

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ МОСКОВСКИЙ
ОБЛАСТНОЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ
ИНСТИТУТ имени М.Ф. Владимирского**

На правах рукописи

**ФАЕНКО
Александр Павлович**

**Отдаленные результаты применения трансляционной клеточной
иммунотерапии при аллотрансплантации трупной почки**

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

**Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:
доктор медицинских наук
А.Б. Зилькарнаев**

Москва 2018

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ МЕХАНИЗМОВ ОТТОРЖЕНИЯ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ И ФОТОФЕРЕЗ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	11
1.1 Отторжение в позднем посттрансплантационном периоде.....	11
1.2 Механизмы развития отторжения почечного аллотрансплантата.....	17
1.3 Иммунологическая толерантность.....	25
1.4 Экстракорпоральная фотохимиотерапия.....	29
1.5 Заключение по обзору литературы.....	39
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МЕТОДИКА ТРАНСЛЯЦИОННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1 Клиническая характеристика больных.....	41
2.2 Иммуносупрессивная терапия	45
2.3 Методика проведения процедуры трансляционной клеточной иммунотерапии.....	46
2.4 Методы исследования и используемые средства.....	47
2.5 Статистическая обработка клинического материала.....	49
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСЛЯЦИОННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ТРУПНОЙ ПОЧКИ	50
3.1 Функция почечного трансплантата	50
3.2 Частота и тяжесть отторжения почечного аллотрансплантата.....	53
3.3 Инфекционные осложнения.....	61
3.4 Заключение по главе.....	75
ГЛАВА 4. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ, ЛЕКАРСТВЕННАЯ ИММУНОСУПРЕССИВНАЯ ТЕРАПИЯ, ВЫЖИВАЕМОСТЬ ТРАНСПЛАНТАТОВ И РЕЦИПИЕНТОВ	76

4.1 Особенности иммуносупрессивной терапии в двух группах.....	76
4.2 Результаты иммунологических тестов.....	78
4.3 Выживаемость почечного аллотрансплантата.....	83
4.4 Выживаемость реципиентов и бессобытийная выживаемость.....	91
4.5 Заключение по главе.....	93
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	94
ВЫВОДЫ.....	103
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	104
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Длительность функционирования почечного аллотрансплантата (ПАТ) зависит от множества факторов, определяемых особенностями трансплантата, течением раннего и позднего послеоперационного периода.

Одна из основных причин потери трансплантата – хроническая трансплантационная нефропатия (ХТН), проявляющаяся прогрессирующей дисфункцией. Морфологическим субстратом этого процесса является нефросклероз [26; 28]. Несмотря на совершенствование схем иммуносупрессивной терапии, наиболее частой причиной ХТН является реакция отторжения в отдаленные сроки после аллотрансплантации трупной почки (АТП) в результате развития иммунной реакции по типу «хозяин против трансплантата» [20; 28]. Другие причины ХТН: инфекционные заболевания, патогенетические факторы исходного заболевания, нефротоксичность иммуносупрессивных препаратов, артериальная гипертензия и нефросклероз [27; 108]. Большая часть осложнений напрямую или косвенно связана с медикаментозной иммуносупрессией.

На современном этапе развития трансплантологии медикаментозная иммуносупрессия является безальтернативным методом предупреждения и лечения реакции отторжения ПАТ. В связи с этим возникает необходимость поиска новых альтернативных подходов к лечению пациентов после АТП, способствующих снижению медикаментозной иммуносупрессивной нагрузки без увеличения частоты реакции отторжения трансплантата, инфекционных и онкологических осложнений.

Одним из таких методов является трансляционная клеточная иммунотерапия (ТКИ) [31; 32]. Данный метод представляет собой модификацию экстракорпоральной фотохимиотерапии (ЭФХТ) и впервые был применен R. Edelson в 1987 году для терапии Т-клеточной лимфомы кожи [73]. При пересадке солидных органов ЭФХТ используется в терапии и

профилактике острого и хронического отторжения, снижая частоту развития оппортунистической и вирусной инфекции при трансплантации сердца [49] и легких [50; 100]. ЭФХТ широко используется при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [132], как эффективное средство лечения реакции «трансплантат против хозяина». Немногочисленные публикации в мировой литературе по анализу эффективности данного метода в комплексной терапии острого отторжения ПАТ свидетельствуют о его положительном воздействии на купирование клинических и иммунологических симптомов отторжения [117], что создает благоприятные условия для редукции иммуносупрессивной терапии и снижения риска возникновения инфекционных осложнений [32; 49]. Комбинированное применение ТКИ со стандартной иммуносупрессивной терапией улучшило показатели раннего посттрансплантационного периода, снизив частоту реакции острого отторжения, инфекционных осложнений и улучшив показатели ранней функции аллотрансплантата [31].

В настоящее время отсутствуют работы, посвященные долгосрочным результатам применения ТКИ при трансплантации почки. Представленные данные являются подтверждением необходимости дальнейшего изучения механизмов тканевой толерантности, совершенствованию протоколов ТКИ. Это позволит определить критерии для безопасного снижения иммуносупрессивной терапии. Сокращение иммуносупрессивной медикаментозной нагрузки поможет увеличить срок функционирования трансплантата, снизить количество побочных реакций, частоту инфекционных и онкологических осложнений, улучшить качество жизни пациентов.

Цель исследования. Изучить влияние трансляционной клеточной иммунотерапии на отдаленные результаты трансплантации почки.

Задачи исследования. Для реализации цели исследования были поставлены следующие задачи:

1. Провести сравнительный анализ динамики клинико-лабораторных показателей функции трансплантата у больных на фоне раннего проведения

трансляционной клеточной иммунотерапии и у больных, получающих стандартную иммуносупрессивную терапию.

2. Проанализировать влияние трансляционной клеточной иммунотерапии на частоту эпизодов отторжения трансплантата в сопоставлении с данными морфологического исследования, а также на частоту инфекционных осложнений в позднем послеоперационном периоде.

3. Оценить возможность и условия безопасного снижения медикаментозной иммуносупрессивной терапии в позднем послеоперационном периоде.

4. Изучить иммунологические маркеры, раскрывающие механизмы частичной тканевой толерантности к почечному трансплантату в отдаленном посттрансплантационном периоде на фоне раннего профилактического применения протоколов трансляционной клеточной иммунотерапии.

5. Оценить влияние профилактического применения трансляционной клеточной иммунотерапии на долгосрочные результаты трансплантации почки.

Связь исследования с планом научных исследований, проводимых в институте. Исследование проводится в рамках НИР 2014-2018 хирургического отделения трансплантологии и диализа ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского «Повышение эффективности оказания трансплантологической помощи путем разработки и внедрения трансляционной клеточной иммунотерапии и селективных методов гемокоррекции».

Научная новизна. Впервые на основе принципов доказательной медицины проведена сравнительная оценка раннего профилактического применения ТКИ на функциональное состояние почечного трансплантата в позднем послеоперационном периоде.

Впервые проанализировано влияние раннего применения ТКИ на риск отторжения трансплантата и инфекционных осложнений в позднем послеоперационном периоде.

Выявлены новые иммунологические маркеры, позволяющие оценить устойчивость толерогенного эффекта ТКИ в отдаленном посттрансплантационном периоде.

Доказана возможность безопасного снижения медикаментозной иммуносупрессивной терапии в позднем послеоперационном периоде на фоне профилактического применения ТКИ (приоритетная справка на изобретение № 2018112320 от 05.04.2018 г).

В результате проведенного исследования доказана возможность повышения долгосрочной выживаемости реципиентов и трансплантатов путем применения комбинированной иммунотерапии.

Практическая значимость. Раннее профилактическое применение ТКИ позволило значительно улучшить функциональное состояние почечного трансплантата в позднем послеоперационном периоде.

Комбинированное применение ТКИ и стандартной иммуносупрессии позволило значительно снизить риски развития инфекционных осложнений и увеличить срок функционирования почечного аллотрансплантата.

Разработанные в результате проведенной работы критерии частичной иммунологической толерантности, позволили индивидуализировать иммуносупрессивную терапию и определить группу больных, у которых возможна частичная редукция иммуносупрессии без повышения риска развития отторжения трансплантата.

Безопасное снижение медикаментозной иммуносупрессивной терапии позволило значительно улучшить результаты трансплантации почки в результате профилактики специфических осложнений.

Проведение комбинированной иммунотерапии позволило повысить долгосрочную выживаемость реципиентов и почечного трансплантата.

Основные положения, вынесенные на защиту.

- Адьювантное применение трансляционной клеточной иммунотерапии позволяет улучшить функциональное состояние почечного трансплантата в позднем послеоперационном периоде.

- Раннее профилактическое применение трансляционной клеточной иммунотерапии снижает частоту и тяжесть инфекционных осложнений и эпизодов отторжения трансплантата.
- Проведение трансляционной клеточной иммунотерапии позволяет повысить долгосрочную выживаемость почечного трансплантата.

Внедрение в практику. Полученные результаты внедрены в практическую деятельность хирургического отделения трансплантологии и диализа, отделения хирургической гемокоррекции и детоксикации ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, отделение анестезиологии и реанимации ГБУЗ МО «Чеховской районной больницы №1», отделение реанимации и интенсивной терапии ФГАУЗ больницы Пущинского научного центра РАН.

Личный вклад соискателя. Автор принимал активное участие в консультативной и лечебной работе по ведению больных с осложнениями после трансплантации почки. Анализ полученных результатов и написание всех разделов работы выполнены лично соискателем. Автор лично выполнил 238 процедур трансляционной клеточной иммунотерапии у 19 пациентов с почечным аллотрансплантатом.

Все публикации по теме диссертационной работы написаны лично соискателем. Соавторы публикаций оказывали методическую и консультативную помощь, содействовали в подборе пациентов и оформлении работы.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов обеспечена достаточным объемом клинических исследований (60 реципиентов почечного трансплантата) с использованием современных клинических, лабораторных и инструментальных методов исследований. Подготовка и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представленными в приведенных таблицах и графиках.

Апробация работы состоялась 13.06.2018 года на совместном заседании секции «Хирургия» Ученого совета, хирургического отдела трансплантологии и диализа, курса клинической трансфузиологии при кафедре анестезиологии и реанимации факультета усовершенствования врачей государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены:

- Комплексный творческий молодежный коллектив института ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского «Трансляционная клеточная иммунотерапия и фотоферез в клинической практике» - Москва, 2014.
- Международной научно-практической конференции Центрального Федерального округа РФ совместно с 23-й конференцией Московского общества гемафереза «Актуальные вопросы нефрологии, диализа, хирургической гемокоррекции и гемафереза» - Москва-Тверь, 2015.
- Международной научно-практической конференции Центрального Федерального округа РФ «Нефрологические и хирургические проблемы трансплантации почки и диализа совместно с конференцией молодых ученых и специалистов молодая трансплантология» - Москва, 2016.
- Международной научно-практической конференции Центрального Федерального округа РФ «Актуальные вопросы нефрологии и заместительной почечной терапии» - Москва-Углич, 2017.
- Научно-практической конференции Центрального Федерального округа РФ «Нефрологические и хирургические проблемы трансплантации почки и диализа» совместно с конференцией молодых ученых и специалистов «Молодая трансплантология и нефрология» – Москва, 2017.
- 18 Международный конгресс Европейского общества трансплантологов (ESOT) - Барселона, Испания, 2017.

- 54 Международном конгрессе Европейского общества нефрологов ERA-EDTA – Мадрид, Испания, 2017.
- 55 Международном конгрессе Европейского общества нефрологов ERA-EDTA – Копенгаген, Дания, 2018 г.
- 27 Международный конгресс Общества трансплантации, 2018, Мадрид. (27th International Congress of The Transplantation Society)

Работа выполнена в отделе трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции (руководитель отдела д.м.н., профессор А.В. Ватазин) и на курсе клинической трансфузиологии при кафедре анестезиологии и реаниматологии факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (заведующий курсом д.м.н., профессор А.В. Кильдюшевский).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них - 5 статей в журналах, рецензируемых ВАК РФ, 1 учебное пособие, разработан способ профилактики отторжения трансплантата трупной почки (приоритетная справка на изобретение № 2018112320 от 05.04.2018 г.).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста, иллюстрирована 19 рисунками, 12 таблицами и состоит из введения, обзора литературы, клинической характеристики больных и 2 глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 198 источников, в том числе 34 отечественных и 164 зарубежных.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ ДИСФУНКЦИИ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ, ПАТОГЕНЕЗ И КОРРЕКЦИЯ РАЗВИТИЯ ОТТОРЖЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Отторжение в позднем посттрансплантационном периоде

Трансплантация почки является лучшим методом заместительной почечной терапии у пациентов, достигших терминальной стадии хронической почечной недостаточности (ХБП 5ст.) [3; 7; 28]. В сравнении с программным гемодиализом и перитонеальным диализом, трансплантация почки обладает более высокой клинической эффективностью, увеличивает продолжительность жизни и улучшает качество жизни больных ХБП 5 ст. [33, 19, 24]. Трансплантация также эффективнее с позиции экономических затрат [33, 24]. Однако обеспечить всех больных ХБП 5ст. трансплантатом не представляется возможным, прежде всего в виду недостаточного развития органного донорства [1, 9, 7, 8].

