УДК 617.713-009.843:616-089.193.4-097-092.18

Фактор транскрипции NF-kB в прогнозе результата рекератопластики

Ю. А. Комах ¹, канд. мед. наук; **С. А. Борзенок** ¹, д-р мед. наук; **Т. В. Радыгина** ², канд. мед. наук; **Д. Г. Купцова** ², м.н.с.; **С. В. Петричук** ², д-р мед. наук

- ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава РФ;
 Москва (Российская Федерация)
- ² ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава РФ; Москва (Российская Федерация)

E-mail: komakh@yandex.ru

Введение. Одной из актуальных проблем современной офтальмотрансплантологии является приживление трансплантата после повторных кератопластик. При проведении повторных трансплантаций роговицы частота возникновения отторжения трансплантата значительно возрастает. Активация ядерного транскрипционного фактора NF-kB играет ключевую роль в патогенезе развития отторжения трансплантата различных органов и тканей, за счет, в первую очередь, выработки провоспалительных цитокинов (TNF, IL-1 и др.).

Цель. Оценить роль фактора транскрипции NF-kB в популяциях лимфоцитов в прогнозе результата рекератопластики.

Материал и методы. В исследование были включены 46 пациентов после рекератопластики, из которых помутнение трансплантата роговицы наблюдалось у 30 пациентов (группа 1), а у 16 пациентов (группа 2) было прозрачное приживление. Возраст пациентов варьировал от 32 до 88 лет. Анализ уровня транслокации NF-kB (% клеток) в лимфоцитах выполняли методом проточной цитометрии с визуализацией (ImageStream Mark II – AMNIS) с использованием наборов «Amnis NF-kB Translocation Kit». Статистическая обработка была выполнена с помощью пакета Statistica 13.0. (критерий Манна-Уитни).

Результаты. У пациентов группы 1 выявлено увеличение уровня трансло-кации NF-kB по сравнению с группой 2: в Т-хелперах (26,5[17;29] против 12,2[11;21]; p=0,003), в цитотоксических Т-лимфоцитах (24,0[17;28] против 11,5[7;15]; p=0,006), в NK-клетках (45,0[34;53] против 18,2[16;39]; p=0,014), в Th17 лимфоцитах (23,9[18;31] против 14,3[12;21]; p=0,002), в регуляторных Т-клетках (30,4[21;34] против 17,4[16;22]; p=0,001) и в активированных Т-хелперах (21,918;28] против 11,4[11;17]; p=0,002).

Заключение. При помутнении трансплантата роговицы выявляется достоверное увеличение количества активированных клеток в популяциях лимфоцитов, наиболее выраженное в NK-клетках. Метод оценки уровня транслокации NF-kB в популяциях информативен в прогнозе отторжения трансплантата роговицы после рекератопластики.

Ключевые слова:

кератопластика, помутнение трансплантата, иммунофенотипирование, фактор транскрипции NF-kB

Введение. Трансплантация роговицы по количеству выполняемых операций в год занимает первое место среди всех трансплантаций органов и тканей. У реципиентов группы высокого риска отторжения трансплантата процент успеха через 10 лет составляет всего 35% [11]. Возникает проблема проведения повторных трансплантаций роговицы, при которых частота возникновения отторжения трансплантата значительно возрастает [3, 8].

Активация ядерного транскрипционного фактора NF-kB играет ключевую роль в патогенезе развития отторжения трансплантата различных органов и тканей, за счет, в первую очередь, выработки провоспалительных цитокинов (TNF, IL-1 и др.) [2].

Центральную роль в оксидативном повреждении трансплантата при отторжении играет регулятор генной экспрессии – ядерный фактор транскрипции кап-

па Б (NF-кВ). NF-кВ – наиболее быстро реагирующий универсальный фактор транскрипции, который участвует в регуляции ответа клеток на неблагоприятные внешние воздействия, повреждение, процессы воспаления и иммунных реакций. NF-кВ находится в цитоплазме каждой клетки и при поступлении стимула отсоединяется ингибирующая киназа (IkВ), а сам фактор транслоцируется в ядро, и там вызывает экспрессию около 400 генов, кодирующих иммунный ответ, апоптоз и клеточный цикл. Поэтому прямо или косвенно NF-кВ контролирует биологически важные функции клетки, в том числе процессы врожденного и адаптивного иммунитета при различных заболеваниях [9, 14, 16].

