

© М.С.Храброва, В.А.Добронравов, А.В.Набоков, Х.-Й.Грене, М.Халленслебен, А.В.Смирнов, Ф.Клим, 2015  
УДК [616.61-089.843]-036.8

*М.С. Храброва<sup>1</sup>, В.А. Добронравов<sup>1</sup>, А.В. Набоков<sup>2</sup>, Х.-Й. Грене<sup>3</sup>,  
М. Халленслебен<sup>4</sup>, А.В. Смирнов<sup>1</sup>, Ф. Клим<sup>2</sup>*

## ПРОГНОЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА: ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ РИСК И ТИП ОТТОРЖЕНИЯ

<sup>1</sup>Кафедра пропедевтики внутренних болезней, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Россия, <sup>2</sup>Нефрологический центр Нижней Саксонии, Ганн. Мюнден, Германия, <sup>3</sup>лаборатория клеточной и молекулярной патологии, Германский центр изучения рака, Гейдельберг, Германия, <sup>4</sup>Институт трансфузионной медицины, Медицинская школа Ганновера, Германия

*M. Khrabrova<sup>1</sup>, V.A. Dobronravov<sup>1</sup>, A. Nabokow<sup>2</sup>, H.-J. Gröne<sup>3</sup>,  
M. Hallensleben<sup>4</sup>, A.V. Smirnov<sup>1</sup>, V. Kliem<sup>2</sup>*

## PROGNOSIS OF KIDNEY ALLOGRAFT SURVIVAL: IMMUNOLOGICAL RISK AND REJECTION TYPE

<sup>1</sup> Department of propaedeutics of internal diseases Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Russia, <sup>2</sup> Nephrology center of Lower Saxony, Gann. Münden, Germany, <sup>3</sup> Laboratory of cellular and molecular pathology German center of cancer research, Heidelberg, Germany, <sup>4</sup> Institute of transfusion medicine Hannover Medical school, Germany

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** оценка связи факторов предтрансплантационного иммунологического риска (ИР) и типа отторжения с отдаленным прогнозом аллографта почки (АП). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ:** из пациентов, перенесших аллотрансплантацию почки (АТП) в двух трансплантационных центрах с 2000 по 2013 гг. методом «случай–контроль» в соотношении 1:2 с учетом возраста, пола, количества несовпадений по HLA (HLAMM) и года АТП, были отобраны 93 случая с положительными предсуществующими антителами (PRA) и 195 – с негативными. Оценивали также другие факторы ИР (число предшествующих АТП и HLAMM), клинические данные, развитие отторжений АП и исходы. Анализ выживаемости АП проводили методом Каплана–Мейера. Множественный регрессионный анализ Кокса был использован для оценки связи исследуемых показателей, включая ИР, с риском потери АП. **РЕЗУЛЬТАТЫ:** на основе связи изучаемых предтрансплантационных иммунологических факторов с выживаемостью АП при одновариантном анализе все пациенты были стратифицированы на две группы: с низким ИР (0–1 фактор риска) (НР; n=191) и повышенным ИР (2–3 фактора риска) (ПР; n=97). Выживаемость АП в группе ПР была существенно ниже, чем в группе НР ( $p \log\text{-rank} < 0,001$ ), а частота развития антительно-опосредованного отторжения (AMR) достоверно выше ( $p < 0,001$ ). В модели Кокса, скорректированной по другим потенциальным предикторам прогноза, относительный риск потери АП у больных с ПР увеличивался в 2 раза ( $p = 0,015$ ). При включении в модель типа отторжения оценка ИР теряла свое прогностическое значение, а независимыми предикторами выживаемости АП в этом случае были наличие AMR или Т-клеточного отторжения [ $\text{Exp}(B) = 10,72$ ;  $p < 0,001$  и  $\text{Exp}(B) = 4,29$ ;  $p = 0,003$  соответственно], а также возраст донора [ $\text{Exp}(B) = 1,03$ ;  $p = 0,002$ ]. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** в работе предложен простой подход к стратификации предтрансплантационного ИР и показана отчетливая связь повышенного ИР с выживаемостью АП. Установлено, что влияние ИР на посттрансплантационный прогноз не является независимым и опосредовано развитием AMR. В практическом плане полученные результаты указывают на необходимость оценки предтрансплантационных факторов риска, что, однако, не освобождает от контроля реальной иммунологической ситуации в посттрансплантационном периоде на основе мониторинга донор-специфических антител и выполнения своевременных морфологических исследований АП.

**Ключевые слова:** аллотрансплантация почки, иммунологический риск, гуморальное отторжение, донор-специфические антитела, выживаемость аллографта почки.

### ABSTRACT

**THE AIM:** to evaluate the association of pretransplant immunological risk (IR) factors and rejection type with the long-term prognosis of renal allografts (RA). **PATIENTS AND METHODS:** Among all patients being transplanted in two kidney transplant centers between 2000 and 2013, ninety-three renal allograft recipients with pretransplant panel-reactive antibody (PRA)  $> 0\%$  and 195 patients without PRA were enrolled into the case-control study in a ratio of 1:2 with matching for age, gender, HLA mismatch (HLAMM), and year of transplantation. In both groups, pretransplant IR factors (number of previous transplants and), clinical data, episodes of kidney allograft rejection, and outcomes were recorded. Kaplan–Meier method was used for kidney allograft survival analysis. Multivariate Cox regression analysis was used to estimate the relation of investigated parameters, including IR, to the risk of kidney allograft loss. **RESULTS:** According to the number of pretransplant immunological factors (previous kidney transplants, PRA level, HLAMM) and its relations to kidney allograft survival in univariate regression all patients were

divided into two groups: low IR (0-1 risk factor) (n=191) and high IR (2-3 risk factors) (n=97). Kidney allograft survival in high IR (HR) group was significantly worse than in low IR (LR) group ( $p \log\text{-rank} < 0,001$ ). Antibody-mediated rejection (AMR) occurred more frequently in HR group than in LR group ( $p < 0,001$ ). In the Cox regression model adjusted for other potential confounders the HR group was associated with twofold increase of relative risk of the allograft loss ( $p = 0,015$ ). AMR ( $\text{Exp}(B) = 10,72$  (95% CI 4,46-25,74;  $p < 0,001$ ), T-cell mediated rejection ( $\text{Exp}(B) = 4,29$  (95% CI 1,64-11,22;  $p = 0,003$ ), and donor age ( $\text{Exp}(B) = 1,03$  (95% CI 1,01-1,05;  $p = 0,002$ ) were independent predictors of allograft survival after adjustment the multivariate model for the rejection type while IR grouping lost its independent prognostic significance. **CONCLUSION:** Based on the analysis of allograft survival, a simplified approach to the stratification of pretransplant immunological risk is suggested. HR was associated with the allograft failure; however, it was not independently predictive of graft prognosis and seemed to be triggered by AMR occurrence. Therefore, the allograft prognosis assessment in clinical practice should consider pretransplant immunological risks, but high attention has to be paid to post-transplant morphological evaluation of the allograft and monitoring of donor-specific antibodies.