Согласно данным Общероссийского Регистра заместительной почечной терапии Российского диализного общества [29] на 2015 год в листе ожидания на трансплантацию состояло 6016 больных, но лишь у 15,7% из них была выполнена трансплантация. В целом отмечается некоторая тенденция как к увеличению роста пациентов, поступающих в лист ожидания на трансплантацию, так и осуществления самих трансплантаций [9, 5, 7]. Однако, темп прироста числа реципиентов почечного трансплантата за 2015 год и, соответственно прирост обеспеченности почечного аллотрансплантата (ПАТ), отставали от темпов прироста больных на диализе, что также является указанием на недостаточную обеспеченность населения России трансплантацией почки [29]. Приблизительно 5-10% реципиентов в течение 1 года после пересадки почки возвращаются к программному гемодиализу в связи с дисфункцией трансплантата [19], а с увеличением сроков после

трансплантации таких пациентов становится все больше [103]. Поэтому представляется крайне важным обеспечить сохранность функции ПАТ.

Длительность функционирования трансплантата зависит от множества факторов, определяющихся особенностями самого трансплантата, течением раннего послеоперационного периода и наличием сопутствующей патологии реципиента. Основная причина потери трансплантата в отдаленные сроки – смерть больного (с функционирующим трансплантатом) преимущественно от сердечно-сосудистых заболеваний [137]. Помимо сердечно-сосудистых заболеваний, пациенты с трансплантатом часто погибают от инфекционных осложнений, опухолей и других причин - рисунок 1.1 [4, 25, 121, 143, 194].

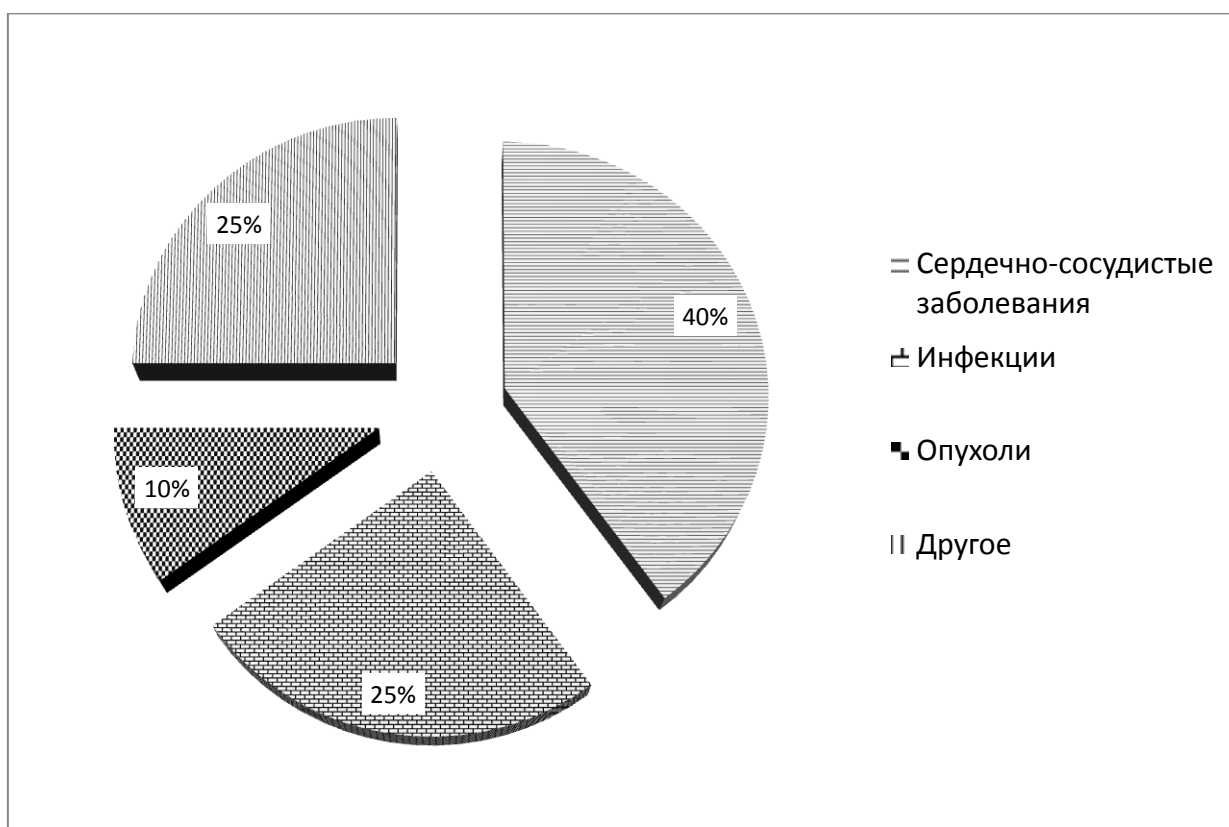


Рисунок 1.1 - Основные причины смерти пациентов с функционирующим трансплантатом

Другая значимая причина утраты функции трансплантата – его хроническая дисфункция. Это собирательный термин, под которым все причины, приводящие к ней, могут быть разделены на антиген-зависимые и антиген-независимые [4]. К первой группе относятся все проявления острого и хронического отторжения трансплантата: клеточной, гуморальной или

смешанной природы. Ко второй группе относятся токсичность ингибиторов кальциейрина, гиперлипидемия, ишемическое повреждение ПАТ, артериальная гипертензия, инфекции, протеинурия, заболевание *de novo* и другие. Зачастую в развитии хронической дисфункции ПАТ играют роль сразу несколько факторов, которые постепенно приводят к потере функции трансплантата.

Позднее отторжение трансплантата может проходить как в острой, так и в хронической форме. Форма, по которой развивается отторжение, не зависит от времени начала развития отторжения с момента трансплантации, она характеризует лишь скорость, с которой развивается реакция иммунного ответа.

Острое отторжение ПАТ характеризуется некрозом клеток паренхимы и нарушением функции органа в целом. В зависимости от преобладания одного из механизмов выделяют два основных варианта острого отторжения трансплантата: клеточно-опосредованное и гуморальное.

В процессе клеточно-опосредованного отторжения происходит инфильтрация тканей почки активированными Т-лимфоцитами с последующим повреждением различных структур почечной паренхимы (интерстиция, канальцев, стенок сосудов, клубочков), которые могут вовлекаться в данный процесс либо по отдельности, либо в различных комбинациях [27].

Значимым признаком развития гуморального отторжения является взаимодействие антидонорских антител с антигенами, расположенными на поверхности эндотелиальных клеток, с последующей активацией системы комплемента и привлечением в очаг повреждения нейтрофилов. Тяжелое повреждение эндотелиальных клеток вследствие данных событий приводит к развитию некроза сосудистой стенки и тромбоза [27]. «Чистое» гуморальное отторжение является весьма редкой патологией и, как правило, протекает в сочетании с клеточно-опосредованной формой [155]. При этом, по данным различных авторов, потери трансплантата при клеточном варианте отторжения

не превышают 4–7%, тогда как при наличии гуморального компонента этот показатель возрастает до 30–50% [95, 128].

В отличие от острого отторжения ПАТ хроническое отторжение характеризуется персистирующей, вялотекущей иммунной реакцией с вовлечением клеточных и/или гуморальных механизмов, ведущих к постепенному развитию и прогрессированию нефросклероза. При этом основной мишенью для развития хронического отторжения трансплантата являются эндотелиальные клетки с их характерными морфологическими изменениями в капиллярах клубочков, интима сосудов и перитубулярных капиллярах [27].

К клиническим признакам развития отторжения почечного аллотрансплантата можно отнести повышение температуры тела, гриппоподобный синдром (боль в суставах, ломота в мышцах, слабость, разбитость). Больного беспокоит чувство тяжести в области трансплантата, дискомфорт в животе и чувство вздутия живота. При пальпации зачастую отмечается увеличение размеров трансплантата и его уплотнение. Также возможно повышение артериального давления и снижение диуреза, могут появиться периферические отеки и увеличиться масса тела. Резкое и внезапное развитие клинических симптомов зачастую свидетельствует о развитии острого отторжения и требует от врача четкой дифференциальной диагностики. Течение хронического отторжения более сглажено и может приводить к снижению почечной функции без каких-либо других клинических симптомов.

Постоянное мониторирование почечной функции по лабораторным данным в позднем послеоперационном периоде позволяет контролировать приверженность пациента к иммуносупрессивной терапии, своевременно обнаруживать признаки острого или хронического отторжения, в тот момент, когда они еще могут быть обратимы. В клиническом анализе крови при развитии отторжения может возникать лейкоцитоз, лимфоцитоз и резкое ускорение СОЭ, однако прием некоторых иммунодепрессантов может сопровождаться лейкопенией [30]. Острое отторжение ПАТ сопровождается

ростом уровня креатинина в крови более чем на 25%, резким увеличением уровня мочевины крови, сдвигом кислотно-основного состояния крови в сторону ацидоза и гиперкалиемией. В анализе мочи обнаруживаются признаки протеинурии [4].

Инструментальные методы исследования пациентов с подозрением на реакцию отторжения ПАТ обязательно включают ультразвуковое исследование с доплерографией, а также пункционную биопсию [21].

Ультразвуковые изменения, выявляемые при развитии острого отторжения, могут включать следующие признаки: увеличение размеров почки, нарушение кортикомедуллярной дифференцировки, снижение эхогенности почечного синуса, утолщение стенки лоханки, пирамиды увеличиваются и становятся более заметными. Эхогенность коры может быть повышена или понижена, иногда остается гетерогенной за счёт кровоизлияний. При хроническом отторжении с постепенным снижением почечной функции трансплантат обычно уменьшается в размере, кортикальный слой при этом изоэхогенен или гиперэхогенен и истончен [4]. К доплерографическим признакам как хронического, так и острого отторжения, относят высокий индекс резистивности (RI) и его увеличение больше 0,9 со снижением диастолического кровотока [23].

К сожалению, известные методы неинвазивного обследования недостаточно чувствительны и неспецифичны для диагностики острого и хронического отторжения, поэтому пункционная биопсия по-прежнему остается «золотым стандартом» дифференциальной диагностики патологических состояний ПАТ [21; 26; 30].

В настоящее время наиболее широко используется Banff-классификация патологии почечного трансплантата, которая была принята в городе Banff в 1993 г. и в дальнейшем пересмотрена в 1997, 2002, 2005, 2007 и 2012 гг. [167,174]. В основу данной классификации была положена полуколичественная оценка отдельных элементов повреждения почечной ткани (таких как интерстициальная инфильтрация, тубулит, интимальный артериит и др.), на

основании которой были сформулированы критерии острого отторжения и выделены различные его варианты [27].

В отношении поздней дисфункции трансплантата в Banff-классификации были предложены критерии хронического отторжения, позволяющие выделить нефросклероз, развивающийся вследствие специфических иммунных механизмов [17].

В результате оценки биопсийного материала можно диагностировать специфическую патологию пересаженной почки: острое и хроническое отторжение, нефротоксичность ингибиторов кальциейрина, вирусное поражение трансплантата, обструктивную нефропатию и заболевания *de novo*. Особенную ценность биопсия представляет в диагностике изолированных композитов C4d компонента комплемента и субклинических форм реакций отторжения [26].

Как правило, более сильная иммуносупрессивная терапия может снизить риск отторжения трансплантата, но также может увеличить риск инфекции и возникновения опухолей [30]. Отмена иммуносупрессии приводит к утрате ПАТ. Поэтому для снижения риска развития данных осложнений необходимо обеспечить адекватный объем иммуносупрессии, а также вовремя выявлять и контролировать сопутствующие заболевания: сахарный диабет, атеросклероз, артериальную гипертензию и другие [76, 169].

Важным направлением в развитии трансплантологии становится поиск способов формирования иммунологической толерантности, при котором появится возможность полной или частичной отмены иммуносупрессии без развития риска отторжения [2, 13, 71, 152].

1.2 Механизмы развития отторжения почечного аллотрансплантата

Одной из главных проблем при аллотрансплантации трупной почки (АТП) по-прежнему остается риск развития отторжения ПАТ. Независимо от срока трансплантации все реципиенты с аллогенной почкой подвержены риску развития как острого, так и хронического отторжения.

В настоящее время медикаментозная иммуносупрессия является единственным методом профилактики и лечения отторжения ПАТ. Совершенствование схем и протоколов иммуносупрессии помогло снизить риск развития данного осложнения [25, 66, 140]. Однако полностью проблема отторжения не была решена, а токсичность и побочные эффекты иммуносупрессантов вынуждают работать над поиском новых препаратов и методов лечения [4].

Отторжение трансплантированных тканей происходит в результате того, что иммунная система реципиента распознает чужеродные тканевые антигены гистосовместимости на клетках трансплантата и реагирует на них определенным образом [22].