Комах Ю. А., Борзенок С.А., Радыгина Т.В., Купцова Д.Г., Петричук С.В., 2021

Ингибирование NF-кВ может иметь потенциальное клиническое значение при лечении воспалительных и аутоиммунных заболеваний, а также при отторжении пересаженных органов и тканей [9, 10].

Активация ядерного фактора играет ключевую роль в патогенезе развития отторжения трансплантата. К активации NF-кВ приводят такие стимулы, как ишемическое повреждение трансплантата, наличие антигенов пересаженных органов или тканей, а также влияние цитокинов, например TNF- α и IL-1 [15; 12].

В конечном итоге активация NF-кВ запускает следующие патологические процессы, приводящие к отторжению пересаженного органа или ткани: активацию эндотелиальных клеток; активацию Т-лимфоцитов реципиента; созревание дендритных клеток (антигенпредставляющих иммунных клеток).

Цель. Оценить роль фактора транскрипции NF-kB в популяциях лимфоцитов в прогнозе результата рекератопластики.

Материал и методы

В исследование были включены 46 пациентов после рекератопластики, из которых помутнение трансплантата роговицы наблюдалось у 30 пациентов (группа 1), а у 16 пациентов (группа 2) было прозрачное приживление. Возраст пациентов варьировал от 32 до 88 лет. Всем пациентам до операции проводилось стандартное офтальмологическое обследование. Группу сравнения составили 20 соматически здоровых добровольцев сопоставимого возраста.

Анализ уровня транслокации NF-kB в лимфоцитах проводили методом проточной цитометрии с визуализацией (ImageStream Mark II - AMNIS) с использованием наборов «Amnis NF-kB Translocation Kit». Уровень транслокации NF-kB исследовали в следующих популяциях: CD3+ (Т-лимфоциты); CD3+CD4+ (Т-хелперы); CD3+CD8+ (цитотоксические Т-лимфоциты); CD3-CD19+ (В-лимфоциты); CD3- CD16+/CD56+ (NKклетки); CD4+CD25+CD127high (активированные Т-хелперы – Tact); CD4+CD25+CD127low (регуляторные Т-лимфоциты – Treg); CD4+CD161+CD3+ (Th17лимфоциты – Th17). Интенсивность энергетического обмена в популяциях лимфоцитов определяли по активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ)-митохондриального фермента, отражающего активность цикла Кребса и II этапа окислительного фосфорилирования - иммуноцитохимическим методом с использованием проточной цитометрии [5].

Согласно набору «Amnis NF-kB Translocation Kit» для детекции NF-kB применяли Anti-Hu NFкB (p50) Alexa Fluor 488, для окраски ядра — флюоресцентный краситель 7-AAD. Для выделения клеточной популяции использовали моноклональные антитела производства Вескта Coulter: CD19-PE, CD4-PE, CD8-PE, CD (16/56)-PE, CD127-PE, CD161-PE, CD3- ECD, CD4-PB, CD25 PE-Cy7. Запись изображения клеток выполняли с 40-кратным увеличением при низкой скорости потока с использованием программного обеспечения INSPIRE®.

Для анализа полученных изображений и статистического анализа данных применяли программное обеспечение IDEAS®. Степень транслокации NF-кВ из цитоплазмы в ядро определяли с помощью коэффициента Similarity (Подобие), который подсчитывается в программе IDEAS® для каждой клетки и отражает степень колокализации NF-kВ и 7-AAD.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью пакета Statistica 13.0. (критерий Манна-Уитни). Данные представлены в виде медианы, нижней и верхней квартилей процента активированных клеток с транслокацией NF-kB. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты

Анализ относительного количества клеток с транслокацией NF-kB в разных популяциях лимфоцитов показал, что наибольшие значения данного показателя выявлены в В-лимфоцитах как в группе реципиентов, так и в группе сравнения (рис.1). Процент клеток с транслокацией NF-kB в В-лимфоцитах достоверно превышает уровень этого показателя в NK-клетках, в Т-хелперах и в цитотоксических Т-лимфоцитах (рис.1). Кроме того, активность NF-kB в NK-клетках превышает активность в Т-лимфоцитах, а активность Т-хелперов превышает активность цитотоксических Т-лимфоцитов (рис. 1).

