

© В.А.Добронравов, М.С.Храброва, А.О.Мухаметдинова, В.Г.Сиповский, 2016
УДК 616.61 – 089.168.6-036.8

В.А. Добронравов^{1,2}, М.С. Храброва¹, А.О. Мухаметдинова¹, В.Г. Сиповский²

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ И ПРОГНОЗ АНТИТЕЛЬНО-ОПОСРЕДОВАННОГО ОТТОРЖЕНИЯ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

¹Кафедра пропедевтики внутренних болезней, ²Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

V.A. Dobronravov^{1,2}, M.S. Khrabrova¹, A.O. Mukhametdinova³, V.G. Sipovskiy^{1,2}

INCIDENCE AND PROGNOSIS OF ANTIBODY-MEDIATED REJECTION IN KIDNEY ALLOGRAFTS

¹Department of propedeutics of internal diseases and ²Research Institute of Nephrology of the Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russia

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: определить частоту выявления и исходы антително-опосредованного отторжения (AMR, antibody-mediated rejection) при рутинном морфологическом и иммунологическом мониторинге. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование вошли 55 реципиентов аллографта почки (АП) согласно критериям включения: совместимость с донором по группе крови, отрицательный цитотоксический кросс-матч-тест, как минимум, три биопсии АП. Все реципиенты получили стандартную иммуносупрессивную терапию: глюкокортикостероиды, базиликсимаб, ингибиторы кальциневрина, микофенолата мофетил. Пациентам выполняли протокольные биопсии (3, 6, 12 мес и далее ежегодно) и/или по показаниям: отсроченная функция АП, подъем креатинина $\geq 25\%$, протеинурия ≥ 1 г/сут или ее нарастание. Биопсии оценивали согласно критериям Banff 2013. Скрининг донор-специфических антител выполняли иммуноферментным анализом, а мониторинг – с помощью мультиплексного анализа Luminex (xMAP Technology). Терапия AMR включала глюкокортикостероиды, плазмаобмен, внутривенный иммуноглобулин, ритуксимаб, бортезомиб. Утрату функции АП и возврат на диализ учитывали как исход. Прогноз аллотрансплантации (АТП) оценивали на основе анализа выживаемости методом Каплана–Мейера. Медиана периода наблюдения от АТП составила 65 (47; 80) мес. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Морфологические признаки AMR были выявлены в 13% биопсий (n=390), а критерии AMR Banff 2013 – у 45% реципиентов (n=25) в разные сроки посттрансплантационного периода. Острое AMR (aAMR) регистрировали у 13 реципиентов, а хроническое активное (cAMR) – у 12. Субклиническим течением AMR было в 48% случаев. Персистенцию AMR выявили у 56% больных, а хронификацию – у 77%, несмотря на проводимую терапию. Кумулятивная выживаемость пациентов в общей группе за период наблюдения составила 94,5%, выживаемость АП – 79%. Выживаемость АП при AMR была ниже, чем у больных без AMR (73% и 100%, plog-rank=0,016). Различий в выживаемости АП в группах с aAMR и cAMR, а также с клиническим и субклиническим течением AMR выявлено не было. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** AMR может быть распространенной и недооцениваемой клинической проблемой, связанной со снижением сроков функционирования АП и эффективности АТП в целом. Своевременное выявление и лечение этого типа иммунного конфликта требует рутинного проведения иммунологического и морфологического мониторинга.

Ключевые слова: трансплантация почки, антително-опосредованное отторжение, протокольная биопсия, субклиническое отторжение, гломерулопатия.

ABSTRACT

THE STUDY was aimed to define the incidence rate and outcomes of antibody-mediated rejection (AMR) in the routine morphological and immunological monitoring. **PATIENTS AND METHODS.** 55 recipients of kidney allograft (KA) were enrolled into the study according to inclusion criteria (AB0-compatibility, negative cytotoxic crossmatch, minimum 3 kidney allograft biopsies in posttransplant period). All patients were on standard immunosuppressive regimen: glucocorticosteroids, basiliximab, calcineurin inhibitors, mycophenolate mofetil. Protocol (on 3, 6, 12 months and then annually) and indicative (delayed graft function, increase of serum creatinine level of $\geq 25\%$, proteinuria ≥ 1 g/24h) KA biopsies were evaluated according to Banff classification 2013. Enzyme-linked immunosorbent and multiplex (Luminex; xMAP Technology) assays were applied for donor-specific antibodies screening and monitoring, respectively. The treatment of AMR included glucocorticosteroids, plasma exchange, intravenous immunoglobulin, rituximab, bortezomib. KA loss and return to dialysis were defined as an outcome. Long-term KA prognosis was estimated by Kaplan–Meier survival analysis. The median posttransplant follow-up was 65 (47; 80) months. **RESULTS.** Morphological features of AMR was established in 13% of biopsies (n=390) and 45% of patients met Banff 2013 AMR criteria. Acute AMR

Добронравов В.А. 197022 Россия, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 17. Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. E-mail: dobronravov@nephrolog.ru