Молекулярные исследования по приживлению и отторжению пересаженных тканей на животных моделях привели к открытию молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС). Данный комплекс кодируется генами на коротком плече шестой хромосомы [22]. Продукты генов – антигены или молекулы МНС обладают крайне выраженным полиморфизмом [11]. Обнаружено, что при сингенных трансплантациях, например, при трансплантации тканей между однояйцевыми близнецами, которые имеют одинаковые молекулы МНС, как правило, отторжения не происходит. В то время как при аллогенных трансплантациях, при которых донор и реципиент различаются по антигенам МНС, отсутствие приема иммуносупрессивной терапии приведет к неминуемому отторжению [18].

Существуют три типа молекул МНС: класса I, класса II и класса III. В человеческом организме гены МНС называются генами лейкоцитарных

антигенов человека (*human leukocyte antigen – HLA*). Наиболее важными в трансплантологии являются молекулы HLA – рисунок 1.2 [11]:

- Класс I – HLA-A, HLA-B и HLA-C
- Класс II – HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR
- Класс III – компоненты системы комплемента C2, C4, ФНО и др.

Молекулы МНС I класса располагаются практически на всех ядродержащих клетках и презентируют пептид, состоящий из 9-11 аминокислот. Молекулы МНС II класса обнаруживаются только на специализированных антигенпрезентирующих клетках (АПК) дендритных клетках, а также, В-лимфоцитах и макрофагах. Данные молекулы связывают пептиды длиной 13-30 аминокислот [58]. Экспрессия антигенов МНС значительно увеличивается под действием цитокинов: интерферона- γ и фактора некроза опухолей (ФНО), что безусловно играет важную роль в развитии иммунологической реакции [82, 196]. Молекулы МНС III класса имеют меньшее значение в трансплантации, так как кодируют продукты врожденного иммунитета.

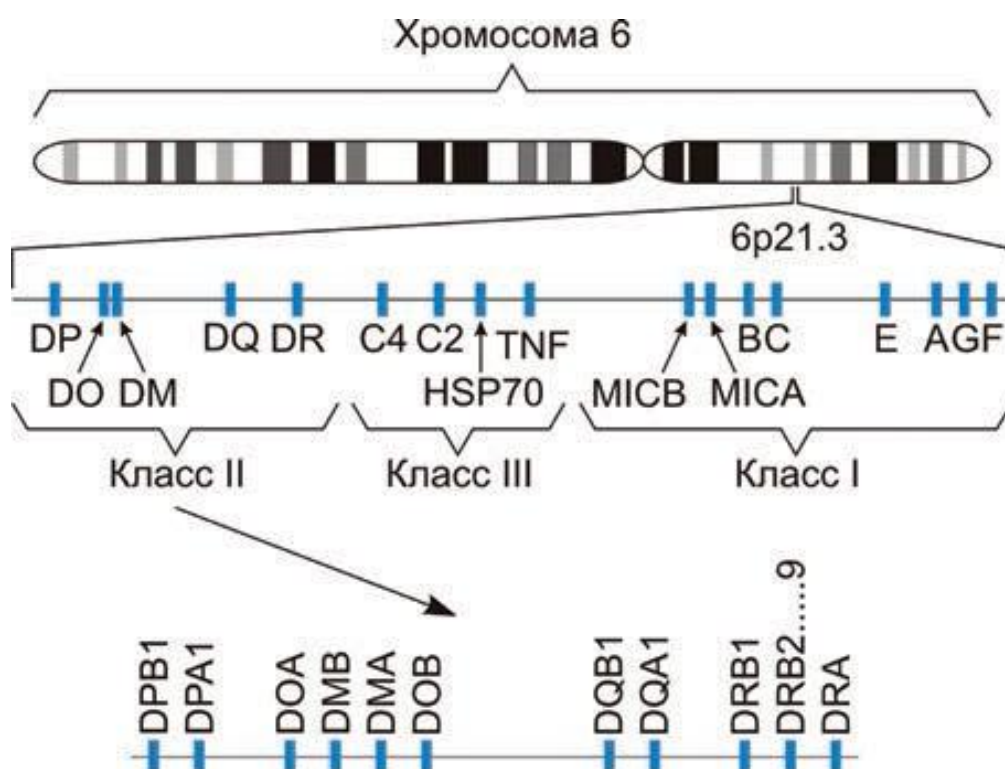


Рисунок 1.2 - Главный комплекс гистосовместимости [11]

Молекулы МНС имеют две существенные особенности, использующиеся в трансплантационной иммунологии [4]. Первая заключается в том, что всякий локус в молекуле МНС полиморфен. Различия в молекулах HLA-A1 и HLA-A2 вполне достаточно для запуска реакции отторжения. Совокупность разных молекул МНС (аллелей), экспрессируемых одной хромосомой, называется гаплотипом. Генотип – сумма двух гаплотипов. Второй особенностью является кодоминантность экспрессии генов МНС, т.е. у каждого индивидуума в каждом локусе проявляются аллели обеих хромосом - рисунок 1.3 [11]. Поэтому согласно законам Менделя, трансплантат, пересаженный от родителей, отторгается их потомками и наоборот.

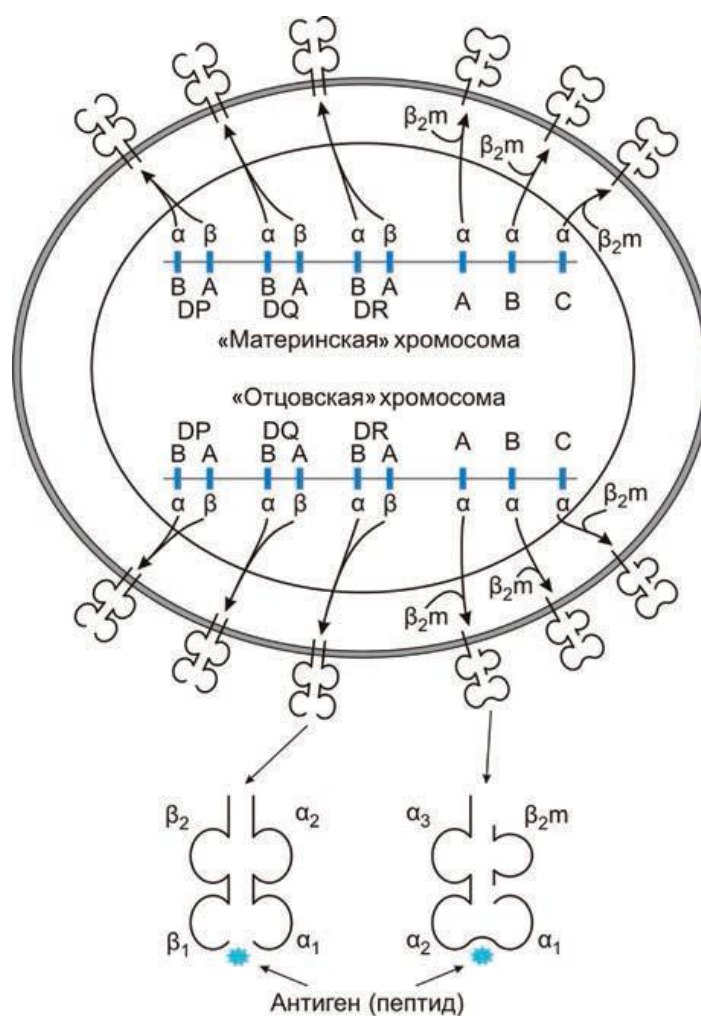


Рисунок 1.3 - Гены системы HLA и их продукты [11]

Несовместимость МНС донора и МНС реципиента вызывает иммунный ответ, направленный против трансплантата и приводящий в конечном итоге к его разрушению. Также помимо антигенов МНС выделяют минорные антигены

гистосовместимости. Они, по-видимому, играют небольшую роль в процессе отторжения, за исключением тех случаев, когда главные комплексы гистосовместимости совпадают, но имеется ряд незначительных отличий в минорных антигенах гистосовместимости. В этих случаях также может произойти отторжение трансплантата. О минорных антигенах человека известно очень мало, однако существуют сообщения, что несовпадение по данной системе антигенов у однояйцевых близнецов приводит к отторжению трансплантата [34, 141].

Основная функция МНС - участие в инициации Т-клеточного иммунного ответа через распознавание Т-клеточным рецептором (Ткр) комплекса МНС-пептид [124]. Трансплантированные органы экспрессируют молекулы МНС донора, в результате чего происходит распознавание аллоантигенов трансплантата по двум путям - рисунок 1.4 [53].

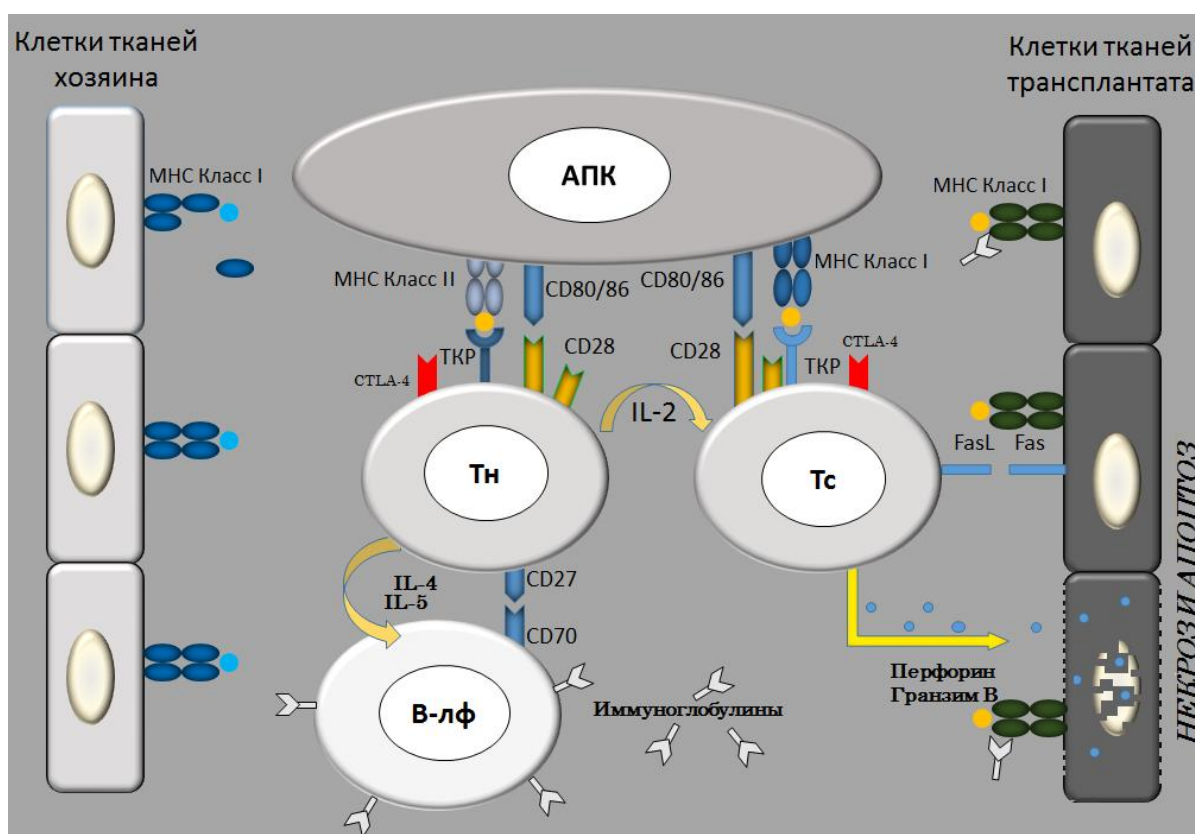


Рисунок 1.4 - Пути распознавание аллоантигена и механизмы отторжения
 АПК – антигенпрезентирующие клетки, Тн – Т-хелперы, Тс – Т-цитотоксические клетки, В-лф – В-лимфоциты, МНС – молекулы главного комплекса гистосовместимости.

Прямое распознавание происходит через взаимодействие Т-лимфоцитов реципиента и аллогенных молекул МНС, экспрессированных на донорских клетках. Такое взаимодействие объясняется молекулярной мимикрией, т.е. аллогенные молекулы напоминают собственные МНС, поэтому пептид, который они презентируют, легко распознается Т-лимфоцитами реципиента [136]. При этом в распознавании Ткр может участвовать не только пептид, погруженный в молекулу МНС, но также и часть донорской молекулы МНС [4].

В непрямом или косвенном пути Т-лимфоциты реципиента распознают чужеродный антиген через собственные АПК, которые презентируют подвергшиеся катаболизму молекулы МНС донора. В целом косвенный путь похож на нормальный процесс представления бактериального антигена [39].

Полагают, что прямой путь может быть ответственен за развитие острого отторжения, в то время как косвенный путь играет доминирующую роль в процессе хронического отторжения [107, 162].