Анализ относительного содержания клеток с транслокацией NF-kB в популяциях лимфоцитов у пациентов после рекератопластики и в группе сравнения выявил достоверное увеличение данного показателя во всех изученных популяциях, за исключением В-лимфоцитов (табл. 1).

Что касается популяций Т-хелперов, то в группереципиентов активность NF-kB в Th17 лимфоцитах не отличается от активности в общей популяции Т-хелперов, а активность NF-kB повышена в регуляторных Т-лимфоцитах и снижена в активированных Т-хелперах (рис. 2).

Несколько иная картина наблюдается в группе сравнения: активность NF-kB в Th17 лимфоцитах достоверно превышает активность в общей популяции Т-хелперов и в популяции активированных Т-хелперов, но не отличается от активности в регуляторных Т-лимфоцитах (рис. 2).

Сравнение уровня транслокации NF-kB у пациентов после рекератопластики с помутнением трансплантата роговицы (группа 1) и с прозрачным приживлением трансплантата роговицы (группа 2) показало, что у пациентов группы 1 выявлено увеличение уровня транслокации NF-kB в 1,7-2,47 раза в зависимости от популяции лимфоцитов по сравнению с группой 2, наибольшее увеличение уровня транслокации NF-kB выявлено в популяции NK-клеток (рис. 3).

На рис. 4 представлены гистограммы распределения лимфоцитов по коэффициенту similarity для основных популяций лимфоцитов у реципиента Д. с прозрачным приживлением трансплантата и у реципи-

Рис. 1. Относительное содержание клеток с транслокацией NF-kB (%) в основных популяциях лимфоцитов у реципиентов и в группе сравнения. Уровень достоверности различий между популяциями лимфоцитов.

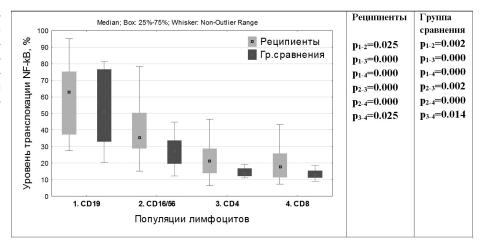
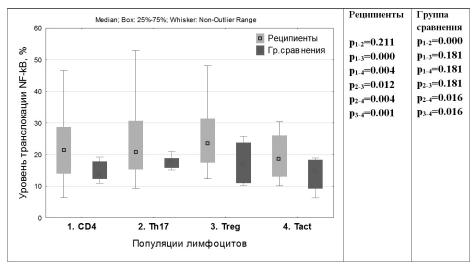


Таблица 1. Процент клеток с транслокацией NF-kB в популяциях лимфоцитов у реципиентов и в группе сравнения

Процент клеток с транслокацией NF-kB (%)	Группа реципиентов	Группа сравнения	Уровень достоверности (р)
В-лимфоциты (CD19)	62,0 [39;75]	51,5 [33;77]	0,8361
Т-лимфоциты (CD3)	22,6 [13;30]	15,3 [13;17]	0,0067
Т-хелперы (CD4)	22,6 [15; 29]	13,6 [12; 18]	0,0020
Т-цитотоксические (CD8)	19,2 [12;28]	12,9 [11;18]	0,0218
NK-клетки (CD16/56)	38,3 [30;55]	27,9 [20;34]	0,0265
Активированные Т-хелперы (CD4+CD25+CD127high)	20,7 [13;28]	14,7 [9;18]	0,0045
Регуляторные Т-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ^{low})	25,8 [18;41]	17,0 [11;24]	0,0023
Th17- лимфоциты (CD4⁺CD3⁺CD161⁺)	22,2 [16; 31]	17,5 [16; 19]	0,0133

Рис. 2. Относительное содержание клеток с транслокацией NF-kB (%) в популяциях Т-хелперов в группе реципиентов и в группе сравнения. Уровень достоверности (р) различий между популяциями Т-хелперов.