(aAMR) and chronic active (cAMR) were found in 13 and 12 KA recipients, respectively. 48% of cases showed subclinical type of AMR. Persistence and chronification of AMR were established in 56% and 77% of patients, respectively. Cumulative 9-year patient survival in the group studied (n=55) for the follow-up period was 94,5%, cumulative survival of KA was 79%. KA survival was worse in AMR patients when compared with the control group without AMR (73% vs 100%, plog-rank=0,016). There were no difference in KA survival in aAMR and cAMR as far as in clinical and subclinical types of AMR. **CONCLUSION:** AMR is supposed to be the frequent and under-recognized clinical problem associated with inferior KA survival and overall effectiveness of kidney allograft transplantation. The approach to early diagnostic and treatment of this type of immune conflict requires the immunological and morphological monitoring of KA on a regular basis.

Key words: kidney transplantation, antibody-mediated rejection, protocol biopsy, subclinical rejection, glomerulopathy.

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с Banff 2013 [1] диагноз антительно-опосредованного отторжения (AMR, antibody-mediated rejection), одного из основных факторов потери аллогraftа почки (АП) [2, 3], может быть установлен только при выполнении морфологического исследования. В большинстве исследований частота выявления AMR низкая (4–10%) [2, 4, 5]. Однако эти данные могут не полностью отражать истинную ситуацию по распространенности AMR, поскольку основаны на результатах индикаторных биопсий. В подтверждение представлено несколько работ, в которых по данным протокольных биопсий АП частота выявления отторжения значительно выше (18–40%) [6–9]. Целью исследования было определить частоту выявления AMR при рутинном морфологическом и иммунологическом мониторинговании и его исходы у пациентов, получивших стандартную иммуносупрессивную терапию (ИСТ).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследуемая группа пациентов.

В исследование были включены 55 пациентов, которым была выполнена аллогенная трансплантация почки в НИИ нефрологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова в 2007–2012 гг. Критериями включения были: совместимость с донором по группе крови, отрицательный цитотоксический кросс-матч-тест и, как минимум, три биопсии АП. Основные клинко-демографические показатели исследуемой группы (n=55) представлены в табл. 1.

Морфологический и иммунологический мониторинг.

В соответствии с программой морфологического мониторинга состояния АП всем пациентам выполняли протокольные биопсии (3, 6, 12 мес после АТП и далее ежегодно). Показаниями к выполнению индикаторных биопсий (в промежутки между протокольными) были: отсроченная функция АП, нарастание креатинина сыворотки крови $\geq 25\%$ от предыдущего уровня, появление

протеинурии ≥ 1 г/сут или ее нарастание на 50%, а также морфологический контроль проведенной терапии Т-клеточного и В-клеточного отторжения. Биопсии трансплантата выполняли под контролем сонографии в В-режиме с цветовым картированием и контролем биопсийного канала иглой для пункции 18G.

Морфологический анализ. Для светооптического исследования 4 мкм серийные срезы биоптата окрашивали гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа (PAS), трихромальной окраской. Выраженность морфологических изменений АП оценивали в соответствии с Banff 2013 [1]. Персистирующим гуморальное отторжение считали при наличии гломерулита и/или перитубулярного капиллярита (рис. 1) в следующей биопсии, выполненной в срок >5 нед после первой с признаками AMR. Иммунофлюоресцентное исследование C4d в перитубулярных капиллярах (C4d-rtc) выполняли на замороженных срезах с FITC-мечеными моноклональными антителами.

Таблица 1

Основные клинко-демографические показатели в исследуемой группе

Показатель	Пациенты (n=55)
Пол, Ж/М	29/26
Возраст реципиента, годы, M $\pm$ SD	35 $\pm$ 12
Возраст донора, годы, M $\pm$ SD	44 $\pm$ 10
АТП от живого донора, %	36
Повторная АТП, %	3,6
Продолжительность ЗПТ, мес, m (25–75%)	10 (5;35)
HLA mismatch, m (25–75%)	5 (3;5)
HLA mismatch ≥ 3 , %	87,3
ПРА перед АТП, %	7,2
ВХИ, мин, M $\pm$ SD	463 $\pm$ 378
ВТИ, мин, M $\pm$ SD	65 $\pm$ 29
Отсроченная функция АП, %	45

Примечание. АП – аллогraft почки; АТП – аллотрансплантация почки; ВХИ – время холодовой ишемии; ВТИ – время тепловой ишемии; ЗПТ – заместительная почечная терапия; ПРА – предсуществующие антитела; HLA mismatch – несовпадение по локусам системы генов HLA.