**Key words:** kidney transplantation, immunological risk, antibody-mediated rejection, donor specific antibody, kidney allograft survival.

## ВВЕДЕНИЕ

Выживаемость при аллотрансплантации почки (АТП) лучше, чем при других видах заместительной почечной терапии, однако, ограничена развитием отторжений аллографта почки (АП), что является одной из ведущих причин возврата на диализ [1–5] в посттрансплантационном периоде. Отторжение может возникать в разные сроки после трансплантации, иметь различную степень выраженности и различные иммунологические механизмы развития [6]. Известно, что наихудшее влияние на прогноз имеет антительно-опосредованное отторжение (AMR, antibody mediated rejection) [7], развитие которого обусловлено сенсibilизацией иммунной системы реципиента в результате экспозиции чужеродных антигенов и активацией В-клеточного иммунитета в пред- и посттрансплантационном периодах. Выраженность предтрансплантационной сенсibilизации отражает уровень предсуществующих антител (PRA, panel reactive antibodies). Последние могут быть донор-специфическими (DSA, donor-specific antibodies), обуславливающими развитие AMR в раннем посттрансплантационном периоде [8–10]. Образование DSA *de novo* после трансплантации может приводить к развитию отсроченного AMR [9].

Несмотря на то, что влияние отдельных иммунологических факторов на отдаленный прогноз достаточно изучено, до сих пор нет четких и общепринятых критериев, разграничивающих больных по различным группам иммунологического риска (ИР). С целью изучения влияния ИР на прогноз АТП и развитие отторжения многие авторы [11–14] предпринимали попытки предтрансплантационной стратификации ИР, для чего, как правило, использовали в качестве критериев различные комбинации факторов: число несовпадений по HLA (HLAMM, HLA mismatch), количество предшествующих АТП, а также уровень PRA. Подобный подход к оценке ИР был предложен High Risk Renal Transplant Consensus Group [15]. В других случаях исследова-

тели применяли собственные градации [9, 12–14]. Так, Т.В. Dunn и соавт. [9] разделили пациентов на четыре группы в зависимости от предшествующей сенсibilизации, уровня PRA, наличия DSA на момент АТП, при этом несовместимость по HLAMM учтена не была. Некоторые предлагают варианты градации риска по уровню PRA [12–14] или DSA [16, 17]. В рекомендациях KDIGO [18] определены следующие факторы риска развития отторжения: HLAMM, молодой возраст реципиента, пожилой возраст донора, PRA > 0%, наличие DSA, несовместимость группы крови, отсроченная функция АП и время холодовой ишемии > 24 ч. Авторы Национальных российских рекомендаций по трансплантации почки, опубликованных в 2013 году, в качестве факторов высокого ИР рекомендуют учитывать HLAMM только по HLA-DR, а уровень PRA > 20% [19]. Однако в этих рекомендациях иммунологический риск не стратифицирован в зависимости от количества и/или сочетания факторов, что затрудняет их применение в практике. Основной целью настоящего исследования была оценка связи факторов предтрансплантационного ИР и типа отторжения с отдаленными исходами АП на основе анализа выживаемости АП с учетом других потенциальных предикторов прогноза.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

*Пациенты, критерии включения, определение видов отторжения*

Среди пациентов, которым в период 2000–2013 гг. была выполнена АТП в Нефрологическом центре Нижней Саксонии (Германия) или НИИ нефрологии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, в ретроспективное обсервационное исследование методом «случай–контроль» в соотношении 1:2 с учетом возраста, пола, HLAMM, года АТП были отобраны 100 реципиентов с предтрансплантационным уровнем PRA > 0% и 200 реципиентов с PRA = 0%. Критериями включения были: со-

вместимость по группе крови, отрицательный цитотоксический кросс-матч тест, как минимум одна протокольная или по показаниям (индексная) биопсия АП в посттрансплантационном периоде. Протокольные биопсии выполняли в рамках программы рутинного мониторинга морфологических изменений АП, принятых в данных трансплантационных центрах. Критериями исключения были: морфологические признаки рецидива первичной почечной патологии в АП, подтвержденная иммуногистохимически полиома-вирусная инфекция, частые рецидивирующие симптоматические инфекции мочевыводящих путей после АТП. По этим критериям из групп PRA>0% и PRA=0% были исключены 7 и 5 больных соответственно. Анализируемые демографические, клинические и иммунологические показатели обследуемых групп приведены в табл. 1.

У всех пациентов, включенных в исследование, помимо уровня PRA, была произведена оценка ИР по двум дополнительным факторам предтрансплантационного риска: числу АТП и количеству HLA-DR в локусах A, B, DR.

#### Морфологический и иммуногистохимический анализ

При выполнении биопсии забор двух образцов ткани АП пункционной иглой 18G проводили под контролем сонографии (B-режим с цветовым картированием). Большая часть биопсий была сделана по показаниям (см. табл. 1). Основными показаниями к проведению морфологического исследования,

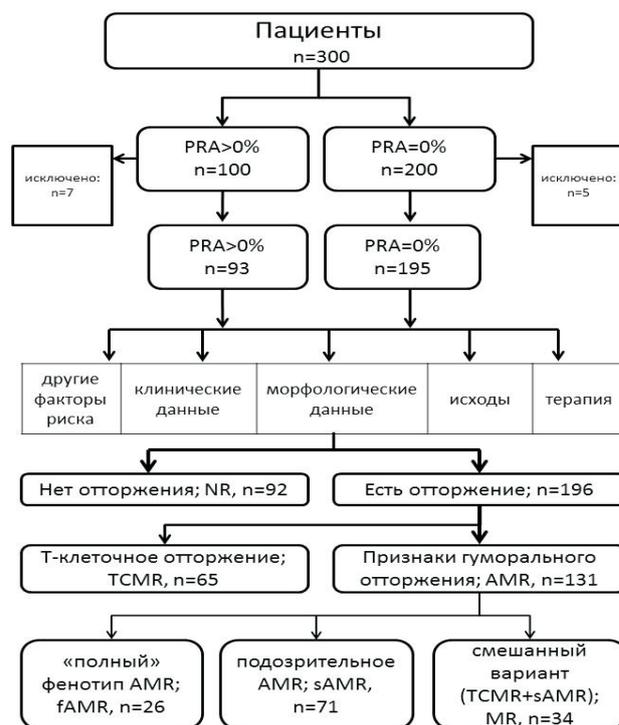


Рис. 1. AMR – гуморальное отторжение; fAMR – «полный» фенотип гуморального отторжения (DSA+); sAMR – случаи, подозрительные в отношении AMR; MR – смешанный вариант отторжения; NR – случаи без признаков отторжения; PRA – предсуществующие антитела; TCMR – Т-клеточное отторжение.