В реакции клеточного отторжения основное участие принимают два типа клеток: CD8 и CD4 Т-лимфоциты. CD4-клетки, так называемые Т-хелперные лимфоциты (T_H), считаются наиболее значимыми в инициации и регуляции отторжения трансплантата [182]. Независимо от пути распознавания молекулы МНС, активированные T_H лимфоциты делятся и продуцируют различные цитокины, служащие как факторами роста, так и факторами активации CD8 цитотоксических Т-клеток (T_C), В-лимфоцитов и макрофагов, которые вызывают разрушение трансплантата [107, 174]. T_C также способны к секреции цитокинов, однако, этой секреции без влияния T_H недостаточно для запуска отторжения [22]. Основная функция T_C - прямой лизис клеток донора. Активированные макрофаги и T_H клетки сами по себе способны привести к отторжению трансплантата через развитие реакции гиперчувствительности замедленного типа [182]. В-лимфоциты ответственны за выработку антител, которые, связываясь со своим специфическим антигеном, принимают участие в развитии гуморального отторжения [157].

В инициации иммунологической реакции, помимо взаимодействия Ткр с молекулой МНС и ее пептидом, принимает участие большой ряд молекул коактивации - рисунок 1.5 [75]. Полная активация Т-лимфоцитов возможна только при взаимодействии и работе двух отдельных, но синергичных сигналов [72]. Первый сигнал заключается в том, что антигены, представляемые через молекулы МНС - Т-клеточному рецептору, характеризуют специфичность иммунного ответа. Второй, или костимуляторный сигнал - антигеннеспецифический, однако, от него зависит характер направленности иммунного ответа. Существует множество молекул для формирования костимуляторных сигналов. Вместе с тем наибольшее значение придается молекулам CD28/CTLA-4/B7 [54; 184]. CD28 имеет два известных лиганда: B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86), оба из которых экспрессированы прежде всего на активированных АПК [52]. Помимо этого Т-лимфоциты также презентруют CTLA-4 (цитолитический Т – лимфоцитарный антиген), молекулу, структурно схожую с CD28, которая способна связывать молекулы B7-1 и B7-2 [185]. Однако, в отличие от CD28, CTLA-4 передает тормозящий сигнал, который вызывает прекращение иммунного ответа [183].

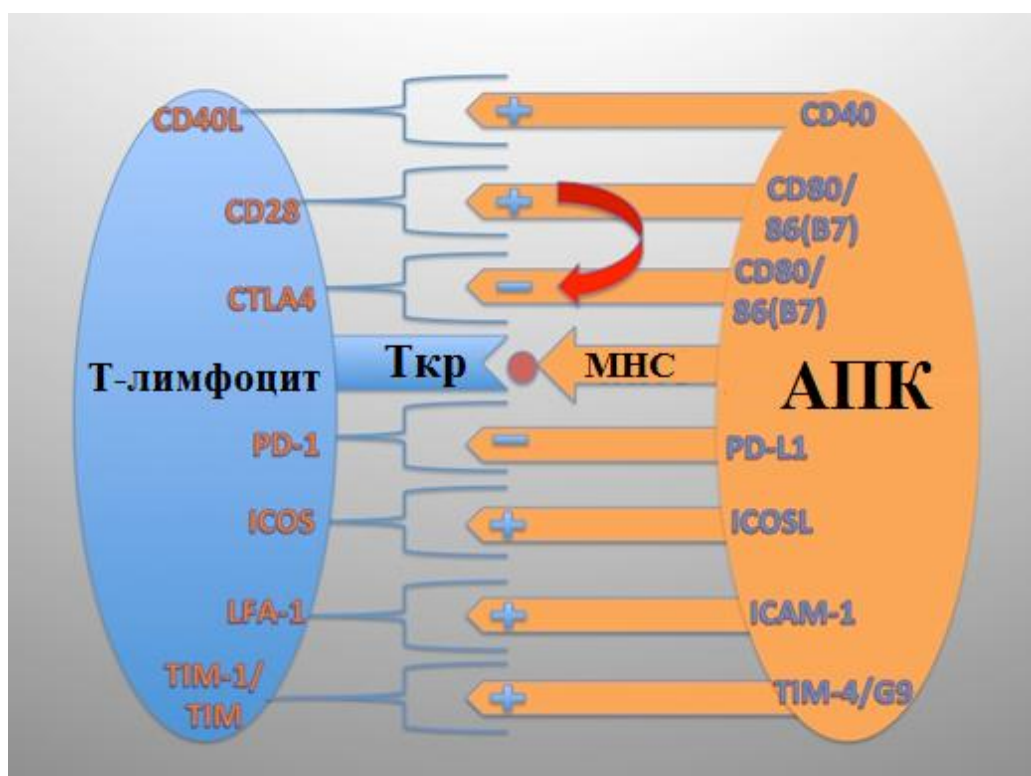


Рисунок 1.5 - Пути коактивации Т-клеток

Покоящиеся Т-лимфоциты постоянно экспрессируют CD28, хотя и в значительно меньшем количестве без предварительной стимуляции, в то же время покоящиеся АПК не презентуют молекулы В7 [22, 120]. В течение шести часов после активации АПК экспрессируют молекулы В7-2, а через 48-72 часа - молекулу В7-1 [186]. Молекулы В7-1 и В7-2 могут связываться как с CD28, обеспечивая активацию иммунного ответа, так и с CTLA-4, вызывая тормозной сигнал. CTLA-4, обладая большей авидностью к коактивационным молекулам, связывает молекулы В7 с большим сродством, чем CD28, поэтому при снижении экспрессии молекулы CD28, тормозное взаимодействие CTLA-4/В7 в конечном итоге преобладает, что ведет к прекращению иммунного ответа [119].

Помимо основного пути передачи и второго костимуляционного сигнала CD28/В7 существуют другие вспомогательные пути, реализующиеся через попарное взаимодействие дополнительных молекул на мембранах Т_H лимфоцитов и АПК. При активации костимуляционного пути CD40-CD40L повышается экспрессия молекул В7 на АПК и усиливается выделение провоспалительных цитокинов, которые активируют Т-лимфоциты [166]. Если в качестве АПК выступает В-лимфоцит, то помимо передачи дополнительного костимуляционного сигнала на Т_H через CD40-CD40L. В результате такого взаимодействия происходит интенсивный обмен информацией между клетками, с последующей стимуляцией АПК, т.е. самого В-лимфоцита [80, 149].

Еще одним путем костимуляции Т- и В-лимфоцитов является взаимодействие молекул ICOS (Inducible T-cell COStimulator, CD278) с его лигандом ICOSL. ICOS является гомологом CD28, но экспрессируется только на активированных Т-лимфоцитах, в большей мере на Т_H-2 типа. Лигандом для ICOS является молекула В7h (CD275), структурно схожая с В7, однако, не способная взаимодействовать с CD28 и CTLA-4. Стимуляция Т-клеток по пути ICOS-В7h стимулирует пролиферацию клеток и выделение цитокинов.

Поскольку ICOS экспрессируется также и В-лимфоцитами, активация данного пути передачи сигнала может сопровождаться продукцией антител [94].

Взаимодействие молекул OX40 (CD134) и OX40L (CD252) является важным костимуляционным сигналом для Т-лимфоцитов, сравнимым по значимости с CD28-B7, и имеет ключевое значения для формирования CD4 аллореактивных клеток памяти. Активация OX40-OX40L пути, подобно пути CD40-CD40L, приводит к двунаправленной стимуляции клеток: активации и стимуляции пролиферации Т-лимфоцитов и повышению продукции провоспалительных цитокинов АПК [36, 118].

Сигнальные пути OX40-OX40L, CD40-CD40L играют важную роль в CD28-B7-независимой активации Т-лимфоцитов. При блокаде этих путей значительно уменьшается степень повреждения ПАТ [89]

При отсутствии костимуляторных сигналов, Т-лимфоциты, сталкиваясь с антигеном, подвергаются «неудачной» активации. Они не вырабатывают заметного количества цитокинов и не делятся, а вместо этого перестают отвечать на запросы соответствующей стимуляции на срок до нескольких недель, т.е. возникает анергия [190], или подвергаются запрограммированной клеточной смерти - апоптозу [83].

Помимо молекулы CTLA-4, тормозящим пролиферацию и активацию Т-лимфоцитов таким же свойством обладает белок PD-1 (CD279), который имеет два лиганда - PD-L1 (B7-H1, CD274) и PD-L2 (B7-DC, CD273). Активация данного сигнального пути ингибирует пролиферацию и продукцию цитокинов антигенспецифичных CD4 и CD8 лимфоцитов. Выраженность ингибирующего действия этих молекул зависит от наличия других костимуляционных сигналов, в частности CD28-B7. Блокирование данного сигнального пути ускоряет отторжение ПАТ, введение же PD-L1-Ig, тормозит реакцию отторжения [64]

Процессы передачи сигналов молекулярных взаимодействий между АПК и Т-лимфоцитов весьма многогранны, в зависимости от их результата происходит дальнейшая активация и дифференцировка, или анергия Т- и В-

лимфоцитов, а также других клеток, участвующих в развитии реакции отторжения ПАТ.

Современные иммуносупрессивные препараты направлены на блокирование одного из костимуляционных путей, к примеру, введение CTLA-4Ig нарушает взаимодействие между молекулами B7-CTLA-4, тем самым предотвращая отторжение [126]. Другие препараты воздействуют на внутриклеточные процессы активации Т-лимфоцитов. Ингибиторы кальцинейрина (такролимус, циклоспорин) прерывают дефосфорилирование NFAT (ядерного фактора активированных Т-лимфоцитов), благодаря чему NFAT не перемещается из цитоплазмы в ядро, и не происходит синтез провоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-2 [153].

Применяемые в настоящее время иммунодепрессанты обладают исключительно мощным, блокирующим отторжение действием, однако не один из них не является антигенспецифическим [4, 21, 30]. Именно поэтому при тотальной иммуносупрессии снижается устойчивость к инфекциям.

1.3 Иммунологическая толерантность

Иммунологическая толерантность – это состояние устойчивой ареактивности иммунной системы в отношении чужеродного или ауто-антигена, возникающее в результате предшествующего контакта с данным антигеном [22]. Активно функционирующие механизмы толерантности жизненно необходимы в процессе развития организма, так как они предотвращают развитие иммунных реакций против собственных и многих других антигенов, попадающих в организм с воздухом, пищей и т.д. Достичь поставленной цели помогают механизмы центральной и периферической толерантности - рисунок 1.6 [86, 115, 195].

В тимусе происходит формирования Т-лимфоцитов из клеток предшественников с еще неперестроенными генами Ткр. В процессе развития

лимфоцитов в тимусе данные гены подвергаются перестройке, после чего Т-лимфоциты начинают экспрессировать Ткр, способный распознавать пептиды в связывающей их полости молекул МНС на АПК. На этапе созревания лимфоцитов в тимусе образуется большое количество Т-лимфоцитов с дефектным Ткр, обладающим аутореактивными свойствами. Такие клетки подвергаются отрицательной селекции и, в конечном счете, погибают в результате запуска различных механизмов апоптоза [40, 114].

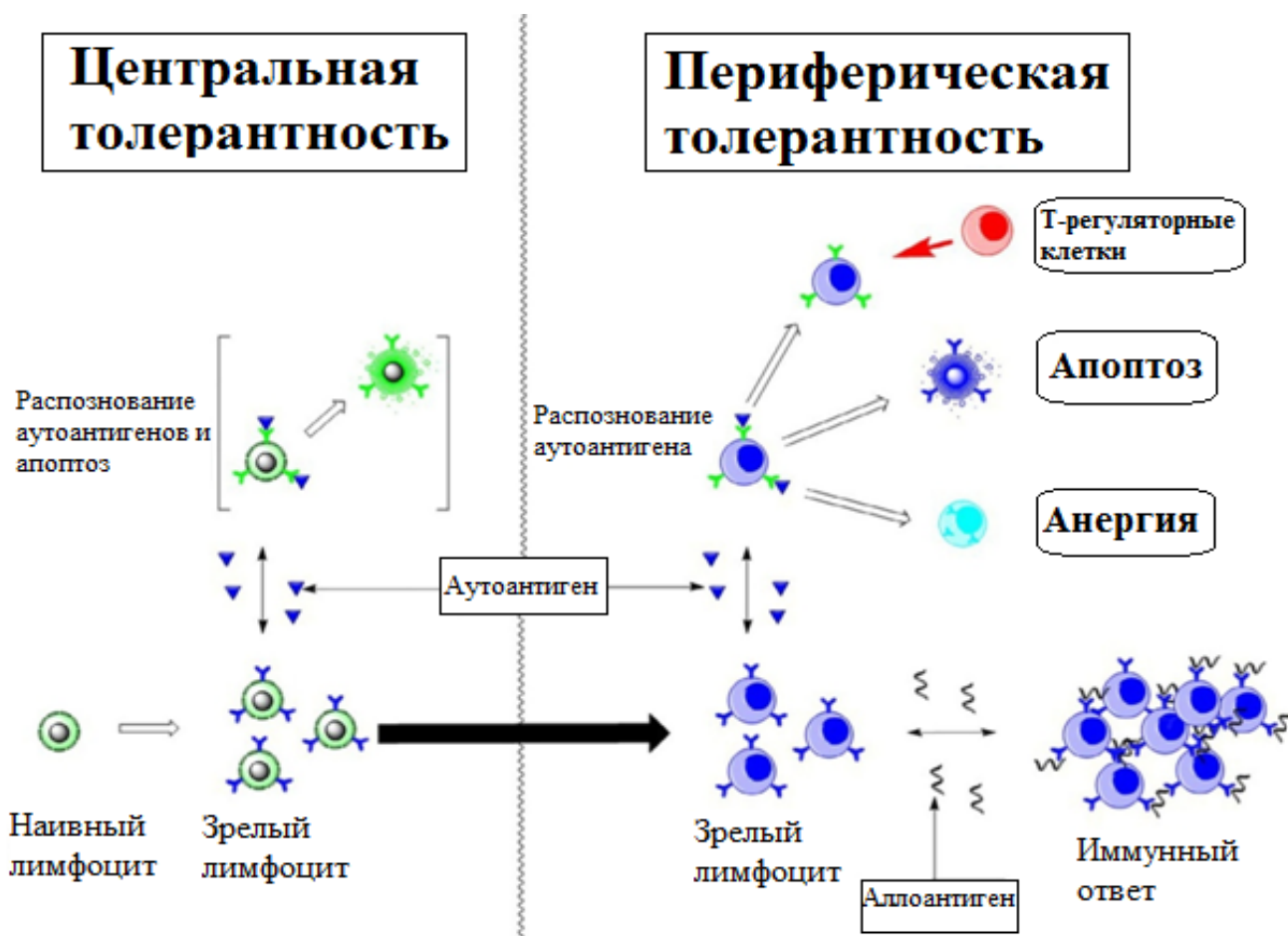


Рисунок 1.6 - Механизмы толерантности

Процесс отрицательной селекции в тимусе несовершенен, поэтому часть аутореактивных Т-лимфоцитов все же попадает в пул периферических лимфоцитов. Предотвращение развития аутоиммунных реакций поддерживается механизмами периферической или посттимической толерантности. Активно функционирующими механизмами периферической толерантности по устранению аутореактивных клонов Т-лимфоцитов является

