощью которого можно оценить вероятность развития

ДФТ с учетом уровня в крови субпопуляций $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^+CD8^+CD69^+$ лимфоцитов:

$$P = 1 / (1 + \exp(-(-5,4 + (-0,2 \times CD19^+IgD^+CD27^-) + (2 \times CD3^+CD8^+CD69^+))))$$

При $P > 0,5$ прогнозируют ДФТ, а при $P \leq 0,5$ ПФТ.

При использовании процедуры ROC-анализа произведена оценка диагностических характеристик модели на основе уравнения логистической регрессии (рис. 1). При этом было установлено,

Таблица 6. Оценка иммунологических показателей с использованием логистической регрессии

Table 6. Assessment of immunological parameters using logistic regression

Иммунологические показатели	-2 Log-правдоподобие	R-квадрат Нэйджелкерка	Процент правильно классифицированных случаев	Отношение шансов	AUC [95%ДИ]
$CD3^+CD8^+CD69^+$, %	32,178	0,92	95,9	10,347	0,990 [0,958-0,999]
$CD3^+CD4^+CD8^+$, %	38,129	0,90	92,3	1,02E+04	0,986 [0,950-0,998]
$Lym71^+$, $10^9/л$	39,159	0,88	96,0	3,04E+42	0,972 [0,926-0,993]
$CD3^+CD4^+CD69^+$, %	47,768	0,87	95,8	2,323	0,974 [0,932-0,993]
$CD3^+CD127^+$, %	54,112	0,85	89,0	5,012	0,976 [0,936-0,994]
$CD19^+IgD^+CD27^-$, %	52,963	0,84	94,2	0,762	0,973 [0,930-0,993]
$CD3^+CD4^+HLA-DR^+$, %	69,086	0,80	89,2	2,072	0,953 [0,906-0,981]
$CD3^+CD4^+CD8^+$, %	85,089	0,74	92,6	0,001	0,935 [0,883-0,969]
$CD19^+CD40^+$, %	69,319	0,73	89,2	1,739	0,960 [0,907-0,987]
$CD19^+IgD^+CD27^-$, %	108,921	0,64	90,7	1,296	0,887 [0,825-0,933]
$CD3^+CD4^+CD38^+$, %	112,654	0,62	79,1	0,784	0,890 [0,828-0,935]

Примечание: во всех случаях уровень статистической значимости $p < 0,001$

Таблица 7. Параметры уравнения логистической регрессии на основе показателей $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^+CD4^+CD8^+$

Table 7. Parameters of logistic regression equation for $CD19^+IgD^+CD27^-$ and $CD3^+CD4^+CD8^+$ variables

Иммунологические показатели	В	Среднеквадратичная ошибка	Вальд	Знач.	Exp (В)	95% ДИ для EXP(В)	
						нижняя	верхняя
$CD19^+IgD^+CD27^-$	-0,326	0,098	11,186	0,001	0,722	0,596	0,951
$CD3^+CD4^+CD8^+$	-4,636	1,458	10,111	0,001	0,010	0,001	54,310
Константа	26,759	7,688	12,115	0,001	4,183E+11	—	—

Примечания: В – коэффициент регрессионного уравнения, Вальд – критерий Вальда – критерий значимости коэффициента В для соответствующей независимой переменной, Знач. – статистическая значимость по критерию Вальда

Таблица 8. Параметры уравнения логистической регрессии на основе показателей $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^+CD8^+CD69^+$

Table 8. Parameters of logistic regression equation for $CD19^+IgD^+CD27^-$ and $CD3^+CD8^+CD69^+$ variables

Иммунологические показатели	В	Среднеквадратичная ошибка	Вальд	Знач.	Exp (В)	95% ДИ для EXP(В)	
						нижняя	верхняя
$CD19^+IgD^+CD27^-$	-0,204	0,079	6,730	0,009	0,815	0,699	0,951
$CD3^+CD8^+CD69^+$	1,990	1,023	3,789	0,052	7,319	0,986	54,310
Константа	-5,385	10,182	0,280	0,597	0,005	—	—

Примечания: В – коэффициент регрессионного уравнения, Вальд – критерий Вальда – критерий значимости коэффициента В для соответствующей независимой переменной, Знач. – статистическая значимость по критерию Вальда

что чувствительность полученной модели была равна 97,2%, специфичность – 97,7%, точность – 97,4%, прогностическая ценность положительного результата теста (PPV) – 0,986, а прогностическая ценность отрицательного результата теста (NPV) – 0,955.