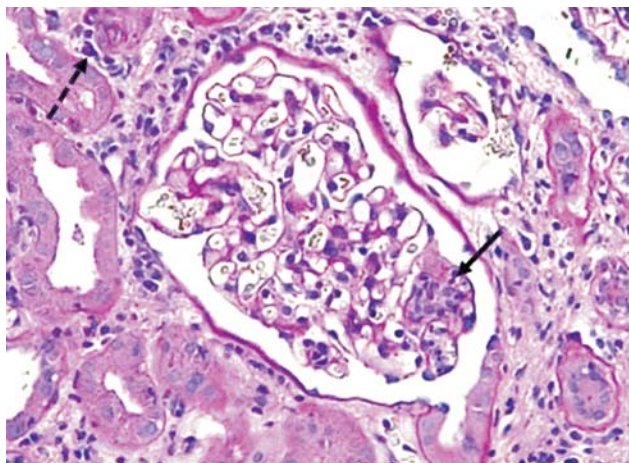


Рис. 1. Морфологические проявления антително-опосредованного отторжения: микроваскулярное воспаление аллогraftа почки. Сплошная стрелка – гломерулит; пунктирная стрелка – перитубулярный капиллярит. Окраска ШИК (реактив Шиффа). Ув. $\times 100$.

Иммунологический анализ. Количество несоответствий по системе генов HLA (HLA mismatch) стандартно определяли при типировании донора и реципиента по локусам A, B, DR, а в 20% случаев ($n=11$) было выполнено типирование по локусам HLA C, –DQ, –DP. Предсуществующие антитела (ПРА) определяли иммуноферментным анализом (ИФА). Скрининг ДСА выполняли ИФА, а последующий контроль при ДСА-позитивности, рутинный мониторинг, а также в случае выявления морфологических признаков AMR при отрицательном результате ИФА – с помощью мультиплексного анализа Luminex (xMAP Technology). Реакцию на ДСА (Luminex) считали позитивной при средней интенсивности флуоресценции (MFI, mean fluorescence intensity) ≥ 500 .

Иммуносупрессивная терапия и терапия отторжения.

Индукционная и базисная терапия у всех пациентов включала пульсовое введение глюкокортикоидов (ГКС), анти-CD25 моноклональное антитело (базиликсимаб), ингибиторы кальциневрина и микофенолата мофетил (ММФ). В связи с высоким уровнем сенсibilизации двум пациентам (ПРА 67 и 25%) перед АТП был выполнен плазмаобмен (ПО) и введен внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ). При первичном выявлении AMR проводили лечение ГКС (500–250–125 мг внутривенно с переходом на пероральный прием 0,5 мг/кг и снижением до поддерживающей дозы в течение 2 нед) в сочетании с ПО (с замещением 1–1,5 объема циркулирующей плазмы; № 3–6 с интервалом 2–3 дня) и введением ВВИГ в суммарной дозе 1 г/кг массы. Если пациент получал циклоспорин А, выполняли конверсию на

такролимус. При сохраняющихся признаках AMR по данным иммуноморфологического контроля продолжали терапию ПО и ВВИГ с присоединением анти-CD20-агента (ритуксимаб) однократно в дозировке 375 мг/м². В случае персистенции MBV и ДСА выполняли повторное введение ритуксимаба и/или проводили курсы бортезомиба (1,3 мг/м² 2-кратно с интервалом 2 нед). При отсутствии признаков активности AMR при контрольной биопсии продолжали рутинный клиничко-морфологический и иммунологический мониторинг.

Исходы и клинические показатели.

На момент биопсии с отторжением оценивали клинические признаки дисфункции АП: суточную протеинурию, креатинин и расчётную СКФ_{СКД-EP1}. Окончанием периода наблюдения считалась дата последнего морфологического исследования для пациентов без AMR и дата последнего клинического обследования для пациентов с AMR. Исходом считали полную потерю функции АП и возврат на диализ.

Статистический анализ.

Для анализа различий между оцениваемыми параметрами в группах применялись критерий χ^2 , точный тест Фишера, t-критерий, критерий Манна–Уитни. Для анализа выживаемости был использован метод Каплана–Мейера. Статистическую значимость различий между кривыми выживаемости оценивали с помощью Log-rank-теста. При анализе выживаемости АП случаи потери трансплантата не по причине отторжения ($n=3$: рецидив фокально-сегментарного гломерулосклероза, стеноз артерии трансплантата, апостематозный пиелонефрит) учитывали как цензурированные наблюдения. Достоверными различия считали при значениях $p < 0,05$. Обработку данных производили с помощью пакетов программ прикладного статистического анализа (XLSTAT 2016 for Windows для анализа кумулятивной частоты, Statistica 8.0 для анализа остальных данных). Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$) или среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$) и в виде медианы и интерквартильного интервала [m (25–75%)].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распространенность и структура антително-опосредованного отторжения.

Медиана периода наблюдения от трансплантации до конца наблюдения составила 65 (47; 80) мес. Признаки AMR были выявлены в 13% от всех

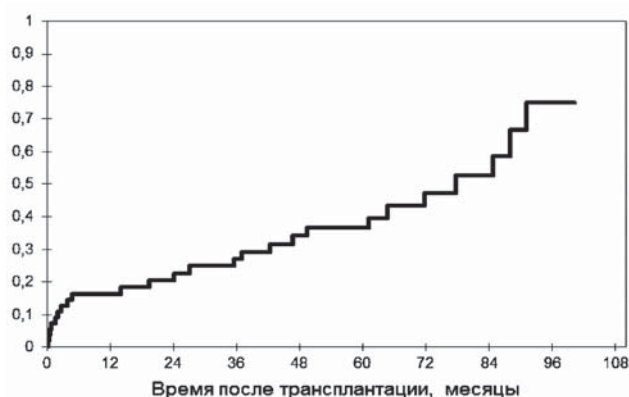


Рис. 2. Кумулятивная частота развития антительно-опосредованного отторжения у реципиентов аллографта почки (n=55). AMR – антительно-опосредованное отторжение (antibody-mediated rejection).