которое в большинстве случаев выполнено в раннем посттрансплантационном периоде, были первично нефункционирующий АП или отсроченная функция, повышение сывороточного креатинина, протеинурия.

Таблица 1

#### Демографические и клинические характеристики групп на момент АТП

Показатель	Все пациенты; n=288	PRA=0%; n=195	PRA>0%; n=93	p
Мужской пол, %	59	62,2	50	0,053
АП от живого донора, %	17	20,2	8,9	0,017
Возраст пациента, лет, M±SD	48±14	49±14	46±11	0,13
Продолжительность ЗПТ, месяцы, m (25–75%)	72 (33; 100)	60 (28; 85)	115 (71; 223)	<0,001
Время холодовой ишемии, мин, M±SD	708±364	663±372	839±328	<0,001
Время тепловой ишемии, мин, M±SD	40±16	40±17	37±11	0,34
Последний креатинин донора, ммоль/л, M±SD	0,09±0,05	0,09±0,06	0,08±0,04	0,42
Возраст донора, лет, M±SD	51±15	53±15	48±14	0,013
Отсроченная функция АП, %	53,8	48,9	63,3	0,024
Повторные АТП, %	19,4	6,9	47,8	<0,001
HLA-DR, m (25–75%)	3 (1; 3)	3 (1; 3)	3 (2; 3)	0,68
Сахарный диабет до трансплантации, %	11,8	12,8	7,8	0,22
Гепатит С до АТП, %	4,2	2,1	8,9	0,009
Протокольная биопсия/биопсия по показаниям, n/n	58/230	31/157	8/82	0,09
Креатинин на момент биопсии, ммоль/л, m (25–75%)	0,225 (0,145; 0,477)	0,212 (0,141; 0,362)	0,380 (0,177; 0,601)	0,004
Время от АТП до выполнения биопсии, дни, m (25–75%)	37 (13; 232)	55 (17; 318)	22 (9; 89)	0,001

АП – аллогraft почки; АТП – аллотрансплантация почки; ЗПТ – заместительная почечная терапия; HLA-DR – количество несоответствий по системе генов HLA; PRA – предсуществующие антитела; M±SD – среднее и стандартное отклонение; m (25–75%) – медиана и интерквартильный размах (25; 75 процентиля); M (95% CI) – среднее и доверительный интервал.

Для световой микроскопии 4 мкм серийных срезов биоптата применяли стандартную методику окрашивания: гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа, трихромальной окраской и серебрением по Джонсу. Наличие как минимум 7 клубочков считали достаточным для адекватного морфологического анализа [20]. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) выполняли на парафиновых срезах после депарафинизации и обезвоживания по стандартной методике. Рутинно выполняли ИГХ на C4d, а также IgA, IgG, IgM, C1q, C3, SV40 и фибриноген с целью исключения рецидива первичной гломерулярной патологии и полиома-вирусной инфекции АП.

Все изменения трансплантата, в том числе AMR и Т-клеточное отторжение (TCMR, T-cell mediated rejection) I A/B и II A/B типов, были оценены морфологом по классификации BANFF 1997–2013 [20, 21]. AMR подразделяли на следующие клинкоморфологические варианты: а) с «полным» фенотипом по классификации BANFF 2013 г. [21] (fAMR, full AMR); б) с «неполным» фенотипом, обозначенное как подозрительное AMR (sAMR, suspicious AMR). В первую группу вошли случаи сочетания типичных морфологических изменений AMR в виде микроциркуляторного воспаления (MBV), т.е. гломерулита и/или перитубулярного капиллярита, с доказанными DSA. В подгруппу sAMR вошли случаи с морфологией MBV и отрицательными DSA на момент биопсии или пациенты, у которых DSA на момент биопсии не были определены. Случаи, имевшие типичные признаки TCMR в сочетании с морфологическими критериями AMR и негативными результатами тестирования на DSA, составили группу смешанного отторжения (MR, mixed rejection).

Распределение пациентов, включенных в исследование, в том числе по типам отторжения АП, суммировано на рис. 1.

#### *Период наблюдения и исходы*

Медиана периода наблюдения от биопсии составила 39 (13; 77) мес. Регистрировали достижение комбинированной конечной точки, объединявшей два варианта исхода АТП: полную потерю АП с возвратом на диализ или показатель расчетной скорости клубочковой фильтрации по формуле MDRD [22]  $< 15$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Учитывали случаи и даты смерти больных с функционирующим АП.

#### *Иммуносупрессивная терапия*

У 30,2% реципиентов в качестве индукционной терапии был применен базиликсимаб, а у 13,2% – антитимоцитарный иммуноглобулин. В качестве профилактики антительно-опосредованного

отторжения 7,9% пациентам был выполнен плазмаобмен, а 5,2% – инфузии внутривенного иммуноглобулина. Для большинства пациентов базовая иммуносупрессия включала ингибиторы кальциневрина (циклоспорин или такролимус) и мофетила микофенолат (ММФ). В связи с наличием противопоказаний или непереносимости 2,4 % реципиентов не получали ингибиторы кальциневрина, а 4,5% – ММФ. Все пациенты получали глюкокортикостероиды в течение всего посттрансплантационного периода.

#### *HLA-типирование и определение антител*

Генотипирование образцов крови донора и реципиента по системе HLA, локусы A, B, DR, проводили методиками SSP (Sequence Specific Primers, Olerup SSP, Sweden) и SBT (Sequence-based Typing, Protrans, Germany). В случае необходимости выполняли дополнительное типирование по HLA-C- и HLA-DQ-антигенам для выявления соответствующих DSA. Для обнаружения DSA была использована сыворотка, взятая у пациента на момент биопсии. Наличие в сыворотке реципиента антител к HLA I/II классов (PRA и DSA) определяли, используя наборы LABScreen Mixed, согласно инструкции производителя («One Lambda», CA, USA) с помощью мультиплексного проточного анализатора («Luminex, Austin», TX, USA). Сыворотки, содержащие HLA-антитела I и II классов, далее были протестированы методом Single-antigen bead («Lifecodes LSA» Class I/ Class II, Immucor Transplant Diagnostics, CT, USA). Позитивными считались DSA при средней интенсивности флюоресценции (MFI)  $\geq 1000$ .