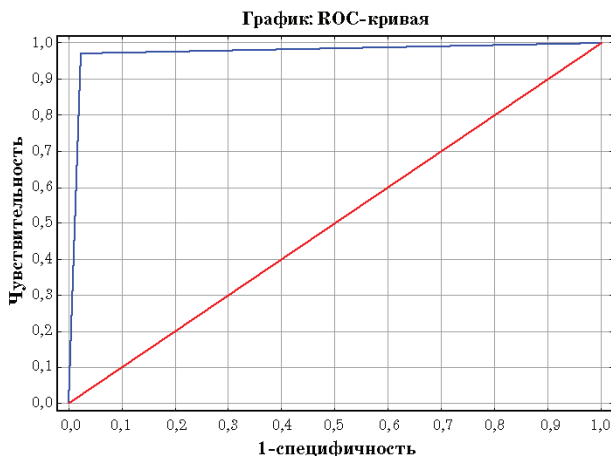


Рис. 1. Диагностические характеристики модели прогнозирования дисфункции почечного аллотрансплантата
Fig. 1. Diagnostic characteristics of the model for predicting a renal graft dysfunction

Уравнение множественной логистической регрессии на основе пары показателей $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^+CD8^+CD69^+$ характеризовалось значением R-квадрат Нэйджелкерка, равным 0,943, способностью хорошо переклассифицировать наблюдения (97,4%) и уровнем значимости $p=0,962$ при проверке согласия Хосмера–Лемешева.

Однако для полученной модели наблюдалось ненормальное распределение остатков, что могло свидетельствовать о неустойчивости модели. Поэтому была предпринята попытка создания системы балльной оценки для прогнозирования статуса ПТ на 7-е сутки на основе пары показателей $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^+CD8^+CD69^+$.

При использовании процедуры ROC-анализа в качестве точек отсечения выбраны значения $CD19^+IgD^+CD27^-$ не более 72,7% и $CD3^+CD8^+CD69^+$ более 9,7%. Были созданы дополнительные бинарные переменные путем перекодирования $CD19^+IgD^+CD27^-$ не более 72,7% в значение 0 и $CD3^+CD8^+CD69^+$ более 9,7% в значение 1.

Для определения значений балльных оценок использовали метод категориальной регрессии. В результате были рассчитаны показатели качества модели – множественный R 0,939 и R-квадрат 0,881, уровень значимости для модели в целом

и для коэффициентов модели был менее 0,05. Показатель Важности для перекодированных переменных $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^+CD8^+CD69^+$ составил соответственно 0,54 и 0,46, что свидетельствует о приблизительно равной значимости переменных для прогнозирования.

Таким образом была создана система балльной оценки прогнозирования функции ПТ, в соответствии с которой определяют значения показателей $CD19^+IgD^+CD27^-$ (IgD^+ наивные В-лимфоциты) и $CD3^+CD8^+CD69^+$ активированные Т-лимфоциты.

При значении $CD19^+IgD^+CD27^-$ не более 72,7% начисляют 1 балл, а при уровне более 72,7% начисляют 0 баллов. При значении $CD3^+CD8^+CD69^+$ более 9,7% начисляют 1 балл, а при уровне $CD3^+CD8^+CD69^+$ не более 9,7% – 0 баллов. Итоговый показатель (ИП) определяют суммированием балльных оценок.

ИП = Балл 1 + Балл 2.

При значении ИП, равном 0 прогнозируют ПФТ, а при ИП не более 1 прогнозируют ДФТ.

Нами произведена оценка предикативных характеристик системы балльной оценки с применением процедуры ROC-анализа. Так, чувствительность данной системы равнялась 91,9%, специфичность составила 100%, точность – 94,9%, PPV – 1, а NPV – 0,877 (рис. 2).