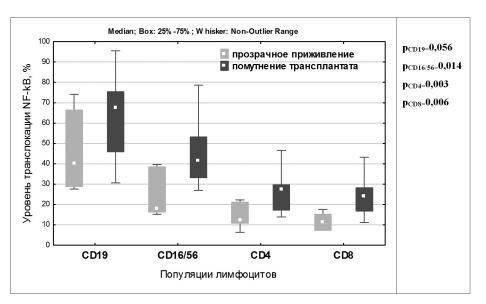


ента Г. с помутнением трансплантата через год после проведения повторной трансплантации роговицы (рис. 4). У реципиента Г. наблюдается существенное повышение уровня транслокации NF-kB в Т-лимфоцитах, в В-лимфоцитах и в NK-клетках при помутнении трансплантата.

Анализ малых популяций показал, что у реципиентов с помутнением трансплантата относительное содержание клеток с транслокацией NF-kB в 1,7 раза выше для популяции Th17-лимфоцитов, в 1,8 раза выше для регуляторных T-клеток и в 1,9 раза выше для активированных T-хелперов по сравнению с группой пациентов с прозрачным приживлением трансплантата (рис. 5).

Анализ взаимосвязи между уровнем транслокации NF-kB в популяциях лимфоцитов с относительным и абсолютным содержанием клеток и активностью СДГ в них показал, что процент клеток с транслокацией

Рис. 3. Относительное содержание клеток с транслокацией NF-kB (%) в основных популяциях лимфоцитов у пациентов с помутнением трансплантата роговицы и у пациентов с прозрачным приживлением трансплантата роговицы. Уровень достоверности (р) различий между группами для популяций.



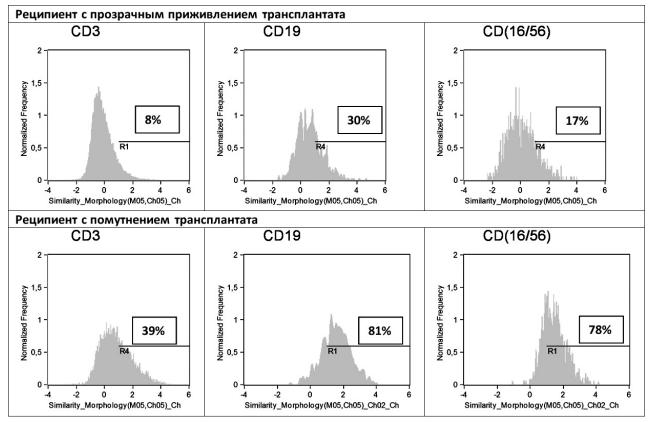


Рис. 4. Процент клеток с транслокацией NF-kB в популяциях T-, В-лимфоцитов и в NK-клетках у реципиентов с прозрачным приживлением и с помутнением трансплантата.

NF-kB в популяции не связан с количеством клеток в ней, за исключением В-лимфоцитов. Для этой популяции выявлено, что чем меньше относительное содержание клеток, тем выше процент активированных клеток (коэффициент корреляции r=-0,31).

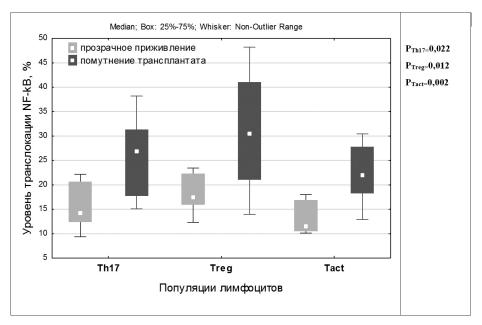
Для общей популяции Т-лимфоцитов и Т-хелперов выявлено, что увеличение количества активированных клеток соотносится со снижением активности СДГ в популяциях (коэффициенты корреляции r=-0,31 и r=-

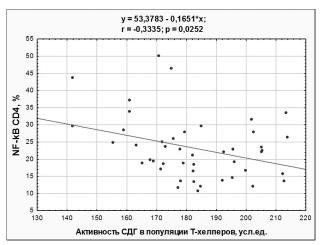
0,33 соответственно, рис.6). Аналогичная зависимость получена для NK-клеток: при снижении активности СДГ наблюдается повышение клеток с транслокацией NF-kB (коэффициент корреляции r=-0,45, рис. 6).