выполненных (индикационных и протокольных) биопсий (n=390). В результате диагноз AMR был установлен в те или иные сроки посттрансплантационного периода у 45% реципиентов (n=25). Кумулятивная частота AMR в исследуемой группе равномерно нарастала, достигнув 76% к 100 мес после АТП (рис. 2).

У 13 реципиентов АП имели место морфологические признаки острого AMR (aAMR), а у 12 – AMR впервые выявлено уже с признаками хронификации в виде развития гломерулопатии (ГП) (хроническое активное AMR; cAMR). По основным клинко-демографическим показателям предтрансплантационного периода пациенты с AMR не отличались от пациентов без гуморального отторжения, как и группы aAMR и cAMR (табл. 2).

Микроваскулярное воспаление (MBV), основное морфологическое проявление AMR, в большинстве случаев было представлено сочетанным поражением капилляров клубочка и интерстиция (см. рис. 1). Случаи изолированных гломерулита или перитубулярного капиллярита находили значительно реже (табл. 3). Хроническое активное гуморальное отторжение закономерно регистрировали в более поздние сроки после АТП, чем острое AMR (55 (35;78) мес и 3 (1;14) мес, соответственно, $p<0,001$). В группе cAMR выраженность интерстициального фиброза и тубулярной атрофии была закономерно выше. Среднее значение балла Banff для ГП в группе cAMR составило $1,33\pm0,19$. Отложения C4d-pts достоверно чаще выявляли при aAMR, чем при cAMR (84 и 42%, $p=0,013$). По другим морфологическим и клиническим показателям, указанным в табл. 3, группы aAMR и cAMR достоверно не отличались.

Персистенцию MBV в последующей биопсии регистрировали в 56% случаев AMR (табл.3). В группе aAMR в 77% случаев определяли хронификацию процесса, несмотря на проводимую терапию. Медиана периода от момента диагностики aAMR до выявления ГП при последующем морфологическом исследовании составила 13 (10; 22) мес. Кумулятивная частота выявления ГП в биоптатах АП представлена на рис. 3.

Предсуществующие ДСА регистрировали у 9 пациентов, а сформировавшиеся *de novo* – у 16. Из 9 случаев предсуществующих ДСА 4 были к анти-HLA-антителам I класса, 5 – к анти-HLA-антителам II класса. У 5 пациентов регистрирова-

Таблица 2

Основные клинко-демографические показатели в исследуемых группах

Показатель	AMR- (n=30)	AMR+ (n=25)	$p_{AMR+ \text{ vs } AMR-}$	aAMR (n=13)	cAMR (n=12)	$p_{aAMR \text{ и } cAMR}$
Пол, Ж/М	18/12	11/14	0,181	5/8	6/6	0,43
Возраст реципиента, годы, $M\pm SD$	36 ± 12	34 ± 11	0,691	32 ± 9	40 ± 13	0,115
Возраст донора, годы, $M\pm SD$	43 ± 9	44 ± 11	0,706	44 ± 13	44 ± 9	0,589
АТП от живого донора, %	40	32	0,371	38	33	0,387
Повторная АТП, %	0	8	0,202	15	0	0,26
Продолжительность ЗПТ, мес, m (25–75%)	9,5 (4;36)	10 (6;24)	0,852	11 (6;24)	10 (6;31,5)	0,849
HLA mismatch, m (25–75%)	5 (3;6)	4 (3;5)	0,214	4 (2;5)	4 (3;5)	0,744
HLA mismatch ≥ 3 , %	90	84	NS	69	100	NS
Наличие ПРА перед АТП, %	3,3	12	0,239	23	0	0,124
ВХИ, мин, $M\pm SD$	438 ± 358	493 ± 407	0,726	416 ± 377	578 ± 438	0,242
ВТИ, мин, $M\pm SD$	71 ± 31	58 ± 24	0,057	54 ± 24	62 ± 25	0,325
Отсроченная функция АП, %	43	48	0,72	31	67	0,07

Примечание. AMR – антительно-опосредованное отторжение (antibody-mediated rejection); aAMR – острое антительно-опосредованное отторжение; cAMR – хроническое активное антительно-опосредованное отторжение; HLA mismatch – несоответствие по локусам системы генов HLA; NS – статистически незначимые различия (not significant); АТП – аллотрансплантация почки; АП – аллографт почки; ВХИ – время холодовой ишемии; ВТИ – время тепловой ишемии; ЗПТ – заместительная почечная терапия; ПРА – предсуществующие антитела.