Уровни PRA определяли в ходе рутинного предтрансплантационного обследования. Учитывали максимальный уровень PRA, зафиксированный когда-либо до АТП.

#### *Статистический анализ*

Статистический анализ полученных данных был выполнен с использованием лицензионного статистического пакета прикладных статистических программ SPSS for Windows 14.0 (Chicago, IL, USA). Для сравнения групп в зависимости от типа переменной и характера распределения применяли следующие тесты: t-критерий Стьюдента для парных и непарных сравнений, тест Манна–Уитни, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), точный критерий Фишера, критерий  $\chi^2$ . Выживаемость АП оценивали с помощью метода Каплана–Мейера. При анализе выживаемости дату смертельного исхода, наступившего при наличии функционирующего АП, учитывали как конец наблюдения, а такой случай как цензурированный.

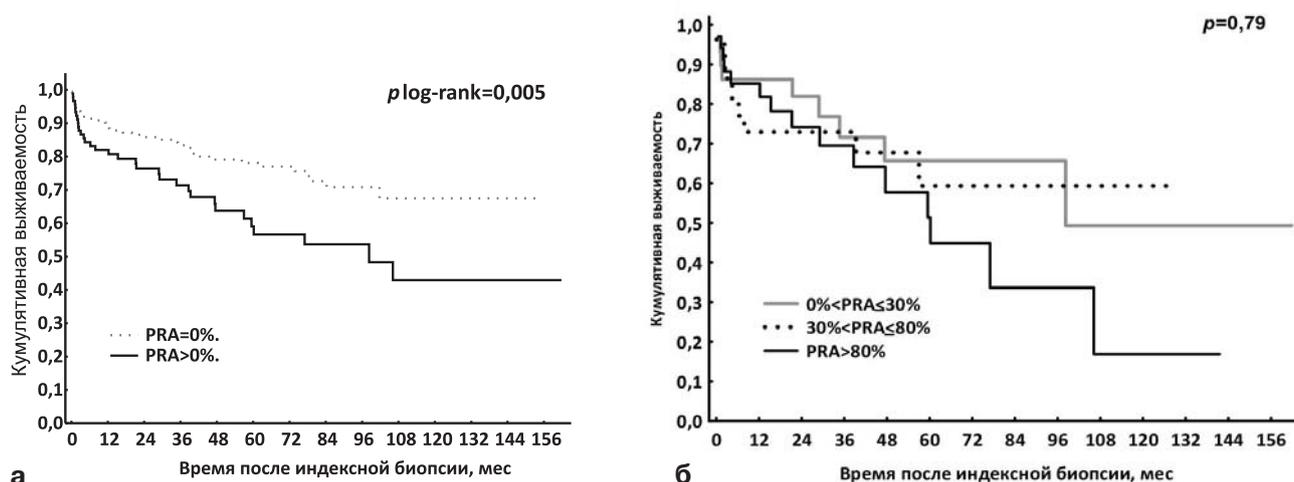


Рис. 2. Выживаемость трансплантата почки в зависимости от уровня PRA (а, б). PRA – предсуществующие антитела.

Мультивариантный регрессионный анализ Кокса применяли для оценки прогностической значимости изучаемых факторов, в котором они служили независимыми переменными. Регрессионные модели были скорректированы по другим потенциальным факторам риска потери АП путем их принудительного включения в анализ.

Данные представлены как среднее и стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ), медиана с интерквартильным размахом,  $m$  (25–75%), среднее и доверительный интервал для среднего  $M$  (95% CI). Межгрупповые различия или регрессионные коэффициенты считали статистически достоверными при значении  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Выживаемость АП в группе PRA>0% была достоверно хуже, чем в группе PRA=0% ( $p_{\log\text{-rank}} = 0,005$ ) (рис. 2, а). При попарном сравнении выживаемости подгрупп с уровнем PRA 0%<PRA≤30% ( $n=31$ ), 30%<PRA≤80% ( $n=28$ ) и PRA>80% ( $n=34$ ) отличий не выявлено (рис. 2, б).

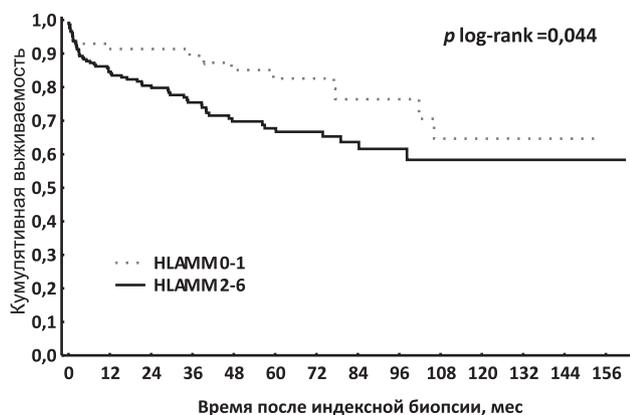


Рис. 3. Выживаемость трансплантата почки в зависимости от количества HLA mismatch. HLA mismatch – несовпадения по системе генов HLA.

Выживаемость АП в группе пациентов, имевших не более одного HLA mismatch ( $n=76$ ), была достоверно выше, чем в двух других группах с 2–4 HLA mismatch ( $n=184$ ) и 5–6 HLA mismatch ( $n=28$ ) ( $p=0,048$ ). Выживаемость трансплантата между двумя последними группами достоверно не отличалась ( $p_{\log\text{-rank}} = 0,73$ ), а в группе 0-1 HLA mismatch была достоверно выше, чем в объединенной группе больных с 2–6 HLA mismatch (рис.3). Различий в выживаемости АП между пациентами с HLA mismatch I и II классов не выявлено ( $p_{\log\text{-rank}} = 0,83$ ).

У реципиентов первого трансплантата выживаемость АП была выше в сравнении с пациентами, перенесшими АТП повторно ( $p_{\log\text{-rank}} = 0,007$ ) (рис. 4, а). Различий в выживаемости АП между группами реципиентов второго и третьего АП не было (рис. 4, б).

При однофакторном регрессионном анализе установлена достоверная связь с вероятностью потери АП всех трех изучаемых иммунологических факторов риска: числа АТП [ $\text{Exp}(B) = 1,54$  (95% CI 1,15–2,05;  $p=0,003$ )], PRA [ $\text{Exp}(B) = 1,010$  (95% CI 1,004–1,016;  $p=0,001$ )] и HLA mismatch [ $\text{Exp}(B) = 1,77$  (95% CI 1,01–3,18;  $p=0,049$ )].

Для дальнейшего анализа все реципиенты АП, включенные в исследование, были стратифицированы на четыре подгруппы в зависимости от числа имеющихся предтрансплантационных факторов риска (табл. 2).