Обсуждение

Реакция отторжения трансплантата роговицы, особенно при повторных пересадках роговицы, является сложным патофизиологическим процессом, не-

Рис. 5. Относительное содержание клеток с транслокацией NF-kB (%) в популяциях лимфоцитов у пациентов с помутнением трансплантата роговицы и у пациентов с прозрачным приживлением трансплантата роговицы. Уровень достоверности (р) различий между группами для популяций.





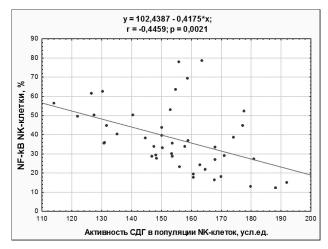


Рис. 6. Зависимость количества клеток с транслокацией NF-kB в популяции (%) от активности СДГ (усл.ед.) для популяции Т-хелперов и NK-клеток.

изученным полностью. Развитие экспериментальной иммунологии в последние годы привело к новому осмыслению реакции тканевой несовместимости при первичной и повторной кератопластиках.

Известно, что прозрачное приживление роговичного трансплантата, при условии отсутствия факторов риска, обусловлено иммунной привилегией глаза (в частности, особым функционально-структурным взаимодействием роговицы и передней камеры глаза), реализуемой посредством локальных и системных механизмов [3].

Нарушение иммунной привилегии роговицы создает условия для включения механизмов трансплантационного иммунитета и является главным фактором риска развития реакции тканевой несовместимости. Взаимодействие между клетками реципиента, донора и иммунной системой запускает каскад реакций и механизмов, которые приводят к помутнению трансплантата роговицы. В связи с этим, возрастает значе-

ние до- и послеоперационного мониторинга иммунной системы реципиента и выявление наиболее информативных иммунологических показателей для раннего выявления признаков возможного развития реакции отторжения трансплантата.

Фактор транскрипции NF-kB регулирует врожденные и адаптивные иммунные реакции и служит основным медиатором воспалительных реакций [9; 14]. NF-kB индуцирует экспрессию различных провоспалительных генов, включая гены, кодирующие цитокины и хемокины. Нерегулируемая активация NF-kB способствует патогенным процессам различных воспалительных заболеваний и играет ключевую роль в патогенезе развития отторжения трансплантата различных органов и тканей [2]. Внедрение в последние годы методов проточной цитометрии с визуализацией позволило количественно оценить степень активации NF-kB в клеточных популяциях при трансплантации, при этом показано, что уровень транслокации NF-кВ

в Т-лимфоцитах может быть использован для мониторинга терапевтической иммуносупрессии после трансплантации [13].

В нашем исследовании выявлено, что наибольшие значения уровня транслокации NF-kB наблюдаются в В-лимфоцитах и в NK-клетках как у реципиентов, так и в группе сравнения. У пациентов после рекератопластики выявлено существенное повышение уровня транслокации NF-kB в основных (Т-лимфоциты, NK-клетки) и в малых (Th17, Treg, Tact) популяциях относительно группы сравнения.

У пациентов при помутнении трансплантата роговицы по сравнению с пациентами с прозрачным приживлением выявляется достоверное увеличение количества клеток с транслокацией NF-kB во всех популяциях лимфоцитов, за исключением В-лимфоцитов, наиболее выраженное в NK-клетках. В связи с тем, что увеличение активности NF-kB предшествует отторжению трансплантата [15], можно полагать, что уровень транслокации NF-kB в NK-клетках можно использовать для мониторинга состояния пациентов после рекератопластики.

В диагностике и прогнозировании реакции организма на трансплантат отмечалась важность мониторинга содержания популяций Т-хелперов, таких как Th1, Th17-лимфоциты, регуляторные Т-лимфоциты [4]. Ранее нами было показано, что в группе реципиентов с отторжением трансплантата содержание Th17лимфоцитов было повышенным на момент трансплантации роговицы и оставалось повышенным в течение всего срока наблюдения до отторжения трансплантата по сравнению с группой пациентов с прозрачным приживлением трансплантата [1], при этом содержание регуляторных Т-клеток было одинаково в обеих группах. Но, кроме оценки количественного содержания популяций лимфоцитов, хотелось бы иметь критерии оценки их функциональной активности. Одним из таких критериев может быть оценка активации транскрипционного фактора NF-kB в популяциях клеток. Анализ показал, что у реципиентов с помутнением трансплантата в Th17-лимфоцитах, в регуляторных Т-клетках и в активированных Т-хелперах происходит существенное увеличение клеток с транслокацией NFkВ по сравнению с группой пациентов с прозрачным приживлением трансплантата. Таким образом, помутнение трансплантата наблюдается при повышенном содержании Th17-лимфоцитов и их активации, а также при активации регуляторных Т-клеток.