запуск процессов клональной делеции, клеточной анергии или формировании супрессии [84, 152].

Лимфоциты могут стать «неотвечающими», получив опосредованный Ткр сигнал. Подавление их функции может происходить в результате снижении экспрессии Ткр и корецепторных молекул [65]. Аннергия Т-лимфоцитов легко демонстрируется в опытах *in vitro* и *in vivo* на некоторых животных моделях [42, 104, 191]. Стимулирование Ткр при отсутствии костимуляционных сигналов приводит к анергии Т-лимфоцитов, однако стоит только устранить этот дефект, например, стимулировав Т-клетки посредством ИЛ-2, сразу развивается иммунная реакция [44, 46].

Для поддержания толерантности к собственным антигенам и гомеостаза иммунной системы также имеет значение развитие клональной делеции Т-клеток вне тимуса, когда после активации антигеном большинство аутореактивных лимфоцитов погибает в результате апоптоза. Этот механизм используется для контроля аутоиммунных реакций и поддержания должного пула лимфоидных клеток. Процесс инициации клональной делеции запускается различными путями. Взаимодействие рецептора Fas (CD95) с его лигандом FasL запускает последующую цепь передачи сигналов, которая активирует ИЛ-1 β -конвертирующие ферментоподобные протеазы, вызывающие апоптоз [37, 88]. Молекула FasL может как экспрессироваться на активированных Т-клетках, обуславливая непосредственное межклеточное взаимодействие по принципу «братоубийства», так и находиться в растворимой форме, запуская аутокринный механизм апоптоза - рисунок 1.7. Рецептор PD-1 имеет два лиганда PD-L1 и PD-L2, при его активация запускается двойной механизм стимулирования апоптоза, с одной стороны вызывая гибель Т-эффекторных клеток, с другой - ингибирование апоптоза Т-супрессорных лимфоцитов [78, 81]. Молекула CTLA-4 также играет важную роль как отрицательный регулятор, в результате чего ее взаимодействие с молекулой B7 на поверхности АПК может прервать клеточный цикл деления Т-лимфоцита и вызвать ее гибель или анергию [54, 74].

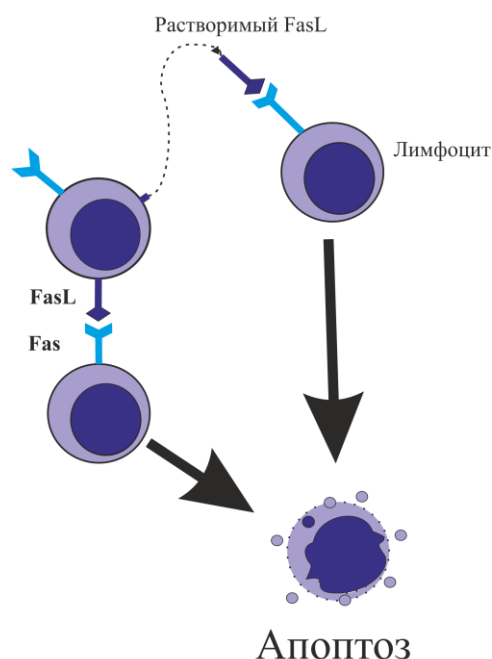


Рисунок 1.7 - Роль Fas-системы в гибели Т-клеток

Доказательство существования специфических супрессорных или толерогенных клеток было продемонстрировано в экспериментальных работах по адаптивному переносу, когда индукции толерантности у интактных животных удавалось добиться, вводя им клетки толерантных животных [77, 171, 188]. Одно из предложенных объяснений для данной формы толерантности предполагает существование двух популяций Т-хелперных лимфоцитов, продуцирующих различные цитокины. Известно, что многие воспалительные аутоиммунные реакции индуцируются Т-хелперными клетками 1 типа (T_{H1}), которые продуцируют такие провоспалительные цитокины, как ИЛ-2, ИФН- γ и ФНО. Цитокины, продуцируемые Т-хелперными клетками 2 типа (T_{H2}): ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9 и ИЛ-10 - поддерживают антителообразование, однако наряду с этим подавляют эффекторные функции макрофагов, включая их презентацию антигена T_{H1} и нестимулированным Т-лимфоцитам [90, 187]. Активно изучается молекулярный фенотип супрессорных клеток, их поверхностные маркеры и продуцируемые ими растворимые факторы. Регуляторные Т-клетки (Т-рег) – это субпопуляции T_H ($CD3+CD4+$), которые экспрессируют большое количество молекул $CD25(hi)$, имеют фактор транскрипции Foxp3, но при этом содержат малое количество рецептора

CD127, ответственного за восприятие ИЛ-7 [147]. Данные клетки играют важную роль в подавлении аутоиммунных реакций [91, 172]. Существует предположение, что данная популяция клеток может принимать участие в формировании и поддержании трансплантационной толерантности [148, 184].

Индукция толерантности аутореактивных В-лимфоцитов к собственным антигенам также может происходить через механизмы их делеции или анергии. Это зависит от аффинности антигенных рецепторов В-лимфоцитов и природы соответствующего антигена, в частности от того, является ли он интегральным белком клеточной мембраны либо представляет растворимый, циркулирующий, в основном мономерный белок [22]. Особое значение в управлении В-клеточного иммунного ответа играет роль клеток T_{H2} типа [116].

Физиологические механизмы толерантности пытались воспроизвести в трансплантации органов и тканей между гомологичными особями одного вида. Некоторого успеха удалось добиться при одновременной пересадке почки и костного мозга у иммунокомпрометированных больных, формируя клеточный химеризм [109, 135]. Существуют различные методы, направленные на изоляцию Т-рег и их использование в формировании иммунологической толерантности при трансплантации солидных органов [146, 147, 159]. Полагают, что формирование толерантности возможно достичь путем истощения Т-клеточной популяции, однако данное предположение остается спорным [173, 180]. Одним из методов эффективной борьбы с отторжением трансплантата и формированием частичной иммунологической толерантности является экстракорпоральная фотохимиотерапия (ЭФХТ) [193].

1.4 Экстракорпоральная фотохимиотерапия

ЭФХТ или фотоферез – это метод клеточной иммунотерапии, при котором из крови больного выделяют лейкоциты, сенсibiliзируют 8-метоксипсораленом, затем подвергая длинноволновому ультрафиолетовому облучению, возвращают обратно больному. Впервые метод ЭФХТ был

успешно проведен в 1987 г. группой исследователей из Йельского университета во главе с профессором R. Edelson в качестве терапии Т-клеточной лимфомы кожи [73]. Дальнейшее использование метода показало высокую эффективность при терапии псориаза [55], системной склеродермии [105, 142], вульгарной пузырчатки [14,41], ревматоидном артрите [122, 129] и других заболеваниях [41, 45, 112, 145, 164].

ЭФХТ показала высокую эффективность в лечении реакции отторжения при трансплантации солидных органов. Так, Costanzo-Nordin et al. [62] продемонстрировали, что лечение фотоферезом купировало острое отторжение сердца, развившийся на 4-6 месяц после пересадки, у 8 из 9 пациентов. Анализ морфологии эндомикардиальной биопсии, проведенный до начала ЭФХТ и на 7 сутки после курса лечения, показал значительное снижение инфильтрации трансплантата Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами и макрофагами. Дальнейшее наблюдение за пациентами в течение 6 месяцев не выявило каких-либо повторных эпизодов отторжения. Varten et al. [49] включили ЭФХТ в стандартный протокол иммуносупрессии при трансплантации сердца и обнаружили снижение частоты развития острого отторжения трансплантата, почечной васкулопатии, а также цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ). Авторы предполагают, что введение такого комбинированного протокола при подборе индивидуальной дозы ЭФХТ, в дальнейшем поможет значительно снизить прием иммуносупрессантов [70].

При трансплантации гемопоэтических стволовых клеток ЭФХТ показала высокую эффективность в лечении стероидрезистентных форм реакции трансплантат против хозяина (РТПХ), появление которой обычно связывают с плохим прогнозом выживаемости [110, 106, 151, 198]. В нашей стране Козлов с соавт. [15] применили ЭФХТ у 114 больных с РТПХ при поражении слизистых, легких, печени, кишечника. Авторы обнаружили лучший ответ на данную процедуру при лечении хронической формы РТПХ, чем при острой форме. Общая 3-летняя выживаемость больных с хронической РТПХ в случае положительного ответа на терапию ЭФХТ составила 80%, а при отсутствии

ответа – 35%; больных с острой РТПХ соответственно при положительном – 43%, а при отсутствии ответа - 12%. Calore et al. [57] при лечении острой РТПХ у 72 детей обнаружили полный ответ на ЭФХТ у 72%, у 11% был частичный ответ и у 17% не было никакого ответа, при этом общая 5-летняя выживаемость в случае наличия ответа составила 78%, при отсутствии - 30%.

Benden et al. [51] оценили динамику развития облитерирующего бронхиолита как предиктора постепенного отторжения легочного трансплантата [161]. Применив ЭФХТ у 12 пациентов при начальных стадиях развития облитерирующего бронхиолита в сравнении с контрольной группой из 12 человек, авторы обнаружили эффективность ЭФХТ в уменьшении регрессии объема форсированного выдоха, тем самым продлевая выживаемость трансплантата в среднем на 4,9 лет. Jaksch et al. [102] применили ЭФХТ у пациентов с тяжелой формой прогрессирующего облитерирующего бронхиолита, что позволило добиться его регрессии и стабилизации у 61% пациентов с наличием резистентности к стандартным протоколам иммуносупрессии - рисунок 1.8 [102].

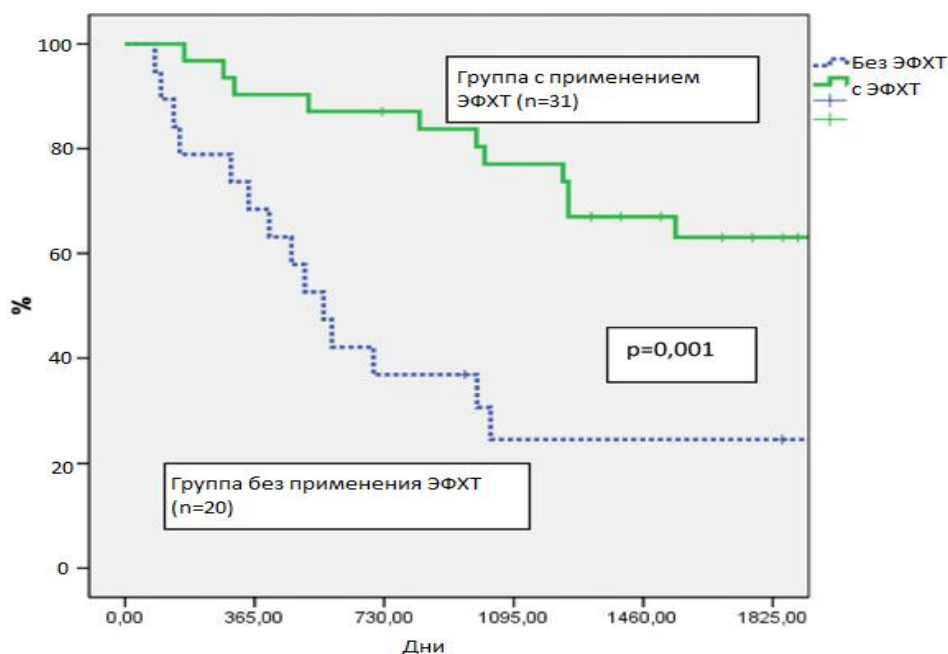


Рисунок 1.8 - Кривая Каплан-Майера показывает период до наступления летального исхода или повторной трансплантации после развития облитерирующего бронхиолита 1 стадии [102]

Urbani et al. [177] применили ЭФХТ для профилактики отторжения при трансплантации печени. Примечательным является то, что применение данного метода позволило надежно отсрочить у трети реципиентов начало приема ингибиторов кальцинейрина с целью минимизации нефротоксичности на ранних этапах послеоперационного периода [178]. Помимо этого, значительно удалось снизить риск как клеточного, так и гуморально-опосредованного отторжения при АВ0-несовместимых трансплантациях: при исследовании биоптатов ни у одного из реципиентов, получавших ЭФХТ, не было зафиксировано признаков острого или хронического отторжения при среднем сроке наблюдения около двух лет [175]. Также у авторов накоплен опыт применения ЭФХТ у реципиентов печени, инфицированных вирусом гепатита, с целью снижения лекарственной иммуносупрессивной нагрузки и повышения эффективности противовирусного лечения комбинацией рибавирина и интерферона. В результате 69% реципиентов успешно завершили курс лечения, а устойчивый вирусологический ответ на лечение был достигнут у 50% пациентов [175, 176].