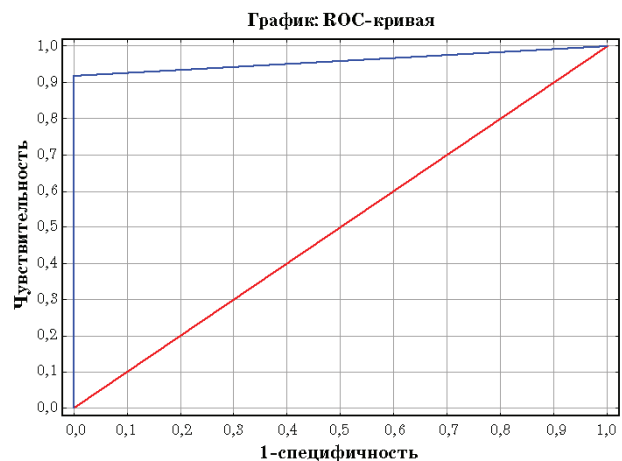


Рис. 2. Диагностические характеристики системы балльной оценки при прогнозировании дисфункции почечного аллотрансплантата
Fig. 2. Diagnostic characteristics of the scoring system in predicting a renal graft dysfunction

Полученные результаты имели подтверждение в ранее проведенных исследованиях: так, при изучении механизмов толерантности при почечной трансплантации было выявлено,

Выводы

что у пациентов с более высоким толерогенным потенциалом среди субпопуляций В-лимфоцитов было выявлено увеличение в крови количества переходных и наивных В-лимфоцитов при снижении содержания в ней В-лимфоцитов памяти [10–12]. В свою очередь было показано, что уровень CD8⁺ лимфоцитов, экспрессирующих рецептор CD69, коррелировал с развитием остро-го отторжения ПТ [13].

Таким образом вышеизложенные результаты могут служить научным обоснованием целесообразности предложенного способа для прогнозирования ДФТ. В клинической практике он может быть использован для своевременной профилактики дисфункции донорского органа.

1. Для прогнозирования дисфункции почечного трансплантата могут быть использованы иммунологические маркеры CD19⁺IgD⁺CD27⁻ и CD3⁺CD8⁺CD69⁺.

2. Предлагаемый способ позволяет с чувствительностью 91,9%, специфичностью 100% и точностью 94,9% при значениях на 3-и послеоперационные сутки CD19⁺IgD⁺CD27⁻ не более 72,7% и CD3⁺CD8⁺CD69⁺ более 9,7% осуществлять прогноз дисфункции почечного аллотрансплантата.