Интересно отметить, что активность NF-kB не коррелирует с содержанием клеток для популяций Т-лимфоцитов и NK-клеток и обратно зависит от количества В-лимфоцитов. Вероятно, это связано с тем, что активность NF-kB более быстро меняющаяся характеристика клеток, чем их количественное содержание.

Работы последних лет оценивают связь уровня транслокации NF-kB с функциональной активностью митохондрий и интенсивностью метаболических реак-

ций [6; 7]. Описано, что транскрипционные факторы NF-kB регулируют метаболизм митохондрий посредством канонического пути активации транскрипции, при этом член семейства NF-kB RelA (р65) способен проникать в митохондрии, связываться с митохондриальной ДНК и ингибировать экспрессию цитохромоксидазы - III комплекса окислительного фосфорилирования, стимулируя, тем самым, переход от окислительного фосфорилирования к гликолизу. Мы выявили, что уровень транслокации NF-kB коррелирует с интенсивностью метаболизма по активности сукцинатдегидрогеназы в Т-лимфоцитах и в NK-клетках: чем выше уровень транскрипции, тем ниже активность сукцинатдегидрогеназы.

Таким образом, повышение уровня транслокации NF-кВ в популяциях Т-лимфоцитов, в NK-клетках, а также в Th17 лимфоцитах и в регуляторных Т-клетках является ранним фактором риска отторжения трансплантата роговицы.

Литература

- Комах Ю.А., Борзенок С.А., Петричук С.В., Самохина И.В. Реакция отторжения трансплантата роговицы: клинико-анамнестические и иммунологические критерии диагностики // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20). №4. С.714-716.
- Кунцевич Н.В. Роль нуклеарного фактора транскрипции NF-kB в развитии отторжения трансплантата // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII. – №1. – С. 72-77.
- 3. **Нероев В.В., Балацкая Н.В., Ченцова Е.В., Шамхалова Х.М.** Механизмы иммунорегуляции и трансплантационный иммунитет при пересадках роговицы // Медицинская иммунология. 2020. Т.22. №1. С. 61-76.
- Онищенко Н.А., Башкина Л.В., Никольская А.О., Артамонов С.Д. Информационная значимость мониторинга популяций CD4+ Т-лимфоцитов в диагностике и прогнозировании реакции организма на трансплантат // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – Т. XV. – №4. – С.112-125
- Патент 2302635 РФ, МПК G01 № 33/53, G01 № 33/50 Способ измерения митохондриальной активности лимфоцитов / С.В. Петричук, Т.Д.Измайлова, Т.В. Радыгина; заявитель и патентообладатель Государственное учреждение Научный центр здоровья детей РАМН. - № 2005141145/15; заявл. 28.12.2005; опубл. 10.07.2007.
- Albensi B.C. What Is Nuclear Factor Kappa B (NF-κB) Doing in and to the Mitochondrion? // Front Cell Dev Biol. 2019. Aug 7; (7). P.154.
- Angajala A., Lim S., Phillips J.B., Kim J.-H., Yates C., You Z., Tan M. Diverse roles of mitochondria in immune responses: novel insights into immune-metabolism // Frontiers in immunology. – 2018. – Vol. 9. – P.1605.
- Kitazava K., Wakimasu K., Kayukawa K., Yokota I., Inatomi T., Hieda O., Sotozono C., Kinoshita S. Moderately long-term safety and efficacy of repeat penetrating keratoplasty // Cornea. 2018. Vol. 37. №10. P. 1255-1259.
- Liu T., Zhang L., Joo D., Sun S.C. NF-kB signaling in inflammation // Signal Transduct. Target Ther. – 2017. – Vol.2. – pii 17023.