Таблица 3

Клинико-морфологические параметры у пациентов с антительно-опосредованным отторжением

Клинические параметры	Все случаи AMR (n=25)
Среднее число биопсий на пациента, M±SD	8±3
AMR с клиническими проявлениями, %	52
Время от АТП до выполнения биопсии с AMR, мес, m (25–75%)	27 (3;61)
Раннее (до 1 года)/позднее (более 1 года после АТП), n/n	9/16
СКФ _{СКД-ЕРП} , мл/мин/1,73 м ² , M±SD	36±15
Протеинурия, г/сут, m (25–75%)	0,3 (0,1; 0,9)
Морфологические параметры	
Гломерулит (g), баллы по Banff, M±SEM	1,9±0,24
Перитубулярный капиллярит (ptc), баллы по Banff, M±SEM	1,3±0,18
ИФТА, баллы по Banff, M±SEM*	1,2±0,15
C4d-ptc, баллы по Banff, M±SEM	1,3±0,23
C4d-ptc позитивность, %	64
MBV (g+ptc)/только g /только ptc, %	64/20/16
Персистенция MBV в следующей биопсии, %	56
В сочетании с Т-клеточным отторжением, %	16

Примечание. АТП – аллотрансплантация почки; ИФТА* – интерстициальный фиброз и тубулярная атрофия (среднее значение баллов по Banff); MBV – микроваскулярное воспаление; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; AMR – антительно-опосредованное отторжение (antibody-mediated rejection); C4d-ptc – результат реакции иммуногистохимии на C4d в перитубулярных капиллярах; g (glomerulitis) – гломерулит; M±SEM – среднее ± стандартная ошибка среднего; n/n – количество случаев, имеющих признак/количество случаев без признака; ptc (peritubular capillaritis) – перитубулярный капиллярит.

ли *de novo* ДСА к I классу, у 8 – ко II классу (в том числе анти-HLA-DQ ДСА у трех пациентов), у 2 пациентов – к обоим классам анти-HLA-антител. У одного пациента были обнаружены *de novo* анти-MICA-антитела.

Терапия AMR в группах aAMR и cAMR достоверно не отличалась, ритуксимаб получили 38% пациентов с aAMR и 33% с cAMR, а бортезомиб – 15 и 25% соответственно.

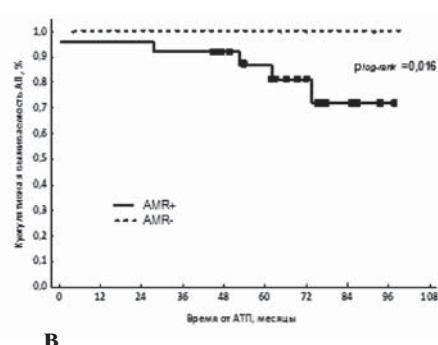
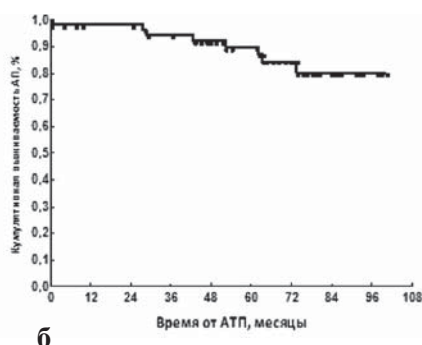
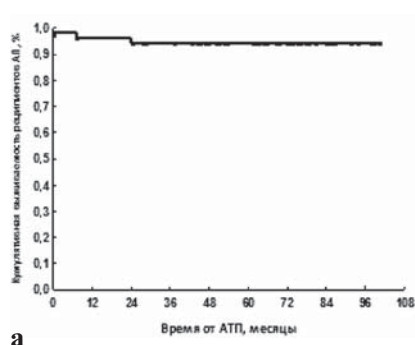


Рис. 4. а – выживаемость реципиентов АП (n=55); б – выживаемость АП в общей группе (n=55); в – выживаемость АП в группах с/без AMR. АП – аллографт почки; АТП – аллотрансплантация почки; AMR – антительно-опосредованное отторжение.

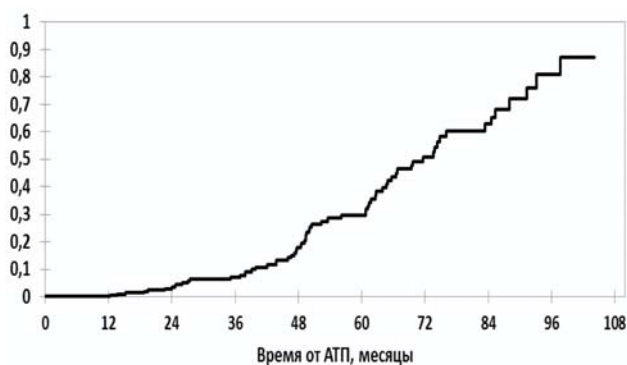


Рис. 3. Кумулятивная частота выявления гломерулопатии в биоптатах аллографта почки (n=390). АТП – аллотрансплантация почки.

Выживаемость пациентов и аллографта почки.