Литература/References

1. Калачик О.В. Донорзависимые факторы риска развития ранней дисфункции аллогraftа при трупной трансплантации почки. *Медицинские новости*. 2018;(4):37–41. Kalachik OV. Donor related early allograft dysfunction risk factors in cadaveric kidney transplantation. *Meditsinskie novosti*. 2018;(4):37–41. (In Russ.).
2. Redfield RR, Scalea JR, Zens TJ, Muth B, Kaufman DB, Djamali A, et al. Predictors and outcomes of delayed graft function after living-donor kidney transplantation. *Transpl Int*. 2016;29(1):81–87. PMID: 26432507 <https://doi.org/10.1111/tri.12696>
3. Nashan B, Abbud-Filho M, Citterio F. Prediction, prevention, and management of delayed graft function: where are we now? *Clin Transplant*. 2016;30(10):1198–1208. PMID: 27543840 <https://doi.org/10.1111/ctr.12832>
4. Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant*. 2011;11(11):2279–2296. PMID: 21929642 <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03754.x>
5. Jeldres C, Cardinal H, Duclos A, Shariat SF, Suardi N, Capitanio U, et al. Prediction of delayed graft function after renal transplantation. *Can Urol Assoc J*. 2009;3(5):377–382. PMID: 19829730 <https://doi.org/10.5489/cuaj.1147>
6. Irish WD, Ilsley JN, Schnitzler MA, Feng S, Brennan DC. A risk prediction model for delayed graft function in the current era of deceased donor renal transplantation. *Am J Transplant*. 2010;10(10):2279–2286. PMID: 20883559 <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2010.03179.x>
7. Bae S, Garonzik Wang JM, Masie AB, Jackson KR, McAdams-DeMarco MA, Brennan DC, et al. Early steroid withdrawal in deceased-donor kidney transplant recipients with delayed graft function. *J Am Soc Nephrol*. 2020;31(1):175–185. PMID: 31852720 <https://doi.org/10.1681/ASN.2019040416>
8. Dias AC Filho, Alves JR, da Cruz PRC, Santana VBBM, Riccetto CLZ. Predicting urine output after kidney transplantation: development and internal validation of a nomogram for clinical use. *Int Braz J Urol*. 2019;45(3):588–604. PMID: 30912888 <https://doi.org/10.1590/S1677-5538.IBJU.2018.0701>
9. Cantaluppi V, Dellepiane S, Tamagnone M, Medica D, Figliolini F, Messina M, et al. Neutrophil gelatinase associated lipocalin is an early and accurate biomarker of graft function and tissue regeneration in kidney transplantation from extended criteria donors. *PLoS One*. 2015;10(6):e0129279. PMID: 26125566 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129279>
10. Peng B, Ming Y, Yang C. Regulatory B cells: the cutting edge of immune tolerance in kidney transplantation. *Cell Death Dis*. 2018;9(2):109. PMID: 29371592 <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0152-y>
11. Newell KA, Asare A, Kirk AD, Gisler TD, Bourcier K, Suthanthiran M, et al. Identification of a B cell signature associated with renal transplant tolerance in humans. *J Clin Invest*. 2010;120(6):1836–1847. PMID: 20501946 <https://doi.org/10.1172/JCI39933>
12. Sagoo P, Perucha E, Sawitzki B, Tomiuk S, Stephens DA, Miqueu P, et al. Development of a cross-platform biomarker signature to detect renal transplant tolerance in humans. *J Clin Invest*. 2010;120(6):1848–1861. PMID: 20501943 <https://doi.org/10.1172/JCI39922>
13. Posselt AM, Vincenti F, Bedolli M, Lantz M, Roberts JP, Hirose R. CD69 expression on peripheral CD8 T cells correlates with acute rejection in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2003;76(1):190–195. PMID: 12865808 <https://doi.org/10.1097/01.TP.0000073614.29680.A8>

Информация об авторах

**Светлана Валерьевна
Зыблева**

канд. мед. наук, врач-иммунолог, ученый секретарь ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», <https://orcid.org/0000-0003-3061-5324>
50% – разработка концепции и дизайна исследования, сбор материала, статистическая обработка данных, анализ полученных данных, подготовка текста, редактирование

**Сергей Леонидович
Зыблев**

канд. мед. наук, доцент, врач-хирург хирургического отделения (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», <https://orcid.org/0000-0002-0968-6630>
35% – сбор материала, анализ полученных данных, подготовка текста, редактирование

**Виктор Николаевич
Мартинков**

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», <https://orcid.org/0000-0001-7029-5500>
15% – статистическая обработка данных, подготовка текста

Information about authors

Svetlana V. Zybleva

Cand. Med. Sci., Immunologist, Academic Secretary, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, <https://orcid.org/0000-0003-3061-5324>
50% – the development of the study concept and design, collecting material, statistical data processing, analysis of the data obtained, text preparation, editing

Sergey L. Zyblev

Cand. Med. Sci., Associate Professor, Surgeon of Transplantation, Endocrine and Reconstructive Surgery Department, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, <https://orcid.org/0000-0002-0968-6630>
35% – collecting material, analyzing the data obtained, text preparation, editing

Viktor N. Martinkov

Cand. Biol. Sci., Associate Professor, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, <https://orcid.org/0000-0001-7029-5500>
15% – statistical data processing, preparing the text of the manuscript

Статья поступила: 21.04.2020

Статья принята в печать: 15.05.2020

Received: April 21, 2020

Accepted for publication: May 15, 2020