- Park M.H., Hong J.T. Roles of NF-κB in Cancer and Inflammatory Diseases and Their Therapeutic Approaches // Cells. 2016. Mar 29; 5(2). P.15.
- 11. **Perez V.L.** Visualization of immune responses in the cornea // Cornea. 2017. Suppl. To Vol. 36. №11. –– P. S5-S8.
- Serasanambati M., Chilakapati S.R. Function of Nuclear Factor Kappa B (NF-kB) in Human Diseases. A Review // South Indian Journal of Biological Sciences. – 2016. Vol. 2. – P. 368-387.
- Sommerwerck U., Lindemann M., Kleibrink B.E. Rabis T., Weinreich G., Kamler M., Teshler H., Horn P.A., Rebmann V. NFkB location in T-cells is promising to monitor immunosuppression after lung transplantation // European Respiratory Journal. – 2014. – Vol. 44 (Suppl 58). – P.3309.
- 14. Sun, S. C., Chang, J. H., Jin, J. Regulation of nuclear factor-κB in autoimmunity // Trends in immunology. 2013. Vol. 34(6). P. 282–289.

- 15. **Troulfas G., Geller D.A.** NF κB in transplantation: friend or foe? //Transplant Infection disease. -2001.-Vol.~3, issue 4.-P.~212-219.
- 16. **Yue Y., Stone S., Lin W.** Role of nuclear factor κB in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis // Neural Regen Res. 2018. Vol. 13(9). P. 1507-1515.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, которые могли бы повлиять на их мнение относительно предмета или материалов, описанных и обсуждаемых в данной рукописи...

Поступила 16.12.2020

Фактор транскрипції NF-kB в прогнозі результату рекератопластики

Комах Ю. О., Борзенок С. А., Радигіна Т. В., Купцова Д. Г., Петричук С. В.

ФДАУ «НМДЦ «МНТК «Мікрохірургія ока» ім. акад. С. Н. Федорова» МОЗ РФ, Москва (Російська Федерація) ФДАУ «НМДЦ здоров'я дітей» МОЗ РФ, Москва (Російська Федерація)

Актуальність. Однією з актуальних проблем сучасної офтальмотрансплантології є приживлення трансплантату після повторних кератопластик. При проведенні повторних трансплантацій рогівки частота виникнення відторгнення трансплантату значно зростає. Активація ядерного транскрипційного фактора NF-kB грає ключову роль в патогенезі розвитку відторгнення трансплантату різних органів і тканин за рахунок, в першу чергу, вироблення прозапальних цитокінів (TNF, IL-1 і ін.).

Мета. Оцінити роль фактора транскрипції NF-kB в популяціях лімфоцитів в прогнозі результату рекератопластики.

Матеріал і методи. У дослідження були включені 46 пацієнтів після рекератопластики, з яких помутніння трансплантату рогівки спостерігалося у 30 пацієнтів (група 1), а у 16 пацієнтів (група 2) було прозоре приживлення. Вік пацієнтів варіював від 32 до 88 років. Аналіз рівня транслокації NF-kB (% клітин) в лімфоцитах виконували методом проточної цитометрії з візуалізацією (ІтадеЅtream Mark II - AMNIS) з вико-

ристанням наборів «Amnis NF-kB Translocation Kit». Статистична обробка була виконана за допомогою пакета Statistica 13.0. (Критерій Манна-Уїтні).

Результами. У пацієнтів групи 1 виявлено збільшення рівня транслокації NF-kB в порівнянні з групою 2: в T-хелперах (26,5 [17; 29] проти 12,2 [11; 21]; p=0,003), в цитотоксичних T-лімфоцитах (24,0 [17; 28] проти 11,5 [7; 15]; p=0,006), в NK-клітинах (45,0 [34; 53] проти 18,2 [16,39]; p=0,014), в Th17 лімфоцитах (23,9 [18; 31] проти 14,3 [12; 21]; p=0,002), в регуляторних T-клітинах (30,4 [21; 34] проти 17,4 [16; 22]; p=0,001) і в активованих T-хелперах (21,918; 28] проти 11,4 [11; 17]; p=0,002).

Висновок. При помутнінні трансплантату рогівки виявляється достовірне збільшення кількості активованих клітин в популяціях лімфоцитів, найбільш виражене в NK-клітинах. Метод оцінки рівня транслокації NF-kB в популяціях інформативний в прогнозі відторгнення трансплантата рогівки після рекератопластики.

Ключові слова: кератопластика, помутніння трансплантата, імунофенотипірування, фактор транскрипції NF-kB