Кумулятивная выживаемость АП в 4 подгруппах имела существенные различия ( $p=0,002$ ). При попарном сравнении подгруппы 1 и 2 достоверно отличались от подгруппы 3 ( $p_{\log\text{-rank}} = 0,012$  и  $p_{\log\text{-rank}} = 0,035$  соответственно) и от подгруппы 4 ( $p_{\log\text{-rank}} = 0,005$  и  $p_{\log\text{-rank}} = 0,004$  соответственно). При этом различий в выживаемости АП между подгруппами 1 и 2 ( $p_{\log\text{-rank}} = 0,34$ ), а также между подгруппами 3 и 4 не выявлено ( $p_{\log\text{-rank}} = 0,27$ ).

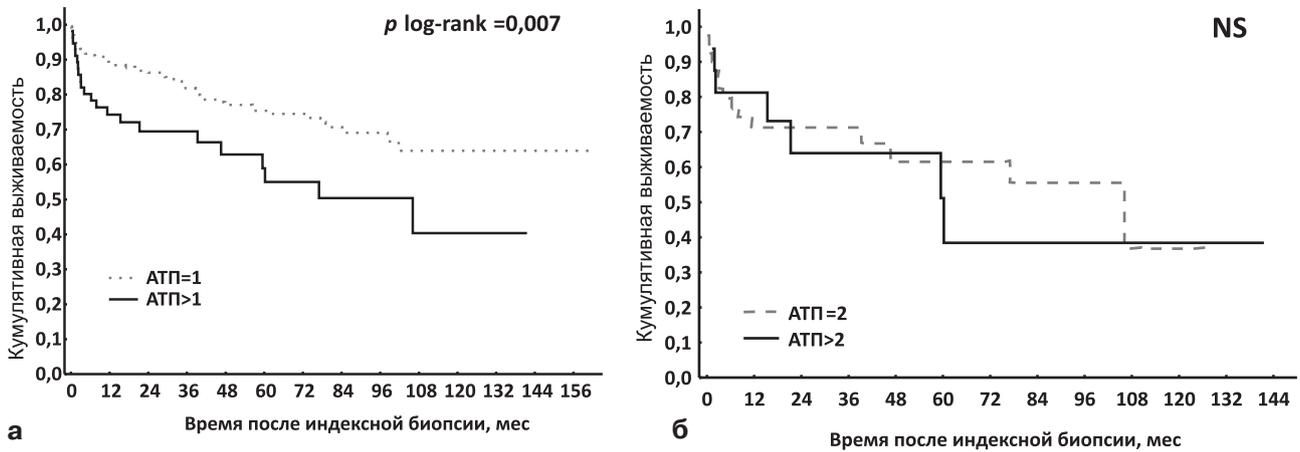


Рис. 4. Выживаемость трансплантата почки в зависимости от числа трансплантаций: а – первая АТП и повторная АТП; б – вторая АТП и третья АТП. АТП – аллотрансплантация почки.

Отсутствие различий в выживаемости АП позволило объединить подгруппы 1 и 2, а также подгруппы 3 и 4 в группу низкого ИР (НР, n=191) и группу повышенного риска (ПР, n=97) соответственно (см. табл. 2). Между группами НР и ПР были выявлены существенные различия в выживаемости АП (рис. 5).

Реципиенты группы ПР при сравнении с НР ожидаемо чаще получили индукционную иммуносупрессивную терапию (61,8 и 36,6%;  $p < 0,001$ ), в том числе базиликсимаб (39,3 и 21,8%,  $p = 0,003$ ) и антиtimoцитарный иммуноглобулин (21,3 и 10,4%,  $p = 0,021$ ). 25,8% реципиентов группы ПР был проведен плазмаобмен и/или введен внутривенный иммуноглобулин (и 0% в группе пациентов НР). У реципиентов ПР достоверно чаще применяли такролимус, чем циклоспорин А (73 и 26,9%;  $p < 0,001$ ). В качестве базисной терапии у всех пациентов были использованы глюкокортикостероиды. Процент реципиентов, получавших ММФ, в группах ИР не отличался ( $p = 0,064$ ).

Принадлежность к группе ПР была определена как независимый фактор риска потери АП при мультивариантном регрессионном анализе Кокса с коррекцией модели по другим потенциальным

предикторам прогноза в предтрансплантационном периоде (табл. 3).

В группе ПР достоверно чаще обнаруживали случаи AMR за счет fAMR и MR. По частоте возникновения TCMR группы достоверно не различались. У реципиентов НР существенно чаще не выявляли какого-либо отторжения в посттрансплантационном периоде (табл. 4).

В связи с развитием отторжения 82,6% больных получили пульс-терапию преднизолоном; 16,8% – антиtimoцитарный глобулин; 25,5% – внутривенный иммуноглобулин; 8,2% – ритуксимаб и 22,4% – плазмаобмен. У 8 реципиентов (4,1%) какой-либо терапии отторжения не было. Иммуносупрессивная терапия в группах с различными типами отторжения представлена в табл. 5.

Выживаемость АП у пациентов с TCMR и AMR по сравнению с группой NR была достоверно ниже ( $p < 0,001$ ), а в группе TCMR выше, чем в группе с AMR ( $p_{\log\text{-rank}} < 0,001$ ). Наиболее низкой выживаемость АП была в подгруппах sAMR, fAMR и MR, между которыми достоверных различий в выживаемости АП не было ( $p = 0,1$ ). Последнее послужило основанием для объединения больных с sAMR, fAMR и MR в одну группу для последующего

Таблица 2

**Стратификация больных по предтрансплантационному иммунологическому риску**

Группы риска	1	2			3			4
Предтрансплантационные иммунологические факторы риска	Нет факторов риска; (n=51)	Только один фактор риска; (n=140)			Любые два фактора риска; (n=60)			Все факторы риска; (n=37)
HLAMM $\geq 2$	-	+	-	-	-	+	+	+
PRA $> 0\%$	-	-	+	-	+	+	-	+
Повторная АТП	-	-	-	+	+	-	+	+
Суммарная стратификация ИР	Низкий ИР (n=191)				Повышенный ИР (n=97)			

АТП – аллотрансплантация почки; ИР – иммунологический риск; HLAMM – количество несовпадений по системе генов HLA; PRA – предсуществующие антитела.