По сравнению со значительным количеством зарубежных исследований по применению ЭФХТ при трансплантации гемопоэтических клеток костного мозга и сердца, известны также результаты нескольких небольших отечественных исследований, посвященных лечению острого отторжения ПАТ [47, 113, 158]. В 2014 году в МОНКИ им. М.Ф. Владимирского было проведено исследование профилактического применения модификации ЭФХТ - трансляционной клеточной иммунотерапии (ТКИ) при аллотрансплантации трупной почки [31]. Модель исследования была построена по принципу сравнительного анализа двух групп реципиентов парного ПАТ, состоящих из 20 человек в каждой. В первой группе ведение больных осуществлялось по стандартной схеме иммуносупрессивной терапии, во второй использовалась комбинация ТКИ со стандартной иммуносупрессией. В группе с применением ТКИ отмечалось лучшее функционирование трансплантата на 30 и 180 сутки, проявляющееся в более высокой скорости клубочковой фильтрации (на 47,2%).

Анализ протокольных биопсий на 180 сутки диагностировал острое отторжение у 4 пациентов группы контроля (без ТКИ), в то время как в группе с ТКИ картина биопсии соответствовала остаточным явлениям острого канальцевого некроза, выявленного у всех пациентов в биоптате на 30 сутки после АТП. - рисунок 1.9 [31]. Авторами проведен анализ иммунологических данных, в результате которого выявлено, что применение ТКИ приводит к достоверному уменьшению как количества клеток, экспрессирующих коактивационные рецепторы CD28 (с $57,7 \pm 18,2$ до $34,5 \pm 11,4\%$, $p < 0,05$), так и плотности этих рецепторов на наивных T_H (с $22,7 \pm 6,0$ до $16,8 \pm 5,1$ ед., $p < 0,05$), увеличению количества эффекторных T_c в контрольной группе на 17% и снижению на 18,6% в основной группе. Полученные результаты позволили сделать вывод, что применение ТКИ приводит к развитию толерантности к антигенам гистосовместимости донорского органа [15].

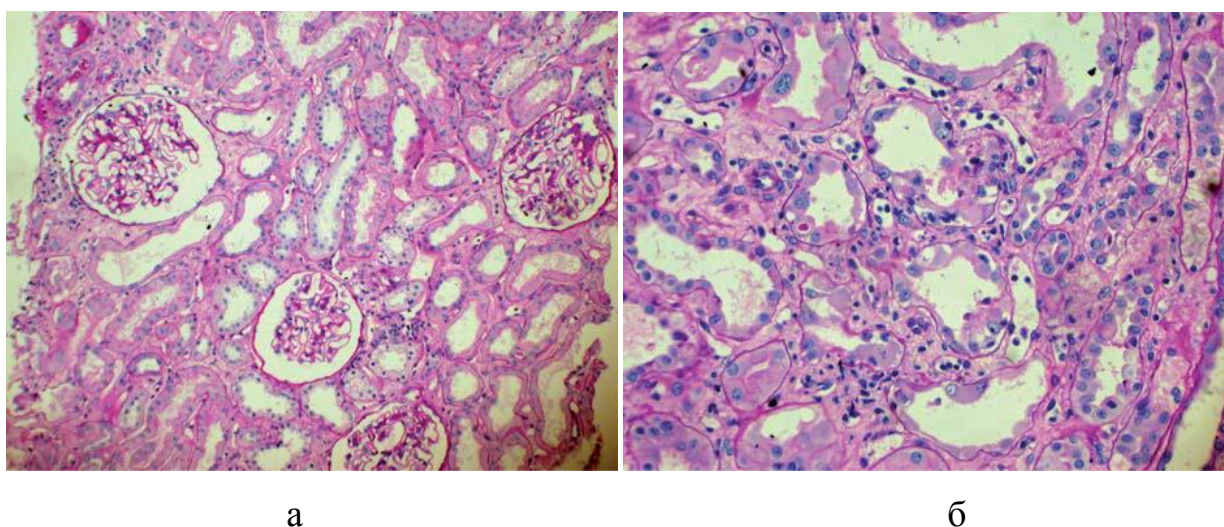


Рисунок 1.9 - Результаты биопсии пациентов почечного аллотрансплантата: а – контрольной группы; б – основной группы [31]

Под влиянием процедур ЭФХТ происходит апоптоз аллореактивных Т-лимфоцитов [163], который был продемонстрирован Holtick et al. [97] в опытах *in vitro*. Сразу после процедуры ЭФХТ лимфоциты остаются живыми, способными к смешанной лимфоцитарной реакции. Процессы же апоптоза начинают наблюдаться только спустя несколько часов после ЭФХТ, достигая максимума к 3 дню. Во время активации иммунной реакции при РТПХ,

реакциях отторжения трансплантата и аутоиммунных заболеваниях, аллореактивный клон является доминирующим во всей клеточной популяции лимфоцитов, и, по-видимому, оказывается более чувствителен к действию ультрафиолетового излучения в присутствии 8-метоксипсоралена [96]. Так, Hannani et al. [92] обнаружили, что активированные Т-лимфоциты (аллореактивный клон) при развитии отторжения трансплантата более чувствительны к фотоферез-индуцированному апоптозу, чем не активированные Т-лимфоциты, и в них апоптоз происходит быстрее. У пациентов с Т-клеточной лимфомой кожи, Yoo et al. [197] через 24 часа после ЭФХТ наблюдали апоптоз клеток только в популяции лимфоцитов, включая клетки Сезари, однако моноциты ($CD14^+CD45^+$) оставались интактными.

Setterblad et al. [165] на примере РТПХ показали, что через 48 часов после ЭФХТ моноциты также начинают подвергаться апоптозу, достигая гибели 80% клеток лишь к 6 дню. Такие моноциты до наступления гибели способны к взаимодействию с Т-клетками: презентации молекулами главного комплекса гистосовместимости пептидов, при этом молекулы костимуляции CD40 и CD86, а также молекулы адгезии CD11a, CD54 и CD58 на их поверхности сохранены. Они по-прежнему способны к дифференцировке в дендритные клетки (ДК) под влиянием гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и ИЛ-4 в течение 6 дней, однако их миграционный потенциал нарушен, что связывают с нарушением экспрессии некоторых молекул, в частности CCR7 (CD197) [179]. После возврата пациенту моноцитов с нарушенными миграционными свойствами, такие клетки подвергаются апоптозу, как и лимфоциты. Вероятно, из всей популяции лимфоцитов, непосредственно подвергшихся ЭФХТ, в формировании толерантности принимают участие только те клетки, которые в дальнейшем стали ДК. Клетки, подвергшиеся апоптозу, подобно всем некротическим и мертвым клеткам, ответственны за возникновение воспаления и провоцируют иммунный ответ [96].

Идея использования апоптотических клеток для профилактики и лечения отторжения трансплантата активно изучается в последние годы. Донорские лейкоциты, подверженные апоптозу, содержат большое количество аллоантигена, который способен вызывать иммунорегуляторный сигнал на АПК реципиента и способствовать формированию донор-специфической толерантности [133].

В опытах на мышах при трансплантации костного мозга инъекция донорских апоптотических лейкоцитов предупреждало развитие РТПХ и продлевало жизнь трансплантата [59]. Kleinclauss et al. [111] в основе же формирования толерантности видят образование Т-регуляторных клеток.

Лимфоциты, моноциты и ДК, чувствительные к апоптозу, возвращаясь обратно пациенту, мигрируют в селезенку и печень, где они фагоцитируются АПК [123]. Повышенная экспрессия CD95 (Fas) и CD95-ligand усиливает апоптоз лимфоцитов через 20 часов после ЭФХТ [134]. При этом важным моментом является тот факт, что апоптозу также подвергаются воспалительные клетки, инфильтрирующие периваскулярное пространство и интерстиций трансплантата [92]. Количество таких апоптотических клеток велико в первые сутки после курса ЭФХТ, а затем достаточно быстро уменьшается.

Peritt [144], исследуя ДК, поглотившие апоптотические клетки, обнаружил снижение экспрессии костимулирующей молекулы CD86 на их поверхности и вторичного сигнала к ИЛ-12. Введение апоптотических антител оказывает супрессорную активность на АПК, стимулирует выработку ТФР- β , ИЛ-10 и уменьшает синтез провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-12 [125, 154].

Iyoda et al. [101] считают, что ДК после фагоцитоза апоптотических клеток являются незрелыми, неспособными в должной мере экспрессировать свои маркеры (CD40, CD80, CD86 и CD83) и МНС, что делает невозможным их взаимодействие с Т-эффекторными лимфоцитами.

Gorgan et al. [85], использовав ЭФХТ в лечении 10 пациентов с РТПХ, обнаружили связь между клинической эффективностью фотофереза и

увеличением CD3-CD56+ NK-клеток, нормализацией соотношения CD4/CD8 клеток, сниженной циркуляцией ДК и Т-клеточной пролиферацией (аутологичной и аллогенной) в смешанной лимфоцитарной реакции [85]. Они также заметили переход преимущественной дифференцировки T_{H1} типа в сторону T_{H2} типа и соответственно переход от ДК 1-го типа к ДК 2-го типа. При этом известно, что T_{H2} имеют взаимно перекрестную отрицательную регуляцию с T_{H1} , ингибируя синтез провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 и ФНО α), и могут играть важную роль в развитии толерантности. Похожую аналогию выявили Baron et al. [47] в лечении криза отторжения при АТП.

После фагоцитоза апоптотических клеток ДК осуществляют презентацию антигена (АГ) при помощи МНС II класса с Ткр CD4-хелперов – это первый коактивационный путь. В дальнейшем, в зависимости от типа костимулирующего сигнала от CD4+ клеток и состояния микроокружения, при взаимодействии ДК МНС I класса и Ткр CD8+ клеток образуются эффекторные клетки различной направленности [38, 99].

Многие авторы считают, что основная роль в формировании специфической толерантности принадлежит моноцитам и макрофагам, являющиеся незрелыми дендритными клеткам, которые модифицируются в результате проведения ЭФХТ [68, 69, 168].

В ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского была предложена несколько иная модель формирования толерантности в ходе проведения трансляционной клеточной иммунотерапии (модификации ЭФХТ) [15]. В основе этой модели лежит изменение костимулирующего рецептор-лигандного взаимодействия в процессе презентации донорских антигенных пептидов наивным Т-лимфоцитам. Костимуляция Т-лимфоцитов состоит в том, что клетка в дополнение к сигналу, индуцированному через Ткр, получает второй сигнал, усиливающий пролиферацию и стимулирующий эффекторные функции Т-клеток. В костимуляции принимают участие многие молекулы, однако наиболее значимую роль в этом процессе принадлежит взаимодействию B7-CD28/CTLA-4. В ходе иммунологического исследования при использовании

ЭФХТ у больных после АТП происходило достоверное снижение плотности экспрессии рецепторов коактивации CD27 и CD28 на наивных Т-лимфоцитах в отличие от контрольной группы, где данная процедура не проводилась. Впоследствии при отсутствии сигнала, генерируемого рецептором CD28, наивные Т-хелперные лимфоциты формируют фенотип с синтезом противовоспалительных цитокинов и дестабилизацией в цитолитических Т-лимфоцитах матричного РНК, с которого транслируется белок, предотвращающий апоптоз. Отсутствие костимуляционного сигнала приводит к наступлению клональной анергии и индукции молекул, ассоциированных с апоптозом [13].