9-летняя кумулятивная выживаемость пациентов составила 94,5% (рис. 4а), а выживаемость АП – 79 % (см. рис. 4б). 9-летняя выживаемость АП у пациентов с AMR была ожидаемо ниже 73% (см. рис. 4в). Различий в выживаемости АП в подгруппах aAMR и cAMR ($p_{\log\text{-rank}}=0,1$), так же как и между подгруппами клинического/субклинического течения AMR ($p_{\log\text{-rank}}=0,1$), не выявили. Случаев потери АП у пациентов с C4d-ptc-негативным гуморальным отторжением не было ($p_{\log\text{-rank}}=0,038$). Кумулятивная выживаемость АП при наличии ГП была достоверно ниже ($p_{\log\text{-rank}}=0,018$), чем при отсутствии этого вида хронического повреждения, и за весь период наблюдения составила 72%.

ОБСУЖДЕНИЕ

Суждения о развитии той или иной степени иммунного конфликта лежат в основе представления об аллогенной трансплантации, когда формирование иммунных реакций возникает вследствие выраженного полиморфизма системы HLA, определяющего несовпадения по ее локусам у подавляющей пропорции реципиентов АП.

AMR является грозным осложнением пост-

трансплантационного периода, зачастую приводя к потере АП при сверхостром или остром течении. Эти риски на практике заложены в определение совместимости цитотоксическим кросс-матч-тестом, положительная реакция которого рассматривается как стандартное противопоказание к АТП, поскольку в отсутствие превентивных мер практически всегда сопровождается развитием острого или сверхострого течения отторжения по гуморальному типу и потерей транспантированного органа.

В течение длительного периода времени существовало весьма спокойное отношение к развитию реакций отторжения, которое стимулировалось очевидным улучшением ближайших результатов (снижением частоты и клинической значимости отторжений в раннем посттрансплантационном периоде на фоне введения в широкую клиническую практику ингибиторов кальциневрина, ММФ и деплетирующих агентов) [10, 11].

Основу для такого подхода создает распространенная терминология, которая упрощает представления о сути иммунологического конфликта, сводя к общему термину «отторжение» без уточнения его механизмов, делая ведение «отторжения», основанное на эмпирической клинической диагностике и лечении, неоправданным и губительным для трансплантата.

Вместе с тем, очевидно существование по крайней мере 2 архетипов отторжения – опосредованного преимущественно Т- и В-лимфоцитами (клеточное и гуморальное соответственно). Более того, в пределах каждого могут быть выделены различные клинико-морфологические фенотипы, имеющие разное прогностическое значение [5, 12–14]. В клинической практике под отторжением зачастую понимают ситуацию с клиническими проявлениями в виде развития дисфункции АП. Однако также очевидно, что за исключением острых вариантов могут существовать и более медленно развивающиеся случаи иммунного конфликта, протекающие субклинически до тех пор, пока объем повреждения за счет клеточной инфильтрации, MBV и фиброза не достигнет критического [13].

В представляемом исследовании внимание было сфокусировано на клинических и субклинических вариантах AMR, возникающих у реципиентов АП с отрицательным цитотоксическим кросс-матч-тестом и низким уровнем предсуществующих анти-HLA-антител. Примененный подход представлял собой тщательный иммунологический и морфологический мониторинг с контролем анти-HLA-антител и выполнением про-

токольных исследований АП, помимо биопсий со стандартными клиническими показаниями.

Во-первых, нами было установлена неожиданно высокая частота развития AMR – почти у половины реципиентов АП выявлены признаки этого типа отторжения в те или иные сроки посттрансплантационного периода. Почти при каждом седьмом морфологическом исследовании АП, большинство из которых составили протокольные биопсии, выявляли признаки MBV – типичного проявления AMR. Эти данные находятся в соответствии с наблюдениями других, немногочисленных исследований, в которых для поиска AMR были использованы аналогичные подходы [9, 13, 15]. Напротив, в исследованиях с анализом морфологических данных на основе выполненных по клиническим показаниям биопсий АП частота AMR составляет от 3 до 18% [2, 5, 8] и, на наш взгляд, является существенно заниженной за счет выпадения субклинических случаев и случаев с минимальными клиническими проявлениями.

AMR – явно неоднородное состояние, а суть поиска стратегий эффективного ведения, сводится к необходимости стратификации, основанной на клинических, морфологических и молекулярно-генетических подходах [16, 17]. В рамках выявленных случаев AMR очевидно наличие, по крайней мере, двух клинико-иммуноморфологических фенотипов. Один из них – острый, чаще выявляемый в индикационных биопсиях в виде MBV, в более ранние сроки посттрансплантационного периода и, как правило, сопровождающийся снижением функции АП, депозитами C4d-ptc. Другой вариант AMR, наблюдавшийся нами, может быть охарактеризован как «первично хронический». В этом случае морфологические проявления активно текущего AMR с поражением микроциркуляции АП сопровождались очевидными признаками хронификации в виде ГП, несмотря на отсутствие острых, клинически значимых эпизодов в прошлом. Такие субклинические изменения выявлялись в достоверно более поздние сроки после АТП в сравнении с острым AMR [55 (35;78) мес и 3 (1;14) мес], зачастую без классической депозиции C4d-ptc. Механизмы формирования ГП могут быть связаны с постоянным воздействием небольших концентраций ДСА на аллографт в течение всего посттрансплантационного периода, приводящим к расщеплению базальной мембраны и экспансии lamina rara interna с субэндотелиальной депозицией материала, включающего иммунные комплексы при потере способности эндотелия к аккомодации [13, 18, 19].