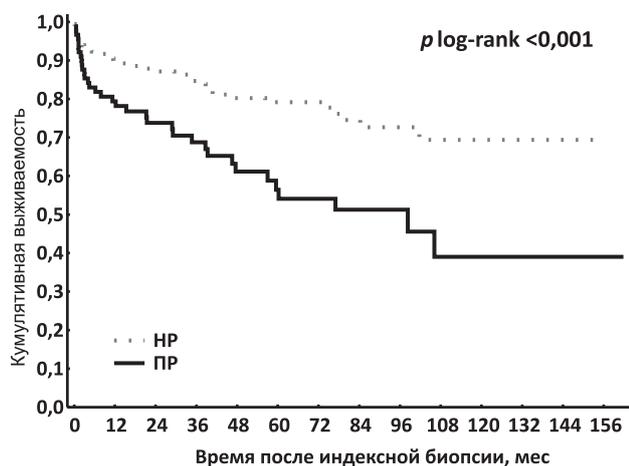


Рис. 5. Выживаемость трансплантата почки в различных группах иммунологического риска. NR – объединенная группа низкого риска; PR – объединенная группа повышенного риска.

регрессионного моделирования факторов риска потери АП.

При включении в мультивариантную регрессионную модель типа отторжения как независимой переменной, наряду с другими потенциальными предикторами прогноза, включающими теперь пред- и посттрансплантационные факторы, группа ИР теряла достоверную связь с риском гибели АП. В этом случае только тип отторжения (AMR или TCMR), а также возраст донора были независимыми предикторами выживаемости АП (табл. 6).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Несовместимость по HLA и повторные АТП, как предтрансплантационные факторы иммунологического риска, хорошо изучены. Их связь с выживаемостью АП, в том числе продемонстрированная в данном исследовании, не вызывает сомнений [23–30]. Отсутствие информации о других вероятных факторах предшествующей сенсибилизации

Таблица 4

### Сравнение групп иммунологического риска по частоте отторжений

Вид отторжения	Вся группа, n	НР, %	ПР, %	$p_p$
AMR	131	31,7	56,2	<0,001
fAMR	26	2,7	21,3	<0,001
sAMR	71	25,1	20,2	0,37
MR	34	8,7	19,1	0,014
TCMR	65	23,5	17,9	0,3
NR	92	39,9	21,3	0,002

AMR – гуморальное отторжение; fAMR – «полный» фенотип гуморального отторжения (DSA+); sAMR – случаи, подозрительные в отношении AMR; MR – смешанный тип отторжения; NR – случаи без признаков отторжения; TCMR – Т-клеточное отторжение; НР – объединенная группа низкого риска; ПР – объединенная группа повышенного риска.

### Повышенный иммунологический риск и выживаемость АП (результаты множественного регрессионного анализа Кокса\*)

Предиктор	Exp (B)	p
Повышенный ИР (vs низкий ИР)	2,08	0,015
Возраст донора (1 год)	1,02	0,035
Мужской пол (и женский пол)	0,86	0,55
Возраст реципиента (1 год)	0,99	0,78
Трансплантация от живого донора (vs трупная АТП)	0,81	0,67
Последний креатинин донора (1 ммоль/л)	0,96	0,98
Время холодовой ишемии (10 мин)	1,004	0,34
Отсроченная функция АП (и немедленная функция)	1,39	0,21
Продолжительность ЗПТ (1 мес)	0,99	0,98

\* Принудительное включение переменных.

АП – аллографт почки; АТП – аллотрансплантация почки; ИР – иммунологический риск; ЗПТ – заместительная почечная терапия.

(беременностях и трансфузиях компонентов крови) у части больных можно отнести к ограничениям данной работы. Вместе с тем, очевидно, что влияние этих факторов опосредуется через формирование PRA [31, 32], уровень которых был оценен у всех пациентов, включенных в исследование.

Мы в большей степени ставили задачу стратификации ИР, подходы к которой до настоящего времени остаются не вполне определенными [33], нежели оценку отдельных его составляющих. В данной работе был использован принцип разделения больных по иммунологическому риску, близкий к использованному Dunn et al. у 587 реципиентов АП [9]. При анализе выживаемости АП были получены похожие результаты – чем больше предтрансплантационных факторов ИР, тем хуже выживаемость. Кроме того, проведенный анализ позволил установить, что выживаемость АП достоверно ухудшается при наличии одновременно двух и более из изученных факторов ИР в сравнении с наличием только одного фактора или их отсутствием. Таким образом, для предтрансплантационной оценки прогноза достаточно деления реципиентов АП на две группы – повышенного и низкого ИР, что значительно упрощает применение суммарной его оценки в клинической практике.

Наличие предсуществующих DSA отчетливо связано с частотой развития гуморального отторжения и потерей АП [34–36]. Группа ПР имела почти двукратное увеличение частоты fAMR. Следовательно, можно предположить, что повышенный предтрансплантационный ИР по крайней мере отчасти опосредован наличием DSA. Несомненно, оптимальным было бы исследование предше-

ствующих DSA [17], что связано с техническими ограничениями и пока не является общепринятой практикой. Однако уже известны исследования, показывающие эффективность определения предсуществующих DSA с целью профилактики AMR и улучшения выживаемости AP [37].

Полученные данные делают очевидным, что AMR имеет более существенное прогностическое значение в сравнении с оценкой предтрансплантационного ИП. Независимая и достоверная ассоциация ПР с риском потери трансплантата переставала выявляться при включении в регрессионный анализ типа отторжения. В последнем случае (см. табл. 6) независимыми предикторами потери AP были только тип отторжения и возраст донора, что согласуется с ранее сделанными наблюдениями [9].

AMR может развиваться и у больных, имевших изначально низкий ИП, что связано с формированием DSA *de novo* (см. табл. 4). Вместе с тем, наличие повышенного предтрансплантационного ИП не связано с развитием отторжения ультимативно. В ряде работ было установлено, что выживаемость

AP у больных, имеющих предсуществующие DSA, лучше, чем у реципиентов с *de novo* DSA [38, 39]. Malheiro et al. показали, что именно *de novo* DSA являлись независимым предиктором потери AP [40]. Отчасти, более выраженное негативное влияние DSA, появляющихся после трансплантации, на выживаемость трансплантатов почки можно объяснить отсутствием иммунологической настороженности при ведении больных с низким ИП: неадекватным мониторингом DSA в посттрансплантационном периоде, поздним выявлением антительно-опосредованных, зачастую необратимых, повреждений трансплантированного органа и запоздалым началом лечения.