Vogel et al. [184] в опытах на мышах при модуляции рассеянного склероза изучали влияние блокирования лиганда В7 и избирательного блокирования CTLA-4 на формирование Т-рег в ходе применения иммунодепрессанта белатасепта. В результате было обнаружено, что блокада В7 и CTLA-4 усугубляет признаки заболевания, провоцируя развитие более тяжелого воспаления ЦНС и демиелинизации, что было связано с повышенным производством провоспалительных цитокинов IL-17 и ИФН- γ . В группе блокирования CTLA-4 в дополнение к этому возникало снижение переходного маркера клеточной пролиферации Ki67 и экспрессии CTLA-4. Таким образом, в отсутствие Т-рег происходило увеличение эффекторной функции Т-лимфоцитов и дальнейшее прогрессирование заболевания.

Основная роль в поддержании периферической толерантности принадлежит Т-рег, что было подтверждено многочисленными исследованиями [63, 98, 138].

Помимо Т-рег в формировании периферической толерантности принимают участие целый набор клеток, в котором одна популяция клеток способна контролировать активацию другой популяции. Среди них можно выделить Т-клетки, обладающие супрессорной активностью, включающие натуральные CD4+CD25+ Т-клетки, ТФР- β секретирующие Т-клетки, индуцированные T_{H3}, ТФР- β и ИЛ-10 секретирующие Т-клетки, активированные T_{H1} и некоторыми

CD8 Т-клетками и NK-клетками [22]. Многочисленные исследования показали, что CD4+CD25+ может предотвратить активацию аутореактивных Т-клеток и развитие аутоиммунных заболеваний. Т_H, на которых присутствуют клеточные маркеры CD4 и CD25 (α цепи рецептора IL-10) в одиночку не могут представлять супрессорную субпопуляцию, поскольку большая часть CD4 + клеток (20-40%) выражает средний уровень CD25 (CD25^{int}) и не обладает должной активностью. Только небольшая популяция (0,8-1%), содержащая высокие уровни CD25 (CD25^{hi}), на самом деле представляет истинные Т-рег [43].

Супрессорная активность Т-рег обычно зависит от активации их Т_{кр} (т.е. является антиген-зависимой), что препятствует пролиферации CD4 + Т-клеток, а также снижает синтез провоспалительных цитокинов и способно подавлять действие CD8+ клеток, дендритных клеток, В-клеток и NK-клеток. Роль Т-рег активно была продемонстрирована в моделях рассеянного склероза [67].

Исключительная роль Т-рег также была доказана в области трансплантации. Передача CD25+ клеток мышей, толерантных к коже трансплантата, другой группе мышей вызывает развитие специфической толерантности [93].

Аналогичные результаты были получены для передачи толерантности панкреатических островных клеток CD25 + клетками [87].

При пересадке костного мозга первая демонстрация роли Т-рег была обнаружена в ускорении развития РТПХ осложнений при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и Т-клеток донора, обедненных Т-рег клетками, которые вводили пациенту после тотальной химиотерапии [60].

Rubegni et al. [156] сообщили об увеличении CD4+CD25^{hi} лимфоцитов у 14 больных с хроническим РТПХ, возникающим через 48 часов после проведения ЭФХТ, а также через 6 и 12 месяцев.

В другом исследовании у 6 пациентов после трансплантации легких также отмечалось увеличение CD4+CD25^{hi} Т-клеток после проведения курса ЭФХТ [130].

Многочисленные исследования в области механизмов действия и высокой клинической эффективности позволили рекомендовать ЭФХТ в качестве терапии второй линии в профилактике и лечении трансплантационных отторжений [61, 96, 112, 112, 145].

1.5 Заключение по обзору литературы

Посттрансплантационный период ведения больных всегда сопряжен с риском развития отторжения почечного аллотрансплантата. Совершенствование медикаментозной иммуносупрессии помогло значительно снизить развитие отторжения, однако прием данных препаратов сопряжен с различными осложнениями: высоким риском смертности от сердечно-сосудистых заболеваний, развитием инфекций, онкозаболеваний, сахарного диабета, медикаментозной нефротоксичности и т.д. Формирование иммунологической толерантности к трансплантату - совершенно иной подход к борьбе с отторжением ПАТ. При ее достижении станет возможным полный или частичный отказ от иммуносупрессантов, что поможет избежать осложнений, связанных с их применением. Постоянно увеличивающееся количество пациентов, нуждающихся в трансплантации, снижает шанс на повторную трансплантацию, поэтому наиболее перспективной задачей является максимальное сохранение и улучшение функции трансплантата.

Среди множества методов достижения иммунологической толерантности наиболее перспективным является ЭФХТ, или фотоферез. Данный метод показал высокую эффективность в лечении кризов острого и хронического отторжения при трансплантации солидных органов и гемопоэтических стволовых клетках (СКК) [15, 145, 177]. Высокая клиническая эффективность фотофереза прежде всего характеризуется отсутствием тотальной иммуносупрессии, также при проведении данного метода не было выявлено развития каких-либо специфических осложнений. Многоцентровые исследования, посвященные использованию данного метода при

трансплантации сердца, легких и СКК позволили рекомендовать ЭФХТ в качестве терапии 2 линии при развитии отторжения трансплантированных органов [112, 164].

При анализе мировой литературы обнаружено небольшое количество публикаций, посвященных профилактическому применению ЭФХТ и ТКИ в раннем посттрансплантационном периоде [164, 177]. Их результаты показали значительное улучшение выживаемости и функционирования трансплантатов, а также снижение различных осложнений в ближайшем посттрансплантационном периоде. По-прежнему остается неясным длительность толерогенного эффекта при применении данного метода в отдаленном посттрансплантационном периоде. Недостаточно изучен вопрос необходимости проведения дополнительных процедур для поддержания толерантности, а также возможно ли проводить снижение уровня иммуносупрессивной нагрузки.

Представленные данные явились основанием для дальнейшего изучения эффективности метода ТКИ в отдаленном посттрансплантационном периоде.

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МЕТОДИКА ТРАНСЛЯЦИОННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Протокол настоящего исследования утвержден решением ученого совета ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского и получил одобрение локального этического комитета.

2.1 Клиническая характеристика больных

В настоящее исследование вошли 60 пациентов после АТП, которые являлись реципиентами парных почечных трансплантатов, полученных от 30 посмертных доноров. Срок наблюдения за пациентами составил от 2 до 7 лет с момента пересадки трупной почки, в среднем $4,5 \pm 2,0$ года, которое проводилось в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского с 2010 по 2018 год.

В число пациентов основной группы ($n=30$) вошли 16 мужчин в возрасте от 25 до 59 лет на момент АТП (в среднем $41,7 \pm 10,7$ лет) и 14 женщин в возрасте от 25 до 62 лет на момент АТП (в среднем 41 ± 11 лет). Всем пациентам основной группы дополнительно к стандартной иммуносупрессивной терапии проводили 15 сеансов трансляционной клеточной иммунотерапией в раннем послеоперационном периоде.

Группу сравнения ($n=30$) составили 19 мужчин в возрасте от 24 до 60 лет на момент АТП (в среднем $41,1 \pm 10,7$ лет) и 11 женщин в возрасте от 23 до 58 лет на момент АТП (в среднем $42 \pm 12,8$ лет). Пациенты контрольной группы имели парный основной группе почечный трансплантат и придерживались только общепринятого протокола медикаментозной иммуносупрессии.

Отбор пациентов для исследования осуществлялся методом слепой случайной выборки. Критериями включения являлись показатели: парная трансплантация трупной почки от одного донора двум реципиентам и их

обоюдного согласия на участие в исследовании, возраст реципиента от 18 до 70 лет на момент трансплантации, наличие адекватного сосудистого доступа для проведения процедур трансляционной клеточной иммунотерапии, отсутствие предрасполагающих анти-HLA антител.

Критерии исключения были следующие: повышенная чувствительность или аллергия на 8-methoxypsoralen (аммифурин) или продукты цитрата, фотодерматозы и другие заболевания, обусловленные повышенной фоточувствительностью; артериальное давление (систолическое - ниже 90 мм. рт. ст., диастолическое - ниже 60 мм. рт. ст.), что связано с особенностями методики проведения трансляционной клеточной иммунотерапии.

Длительность заместительной почечной терапии перед трансплантацией у пациентов основной группы составила в среднем 24,9 месяцев, в группе сравнения – 27,5 месяцев. В качестве заместительной почечной терапии перед трансплантацией гемодиализ проводился у 24 пациентов основной группы, также у 24 пациентов в контрольной группе, перитонеальный диализ у 5 пациентов в основной и у 4 пациентов в контрольной. До включения в исследование повторная трансплантация почки была выполнена у трех пациентов основной группы и у четырех пациентов контрольной группы, прошлый трансплантат был удален. Один пациент в основной группе и два в контрольной группе не получали перед трансплантацией процедур заместительной почечной терапии: гемодиализа или перитонеального диализа.

Для нивелирования влияния особенностей трансплантированной почки на исход трансплантации в двух группах, мы осуществили парную трансплантацию почки от одного трупного донора реципиентам основной и контрольной группы. Средний возраст доноров составил 39 лет (от 20 до 56 лет). Причиной смерти 18 доноров явилось открытая или закрытая черепно-мозговая травма, у 12 доноров – необратимая остановка сердечной деятельности («асистолический» донор).

Совместимость донора и реципиента определяли методом HLA-типирования по антигенам HLA-A, HLA-B, HLA-DR и лимфоцитотоксической

перекрестной пробе. Число несовпадений по HLA – антигенам в обеих группах статистически значимо не различалось, средний показатель индекса совместимости составил 9. В обеих группах у реципиентов не было обнаружено предрасполагающих антидонорских антител на момент трансплантации.

Сравнительная клиническая характеристика больных двух групп представлена в таблице 2.1.

Таблица 2.1 - Клиническая характеристика больных

Параметр	Основная группа	Контрольная группа	p
Возраст реципиентов, лет	41,4±10,9 ¹	41,5±12,8 ¹	0,991
Соотношение мужчин/женщин	16/14	19/11	0,432
Продолжительность диализа до трансплантации, месяцев	24,9±19,2 ¹	28,4±23 ¹	0,521
Возраст доноров, лет	39±12,9 ¹		
Тип доноров (смерть головного мозга/асистолический эффективный донор).	18/12		
Продолжительность консервации, часы	18,2±3,4 ¹	17,9±4,4 ¹	0,799
Продолжительность тепловой ишемии, минуты	28,6±9,8 ¹	27,9±9,7 ¹	0,345
Ретрансплантация	3	4	0,694
Индекс совместимости	9 (5;15) ²	8 (4;14) ²	0.458

¹ Среднее, стандартное отклонение

² Медиана, интерквартильный размах

Как следует из представленных данных, существенных отличий между двумя группами не было. Больные не отличались по основным характеристикам - полу, возрасту, продолжительностью консервации и тепловой ишемии донорского органа.

Причины развития ХБП у больных в обеих группах представлены в таблице 2.2.

Таблица 2.2 - Причины развития ХБП

Диагноз	Количество больных в основной группе (%)	Количество больных в контрольной группе (%)
Аномалия развития мочевой системы	1 (3,2%)	3 (10%)
Антифосфолипидный синдром	-	2 (6,7%)
Гипертонический нефросклероз	5 (16,7%)	2 (6,7%)
Диабетическая нефропатия	3 (10%)	-
Поликистоз почек	2 (6,7%)	4 (13,2%)
Хронический гломерулонефрит	17 (56,7%)	17 (56,7%)
Хронический пиелонефрит	2 (6,7%)	2 (6,7%)
Итого	30 (100%)	30 (100%)

Причины развития ХБП в двух исследовательских группах являлись приблизительно равные по соотношению между группами заболевания. Основное заболевание в обеих группах составил хронический гломерулонефрит – 56,7 % (34 пациента) от общего числа испытуемых. На втором месте был гипертонический нефросклероз – 11,7 % (7 пациентов) от общего числа испытуемых, на третьем поликистоз почек – 10% (6 пациентов). Остальные заболевания встречались значительно реже.

Нефрэктомия собственных почек до трансплантации почки проводилась у 6 больных с поликистозом почек, у 4 больных с аномалией развития мочеполовой системы в связи с частыми атаками пиелонефрита и у 2 больных с хроническим пиелонефритом, неподдающимся консервативной терапии антибиотиками.

2.2 Иммуносупрессивная терапия

Всем реципиентам ПАТ проводилась индукционная терапия базиликсимабом внутривенно 20 мг за 30 мин перед трансплантацией почки, затем на 4-е сутки. Метилпреднизолон вводился внутривенно в дозе 10 мг/кг интраоперационно перед реперфузией, затем на 1-е и 4-е сутки в дозе 125-250 мг.