МВВ, основное морфологическое проявление AMR, в большинстве случаев было представлено сочетанным поражением капилляров клубочка и интерстиция. В некоторых случаях находили изолированное поражение капилляров интерстиция или клубочка. Прогностическое значение последнего нуждается в уточнении, однако ряд данных указывают на то, что гломерулит, включая его изолированные формы, может иметь более важное значение для выживаемости АП, требуя своевременной верификации и соответствующей настроенности [20, 21].

В целом, AMR, безусловно, связано с резким ухудшением прогноза выживаемости АП, в то время как значение Т-клеточного отторжения не столь очевидно и остается предметом дискуссий [2, 22]. Полученные нами при длительном наблюдении реципиентов АП исследованной группы данные полностью подтверждают такие представления. При 9-летней выживаемости АП в общей группе, составившей 79%, Т-клеточное отторжение не было причиной потери АП ни в одном случае. В то же время, кумулятивная выживаемость АП при развитии AMR была достоверно более низкой. Приведенные наблюдения позволяют считать причиной потери АП при AMR отчетливую склонность к персистенции и хронификации, несмотря на достаточно агрессивную терапию, направленную на основные патогенетические механизмы этого типа отторжения [13, 14, 23–25]. Вместе с тем, следует учесть, что выживаемость АП при ГП составила 72% за 9-летний период, что сравнимо с данными эталонных международных обсервационных исследований [26] и отечественных данных [27] для неселекционированных по наличию отторжения групп реципиентов АП. Это является косвенным свидетельством того, что настойчивое лечение, включавшее элиминацию циркулирующих анти-HLA-антител, контроль Т- и В-клеточных иммунных реакций, угнетение популяции плазматиков, может приводить к улучшению прогноза таких больных и повышать эффективность АТП. Подтверждение таких предположений нуждается в проведении контролируемых исследований.

Более радикальным подходом в будущем может быть стратегия выявления реципиентов с повышенным риском, основанная на поиске и идентификации факторов прогноза развития разных фенотипов AMR [21] и проведения превентивной терапии, эффективность которой уже продемонстрирована на примере АВО-несовместимых АП [23].

Ограничениями исследования являются относительно небольшое число реципиентов АП, а также отсутствие предтрансплантационного типирования HLA по всем локусам, что могло занижить данные о частоте отторжения. Об этом свидетельствует выявление у некоторых реципиентов анти-HLA-антител, направленных к нетипируемым в рутинной трансплантационной практике локусам DP, DQ, C, а также MICA. Примененный подход с регулярным морфологическим и иммунологическим мониторингом относится к сильным сторонам исследования и в настоящее время применяется лишь в единичных трансплантационных центрах [9, 13, 14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные определенно указывают на то, что AMR может быть распространенной и недооцениваемой проблемой, связанной со снижением сроков функционирования АП и эффективности АТП, в целом. Своевременное выявление и лечение этого типа иммунного конфликта требует рутинного проведения иммунологического и морфологического мониторинга.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. 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 (2): 272-283
2. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D et al. Antibody mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet* 2013; 9863: 313-319
3. Orandi BJ, Chow EH, Hsu A et al. Quantifying renal allograft loss following early antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2015; 15 (2): 489-498
4. Lionaki S, Panagiotellis K, Iniotaki A et al. Incidence and clinical significance of de novo donor specific antibodies after kidney transplantation. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: <http://www.hindawi.com/journals/jir/2013/849835>
5. Dörje C, Midtvedt K, Holdaas H et al. Early versus late acute antibody-mediated rejection in renal transplant recipients. *Transplantation* 2013; 96 (1): 79-84
6. Böhmig GA, Regele H, Hörl WH. Protocol biopsies after kidney transplantation. *Transpl Int* 2005; 18 (2): 131-139
7. Yamamoto T, Watarai Y, Takeda A et al. De Novo Anti-HLA DSA Characteristics and Subclinical Antibody-Mediated Kidney Allograft Injury. *Transplantation* 2015; Epub ahead of print
8. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant* 2012; 12 (2): 388-399
9. Loupy A, Vernerey D, Tinel CJ et al. Subclinical Rejection Phenotypes at 1 Year Post-Transplant and Outcome of Kidney Allografts. *Am Soc Nephrol* 2015; 26 (7): 1721-1731
10. Woodroffe R, Yao GL, Meads C et al. Clinical and cost-effectiveness of newer immunosuppressive regimens in renal transplantation: a systematic review and modelling study. *Health Technol Assess* 2005; 9 (21): 1-179, iii-iv
11. Kyriakides G, Miller J. Use of cyclosporine in renal transplantation. *Transplant Proc* 2004; 36 (2 Suppl): 167S-172S
12. Einecke G, Sis B, Reeve J et al. Antibody-mediated mi-

crocirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 2009; 9 (11): 2520-2531

13. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant* 2012; 12 (5): 1157-1167

14. Papadimitriou JC, Drachenberg CB, Ramos E et al. Antibody-mediated allograft rejection: morphologic spectrum and serologic correlations in surveillance and for cause biopsies. *Transplantation* 2013; 95 (1): 128-136

15. Yamanaga S, Watarai Y, Yamamoto T et al. Frequent development of subclinical chronic antibody-mediated rejection within 1 year after renal transplantation with pre-transplant positive donor-specific antibodies and negative CDC crossmatches. *Hum Immunol* 2013; 74 (9): 1111-1118

16. Halloran PF, Merino Lopez M, Barreto Pereira A. Identifying subphenotypes of antibody-mediated rejection in kidney transplants. *Am J Transplant* 2016; 16 (3): 908-920

17. Halloran PF, Famulski KS, Chang J. A probabilistic approach to histologic diagnosis of antibody-mediated rejection in kidney transplant biopsies. *Am J Transplant* 2016; Jun 24: Epub ahead of print

18. Fotheringham J, Angel CA, McKane W. Transplant glomerulopathy: morphology, associations and mechanism. *Nephron Clin Pract* 2009; 113 (1): c1-7

19. Drachenberg CB, Papadimitriou JC. Endothelial injury in renal antibody-mediated allograft rejection: a systematic view based on pathogenesis. *Transplantation* 2013; 95 (9): 1073-1083

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

21. Храброва МС, Добронравов ВА, Набоков АВ и др. Микроваскулярное воспаление как прогностический фактор при трансплантации почки. *Нефрология* 2015; 19 (5): 34-41 [Khrabrova MS, Dobronravov VA, Nabokov AV i dr. Mikrovaskulyarnoe vospalenie kak prognosticheskiy faktor pri transplantacii pochki. *Nefrologiya* 2015; 19 (5): 34-41]

22. 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

23. Bagnasco SM, Zachary AA, Racusen LC et al. Time course of pathologic changes in kidney allografts of positive crossmatch HLA-incompatible transplant recipients. *Transplantation* 2014; 97 (4): 440-445

24. Tsuji T, Yanai M, Itami H et al. Microvascular inflammation in early protocol biopsies of renal allografts in cases of chronic active antibody-mediated rejection. *Nephrology (Carlton)* 2015; 20 Suppl 2: 26-30

25. Miura M, Harada H, Fukasawa Y et al. Long-term histopathology of allografts in sensitized kidney recipients. *Clin Transplant* 2012; 26 Suppl 24: 32-36

26. Collaborative Transplant Study [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.ctstransplant.org/public/graphics/sample.shtml>

27. Бикбов БТ, Томилина НА. Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью методами перитонеального диализа и трансплантации почки в Российской Федерации в 1998-2011 г. (Отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии. Часть вторая). *Нефрология и диализ* 2014; 16 (2): 192-227 [Bikbov BT, Tomilina NA. Zamestitelnaya terapiya bolnich s

khronicheskoy pochechnoy nedostatochnosti metodami peritonealnogo dializa i transplantacii pochki v Rossiyskoy Federacii v 1998-2011 g. (Otchet po dannim Rossiyskogo registra zamestitelnoy pochechnoy terapii. Chast vtoraya). *Nefrologiya i dializ* 2014; 16 (2): 192-227]

Сведения об авторах:

Храброва Мария Сергеевна, к.м.н.

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра пропедевтики внутренних болезней, ассистент. Тел.: (812) 3380165, E-mail: hlabrovamc@gmail.com

Maria S. Khrabrova, MD, PhD

Affiliations: 197022, Russia, Saint-Petersburg, Str. Leo Tolstoy, 17 build 54. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University, Department of Propedeutics of Internal Diseases Assistant prof. Phone: +78123380165

Мухаметдинова Анастасия Олеговна

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова. E-mail: muhametdinovanastya@mail.ru

Anastasiya O. Muhametdinova

Affiliations: 197022, Russia, Saint-Petersburg, Str. Leo Tolstoy, 6/8. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University.

Доц. Сиповский Василий Георгиевич, к.м.н.

197089, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17. Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. Тел./факс: +7 812 234-67-23 Associate prof. Vassili G. Sipovski MD, PhD.

Affiliations: 197089, Russia, Saint-Petersburg, Str. Leo Tolstoy, 17. Research Institute of Nephrology I.P.Pavlov Medical State University. Phone: +7 812 234 67 23

Проф. Добронравов Владимир Александрович, д.м.н.

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17. Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. заместитель директора. E-mail: dobronravov@nephrolog.ru

Prof. Vladimir A. Dobronravov, MD, PhD, DSc

Affiliations: 197022, Russia, Lva Tostogo str. 17, Research Institute of Nephrology Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, vice director. E-mail: dobronravov@nephrolog.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 20.05.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.