Детальный анализ связи проводимой иммуносупрессивной терапии с риском потери AP не входил в задачи исследования. Вместе с тем, представляется маловероятным, что различия в примененной индукционной терапии и лечении отторжения могли оказать существенное влияние на полученные результаты, поскольку пациенты с повышенным предтрансплантационным риском

Таблица 5

#### Иммуносупрессивная терапия при различных типах отторжения AP

Иммуносупрессивная терапия/ группы пациентов, n	AMR, n=131	TCMR, n=65	$p_{\chi^2}$ AMR vs TCMR	fAMR, n=26	sAMR, n=71	MR, n=34	$p_{ANOVA}$ для fAMR, sAMR, MR
Пульс-терапия ГКС, %	77,1	93,8	0,004	84,6	73,2	79,4	0,47
Антитимоцитарный иммуноглобулин, %	17,5	15,4	0,7	11,5	9,9	38,2	<0,001
Плазмаобмен, %	29,8	7,7	<0,001	13	15,5	44,1	<0,001
Внутривенный иммуноглобулин, %	32,1	12,3	0,003	65,4	19,7	32,3	<0,001
Ритуксимаб, %	11,4	1,5	0,02	11,5	7,1	20,6	0,13

AMR – гуморальное отторжение; fAMR – «полный» фенотип гуморального отторжения (DSA+); sAMR – случаи, подозрительные в отношении AMR; MR – смешанный вариант отторжения; NR – случаи без признаков отторжения; TCMR – Т-клеточное отторжение; ГКС – глюкокортикостероиды.

Таблица 6

#### Связь иммунологического риска и типа отторжения с выживаемостью AP (результаты множественного регрессионного анализа Кокса\*)

Предиктор	p	Exp (B)	95,0% CI для Exp(B)
Тип отторжения			
AMR (и NR)	<0,001	10,716	4,461–25,736
TCMR (и NR)	0,003	4,295	1,644–11,220
Возраст донора (1 год)	0,002	1,029	1,011–1,047
Повышенный ИП (и низкий ИП)	0,577	1,184	0,654–2,143
Мужской пол (и женский пол)	0,426	0,815	0,492–1,349
Возраст реципиента (1 год)	0,837	1,002	0,981–1,024
Трансплантация от живого донора (и от умершего донора)	0,146	0,435	0,142–1,334
Последний креатинин донора (1 ммоль/л)	0,356	6,222	0,128–302,098
Время холодовой ишемии (1 мин)	0,563	1,000	0,999–1,000
Время тепловой ишемии (1 мин)	0,068	1,011	0,999–1,023
Отсроченная функция AP (и немедленная функция)	0,529	0,835	0,475–1,465
Продолжительность ЗПТ (1 мес)	0,880	1,000	0,997–1,004
Креатинин на момент биопсии (1 ммоль/л)	0,172	1,902	0,756–4,785

\* Принудительное включение переменных.

AP – аллографт почки; ИП – иммунологический риск; ЗПТ – заместительная почечная терапия; AMR – гуморальное отторжение; TCMR – Т-клеточное отторжение; CI – доверительный интервал; NR – нет признаков отторжения.

и имевшие отторжение после АТП, в целом, получили более агрессивную иммуносупрессивную терапию (см. табл. 5).

Отрицательная роль МВВ в прогнозе АП в присутствии DSA доказана [41], однако, значение МВВ без DSA остается неопределенным [42]. В представляемом исследовании значительная часть пациентов, имевших признаки МВВ по данным биопсии, а именно гломерулит и/или перитубулярный капиллярит без подтверждения DSA, составили группу случаев «подозрительных» AMR, поскольку не удовлетворяли текущим критериям BANFF 2013 [21]. Выживаемость АП в этой группе не отличалась от реципиентов с полным фенотипом AMR (МВВ+DSA). Таким образом, полученные нами данные подтверждают существенное влияние МВВ в сочетании и без сочетания с DSA на выживаемость АП [43, 44], что, в свою очередь, подчеркивает значение биопсий для ранней диагностики МВВ как вероятных проявлений AMR. Последнее также может иметь частное значение для отечественной трансплантологической практики, в которой современные мультиплексные методы детекции и типирования DSA далеко не всегда являются доступными.

Таким образом, в данной работе предложен простой подход к стратификации предтрансплантационного ИР и показана отчетливая связь повышенного ИР с выживаемостью АП. Вместе с тем, влияние ИР на посттрансплантационный прогноз не является независимым и опосредовано развитием гуморального отторжения. В практическом плане полученные результаты указывают на необходимость оценки предтрансплантационных факторов риска, что, однако, не освобождает от контроля реальной иммунологической ситуации в посттрансплантационном периоде на основе мониторинга DSA и выполнения своевременных морфологических исследований АП.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Pesavento TE. Kidney Transplantation in the Context of Renal Replacement Therapy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 2035–2039
2. Tonelli M, Wiebe N, Knoll G et al. Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant* 2011; 11 (10): 2093–2109
3. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ et al. Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant* 2009; 9 (3): 527–535
4. Naesens M, Kuypers DR, De Vusser K et al. The histology of kidney transplant failure: a long-term follow-up study. *Transplantation* 2014; 98 (4): 427–435
5. Pallardó M, Sancho CA, Capdevila PL, Franco EA. Acute rejection and late renal transplant failure: risk factors and prognosis. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 [Suppl 3]: 38–42
6. Filippone EJ, Farber JL. The specificity of acute and chronic microvascular alterations in renal allografts. *Clin Transplant* 2013; 27 (6): 790–798
7. Sellares J, Freitas DG, Mengela M et al. Understanding the Causes of Kidney Transplant Failure: The Dominant Role of Antibody-Mediated Rejection and Nonadherence. *Am J Transplant* 2012; 12: 388–399
8. Fidler SJ, Irish AB, Lim W et al. Pre-transplant donor specific anti-HLA antibody is associated with antibody-mediated rejection, progressive graft dysfunction and patient death. *Transpl Immunol* 2013; 28 (4): 148–153
9. Dunn TB, Noreen H, Gillingham K et al. Revisiting Traditional Risk Factors for Rejection and Graft Loss After Kidney Transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11: 2132–2143
10. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS et al. Outcome of Subclinical Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplant Recipients with Preformed Donor-Specific Antibodies. *Am J Transplant* 2009; 9: 2561–2570
11. Ledesma-Gumba MA, Danguilan RA, Casasola CC, Ona ET. Efficacy of risk stratification in tailoring immunosuppression regimens in kidney transplant patients at the national kidney and transplant institute. *Transplant Proc* 2008; 40 (7): 2195–2197
12. Diet C, Audard V, Roudot-Thoraval F et al. Immunological risk in recipients of kidney transplants from extended criteria donors. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 2745–2753
13. Noël C, Abramowicz D, Durand D et al. Daclizumab versus Antithymocyte Globulin in High-Immunological-Risk Renal Transplant Recipients. *JASN* 2009; 20: 1385–1392
14. van Gelder T, Tedesco Silva H, de Fijter JW et al. Renal transplant patients at high risk of acute rejection benefit from adequate exposure to mycophenolic acid. *Transplantation* 2010; 89 (5): 595–599
15. High Risk Renal Transplant Consensus Group. Defining high risk in adult kidney transplantation. *Prog Transplant* 2009; 19 (3): 252–258
16. Nascimento E, Fabreti de Oliveira RA, Maciel MD et al. Kidney Transplantation: Evaluation and Clinical Outcome of 237 Recipients at Low, Medium, High, or Strong Immunological Risk of Rejection. *Transplant P* 2014; 46: 101–107
17. Tait BD, Süsal C, Gebel HM et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation* 2013; 95 (1): 19–47
18. Special Issue: KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients. *Am J Transplant* 2009; 9 [Suppl 3]: 1–155
19. Общероссийская общественная организация трансплантологов «Российское трансплантологическое общество». Национальные клинические рекомендации «Трансплантация почки» 2013 г. <http://transpl.ru/specialist/rto>, [http://transpl.ru/images/cms/data/pdf/nacionalnye\\_klinicheskie\\_rekomendacii\\_po\\_transplantacii\\_pochki.pdf](http://transpl.ru/images/cms/data/pdf/nacionalnye_klinicheskie_rekomendacii_po_transplantacii_pochki.pdf). [Obscherossiyskaya obschestvennaya organizatsiya transplantologov. «Rossiyskoe transplantologicheskoe obschestvo». Natsionalnyie klinicheskie rekomendatsii «Transplantatsiya pochki» 2013 g. <http://transpl.ru/specialist/rto>, [http://transpl.ru/images/cms/data/pdf/nacionalnye\\_klinicheskie\\_rekomendacii\\_po\\_transplantacii\\_pochki.pdf](http://transpl.ru/images/cms/data/pdf/nacionalnye_klinicheskie_rekomendacii_po_transplantacii_pochki.pdf)].
20. Racusen LC, Solez K, Colvin RB et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55 (2): 713–723
21. Haas M, Sis B, Racusen LC et al. Banff 2013 Meeting Report: Inclusion of C4d-Negative Antibody-Mediated Rejection and Antibody-Associated Arterial Lesions. *Am J Transplant* 2014; 14: 272–283
22. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6): 461–470
23. Lim WH, Chapman JR, Wong G. Peak Panel Reactive Antibody, Cancer, Graft, and Patient Outcomes in Kidney Transplant Recipients. *Transplantation* 2014; Dec 23 [Epub ahead of print]
24. Kaczmarczyk M, Kotfis K, Biernawska J et al. Effect of

recipient sensitization (peak panel reactive antibodies) on 15-year survival after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2014; 46 (8): 2699-2702

25. Opelz G, Döhler B, Ruhstroth A et al. The collaborative transplant study registry. *Transplant Rev (Orlando)* 2013; 27 (2): 43-45

26. Süsal C, Döhler B, Opelz G. Presensitized kidney graft recipients with HLA class I and II antibodies are at increased risk for graft failure: a Collaborative Transplant Study report. *Hum Immunol* 2009; 70 (8): 569-573

27. Абрамов ВЮ, Мойсюк ЯГ, Калужина НН, Богданова НБ. Дифференцированное влияние совместимости по HLA-A, HLA-B и HLA-DR на выживаемость аллотрансплантата почки. *Вест трансплантологии и искусственных органов* 2012; 3: 19-23. [Abramov VY, Moysyuk YG, Kaluzhina NN, Bogdanova NB et al. Differentsirovannoe vliyaniye sovmestimosti po HLA-A, HLA-B i HLA-DR na vyizhivaemost allotransplantata pochki. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov* 2012; 3: 19-23]

28. Süsal C, Döhler B, Opelz G. Presensitized kidney graft recipients with HLA class I and II antibodies are at increased risk for graft failure: a Collaborative Transplant Study report. *Hum Immunol* 2009; 70 (8): 569-573

29. Dinis P, Nunes P, Marconi L et al. Kidney retransplantation: removal or persistence of the previous failed allograft? *Transplant Proc* 2014; 46 (6): 1730-1734

30. CTS <http://www.ctstransplant.org/public/graphics/sample.shtml>

31. Hung SY, Lin TM, Chang MY et al. Risk factors of sensitization to human leukocyte antigen in end-stage renal disease patients. *Hum Immunol* 2014; 75 (6): 531-535

32. Fidler S, Swaminathan R, Lim W et al. Peri-operative third party red blood cell transfusion in renal transplantation and the risk of antibody-mediated rejection and graft loss. *Transpl Immunol* 2013; 29 (1-4): 22-27

33. Lebranchu Y, Baan C, Biancone L et al. Pretransplant identification of acute rejection risk following kidney transplantation. *Transpl Int* 2014. 27 (2): 129-138

34. Tsapepas DS, Vasilescu R, Tanriover B et al. Preformed donor-specific antibodies and risk of antibody-mediated rejection in repeat renal transplantation. *Transplantation* 2014; 97 (6): 642-647

35. Lefaucheur C, Suberbielle-Boissel C, Hill GS et al. Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8 (2): 324-331

36. Mohan S, Palanisamy A, Tsapepas D et al. Donor-specific antibodies adversely affect kidney allograft outcomes. *Am Soc Nephrol* 2012; 23 (12): 2061-2071

37. Marfo K, Ajaimy M, Colovai A et al. Pretransplant immunologic risk assessment of kidney transplant recipients with donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies. *Transplantation* 2014; 98 (10): 1082-1088

38. de Souza PS, David-Neto E, Panajotopolous N et al. Dynamics of anti-human leukocyte antigen antibodies after renal transplantation and their impact on graft outcome. *Clin Transplant* 2014; 28 (11): 1234-1243

39. Ginevri F, Nocera A, Comoli P et al. Posttransplant De Novo Donor-Specific HLA Antibodies Identify Pediatric Kidney Recipients at Risk for Late Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant* 2012; 12 (12): 3355-3362

40. Malheiro J, Tafulo S, Dias L et al. Posttransplant allosensitization in low immunological risk kidney and kidney-pancreas graft recipients. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 438945

41. de Kort H, Willicombe M, Brookes P et al. Microcirculation inflammation associates with outcome in renal transplant patients with de novo donor-specific antibodies. *Am J Transplant* 2013; 13 (2): 485-492

42. Buob D, Grimbert P, Glowacki F et al. Three-year outcome of isolated glomerulitis on 3-month protocol biopsies of donor HLA antibody negative patients. *Transpl Int* 2012; 25 (6): 663-670

43. Einecke G, Sis B, Reeve J et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 2009; 9 (11): 2520-2531

44. Nabokow A, Dobronravov VA, Khrabrova M et al. Long-term kidney allograft survival in patients with transplant glomerulitis. *Transplantation* 2015; 99 (2): 331-339

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 10.01.2015 г.

Принята в печать: 14.05.2015 г.