В послеоперационном периоде все пациенты придерживались трехкомпонентного протокола иммуносупрессии, состоящего из такролимуса, глюкокортикоидов и микофенолатов. Начальная доза такролимуса составила 0,1-0,2 мг/кг внутрь в сутки каждые 12 часов, затем дозы корректировались до достижения уровня в крови 10-15 нг/мл в течение первых недель после трансплантации с постепенным снижением: 1 месяц C_0 8-15 нг/мл, 2-3 месяц – 8-12 нг/мл, 3-6 месяц – 8-10 нг/мл, 6-12 месяцы 7-8 нг/мл, >12 месяцев – 5-8 нг/мл. Для коррекции суточной дозы такролимуса проводился контроль концентрации такролимуса в крови 1-2 раза в неделю в течение первого месяца, в последующем один раз в 1-2 месяца. Преднизолон принимался всеми пациентами в стартовой дозе - 20 мг в первые сутки после АТП, в течение последующих 3 месяцев его доза снижалась до поддерживающей 5-10 мг/сут. Препараты микофеноловой кислоты или микофенолата мофетила назначались в стартовой дозе 720 мг 2 раза в сутки или 1000 мг 2 раза в сутки соответственно, начиная с 2 недели производили снижение дозы в 2 раза.

В дальнейшем мы придерживались тактики снижения дозы такролимуса при стабильной функции ПАТ и отсутствия признаков отторжения по данным протокольных биопсий на 30 и 180 сутки после АТП. Если по биопсии отсутствовали признаки отторжения и функция ПАТ была стабильна, начиная с 180 суток мы пробовали постепенно снижать концентрацию такролимуса у пациентов обеих групп. При дисфункции ПАТ мы делали биопсии по требованию. Если были признаки отторжения – проводили терапию согласно стандартным протоколам. Если по данным биопсии имелись признаки

хронической трансплантационной нефропатии без признаков отторжения или наличия токсичности ингибиторов кальцинейрина – то проводили постепенное снижение дозы такролимуса.

При развитии первого эпизода отторжения (острого клеточного отторжения по Banff I-IIa) больным проводилась высокодозная пульс-терапия глюкокортикоидами (500-1000 мг метилпреднизолона в течение 3-4 дней). Дополнительно при развитии клеточного опосредованного отторжения у одного пациента основной группы дополнительно проводилось 4 процедуры ТКИ. При развитии стероидрезистентного и тяжелого клеточного отторжения (по Banff IIb-III) применялся антитимоцитарный глобулин в дозе 4 мг/кг под контролем гематологических показателей. При развитии острого гуморального отторжения проводилось введение иммуноглобулина 2 г/кг совместно с 3-5 сеансами каскадной плазмофильтрации с использованием плазмофильтров «Cascadeflo» (Япония) на аппарате OctoNova (MeSys, Германия) или плазмаобмена на сепараторе клеток крови Haemonetics MCS+ (США).

2.3 Методика проведения процедуры трансляционной клеточной иммунотерапии

Метод трансляционной клеточной иммунотерапии представляет собой модификацию классической схемы проведения экстракорпорального фотофереза, при которой у пациента на аппарате проводят сепарацию клеток крови с получением лейкоконцентрата, затем смешивают его с фотосенсибилизатором, проводят облучение этой взвеси в ультрафиолетовом спектре и реинфузируют данную взвесь обратно в кровотоки реципиента.

Процедуры трансляционной клеточной иммунотерапии начинали проводить на 3-7 день после трансплантации почки и продолжали проводить по следующей схеме: в первые 2 недели после трансплантации почки по 2 процедуры в неделю, следующие 6 недель по 1 процедуре в неделю, в течение 3-го месяца – 1 раз в 2 недели, затем 1 раз в месяц в течение 4, 5 и 6 месяца

после трансплантации почки. Суммарно получалось 15 процедур ТКИ. Для осуществления фотосенсибилизации мы использовали аммифурин, который вводился в дозе 1 мг/кг массы тела и принимался пациентом за 2-3 часа до начала процедуры заготовки клеток крови. Сепарацию и накопление мононуклеарных клеток проводили при помощи аппарата «Haemonetics MCS+» (США). В течение одной процедуры заготавливали около 40-70 мл. концентрата мононуклеарных клеток. Затем, полученный концентрат клеток ресуспендировали в 200 мл 0,9% раствора хлористого натрия. Клеточную взвесь подвергали ультрафиолетовому воздействию при длине волны 320-400 нм на аппарате «Юлия» (Россия) в проточном режиме в течение 40 мин. Общая доза экспозиции составляет 0,8-1,2 Дж/см². После 90 минут инкубационного периода при температуре 20-24⁰ клетки реинфузировали пациенту в течение 30 мин.

2.4 Методы исследования и используемые средства

Всем пациентам в послеоперационном периоде проводили стандартное клинико-лабораторное обследование, включающее клинический осмотр, оценку лабораторных показателей, морфологического исследования биоптатов трансплантированных почек и ультразвуковое обследование с доплерографией сосудов трансплантата.

Оценка почечной функции трансплантата оценивалась по уровню сывороточного креатинина, СКФ (методом пробы Реберга-Тареева) и суточной протеинурии. Протокольные биопсии почечного трансплантата проводились на 30-е и 180-е сутки после трансплантации, а также при резком ухудшении почечной функции на фоне нормальной концентрации ингибиторов кальцинейрина. Морфологическое исследование биопсийного материала проводилось в ГБУЗ «Городской клинической больницы №52 Департамента здравоохранения города Москвы» в соответствии с классификацией отторжения трансплантата Banff 2007 года [167]. Оценка биоптатов

проводилась при помощи световой микроскопии (использовалась окраска гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа и по Массону) и при помощи методов иммунофлюоресценции (с моноклональными антителами к IgG, IgM, IgA, C3 и C4d фрагментам комплемента).

Бактериологические исследования выполнялись согласно национальным стандартам протокола послеоперационного ведения больных с ПАТ [21; 30]. Посевы мочи, мокроты осуществляли на плотные питательные среды: агар с 5% кровью барана, желточно-солевой агар по Чистовичу, Эндо, Сабуро, тиогликолиевая среды. Обнаружение вирусной инфекции проводили методами генамплификации для верификации цитомегаловируса, вирусов Эпштейн-Барра, вируса ветряной оспы, простого герпеса 1 и 2 типов, герпеса 6 и 7 типов, гепатитов В и С.

Иммунофенотипические исследования проводили на 4-цветном проточном цитометре Becton Dickinson «FACSCalibur» (США). Проводился многопараметровый цитофлюориметрический субпопуляционный анализ с использованием коммерческих моноклональных антител фирмы Becton Dickinson и Miltenyi Biotec с реактогенной направленностью против антигенных детерминант: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD28, CD45RO, CD54, CD127. Анализ результатов оценивался по уровню антиген-позитивных клеток (%), с последующим их пересчетом на абсолютные значения ($10^6/л$) и средней интенсивностью флюоресценции (MFI). Помимо сравнительной оценки между исследуемыми группами, иммунологические показатели также сравнивались с группой кадровых доноров крови.

Исследование фармакокинетики такролимуса проводилось путем определения минимальной концентрации препарата в цельной крови (перед приемом очередной дозы) - C_0 . Определение концентрации такролимуса в крови производилось при помощи хемилюминесцентного иммунологического исследования на комплексном анализаторе «Architect I 1000».

2.5 Статистическая обработка клинического материала

При статистической обработке данных переменные, имеющие нормальное распределение, описывались как среднее \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$). Для переменных с распределением, отличным от нормального, вычислялась медиана и интерквартильный размах (ИКР).

При сравнении двух независимых выборок, имеющих нормальное распределение, применялся непарный критерий Стьюдента с учетом равенности дисперсий. При анализе нескольких связанных выборок с нормальным распределением использовался дисперсионный анализ с повторными измерениями с апостериорным критерием Тьюки. Для попарного межгруппового сравнения двух выборок, имеющих распределение отличное от нормального, применялись критерии Манна-Уитни (несвязанные выборки).

Выживаемость оценивалась по методу Каплан-Майера. Значимость различий оценивалась с помощью критериев Log rank (отдаленный период) и Breslow (ближайший период).

Оценка риска производилась при помощи показателя инцидентности для определенных промежутков времени с 95% доверительным интервалом.

Для расчета интенсивности наступления событий рассчитывали инцидентность и выражали ее как количество событий за стандартизированный временной интервал (например – пациенто-дней или пациенто-месяцев). При сравнении двух групп вычисляли incidence rate ratio (IRR) как отношение двух инцидентностей. IRR интерпретировали как относительный риск.

Для решения поставленных задач в качестве программного обеспечения использовался стандартный статистический пакет MS Excel 2016, SPSS v17.0 и Statistica v10.0, GraphPad Prizm v.7.0. Оценивался двусторонний уровень значимости. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми, во всех случаях приводились абсолютные значения достигнутых уровней значимости.

ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСЛЯЦИОННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ТРУПНОЙ ПОЧКИ

Результаты анализа функции ПАТ в раннем послеоперационном периоде были описаны нами в ряде работ [31; 32]. Однако в настоящей работе выборка пациентов была больше – 30 пар реципиентов. Поскольку долгосрочная функция трансплантата во многом детерминирована его состоянием в течение раннего срока после АТП, мы также включили этот период в анализ.

3.1 Функция почечного трансплантата

Всего у 23 больных основной группы (76,7%) и 20 больных группы сравнения (67%) отмечена первичная функция трансплантата.

В среднем, на 30-е сутки послеоперационного периода, что в большинстве случаев соответствовало дню выписки больных, концентрация креатинина в основной группе составила $0,15 \pm 0,04$ ммоль/л, в группе сравнения $0,17 \pm 0,06$ ммоль/л, различия между группами были статистически незначимы ($p=0,19$). Однако, к 6 месяцам после АТП уровень креатинина в основной группе составил $0,15 \pm 0,05$ ммоль/л, а в группе сравнения – $0,18 \pm 0,05$ ммоль/л, при этом различия между группами стали статистически значимыми ($p=0,027$). Начиная с шести месяцев после АТП средняя концентрация креатинина в основной группе значимо отличалась (была ниже) от группы сравнения на протяжении всего оставшегося срока наблюдения. Если в основной группе уровень креатинина оставался стабильным на протяжении всего срока наблюдения, в среднем $0,16 \pm 0,08$ ммоль/л, то в группе сравнения уровень креатинина постепенно нарастал и к 5 годам составил $0,24 \pm 0,09$ ммоль/л. Как показал дисперсионный анализ с повторными измерениями, динамика креатинина в группах различалась статистически значимо - $p=0,0129$ – рисунок 3.1.

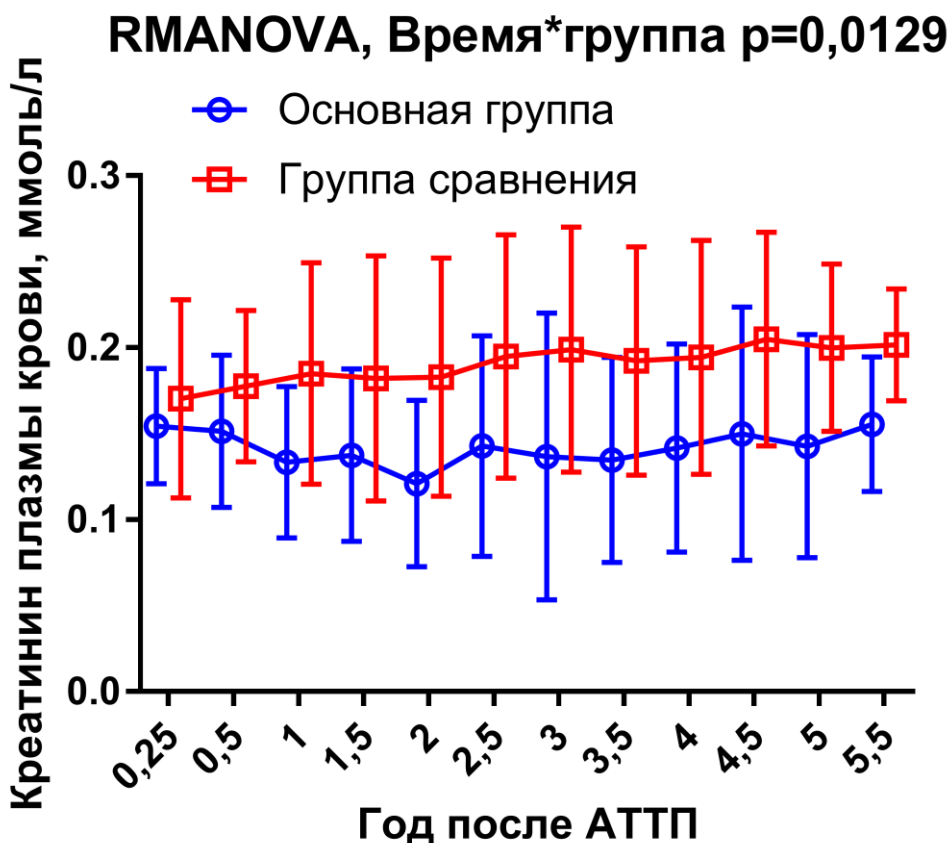


Рисунок 3.1 - Динамика уровня креатинина в отдаленном периоде после АТП, ($M \pm SD$)

Уровень СКФ на момент выписки из стационара в основной группе составлял - 65 ± 22 мл/мин, в группе сравнения - 55 ± 24 мл/мин, что также не продемонстрировало статистических различий между группами на 30 сутки ($p=0,093$). Различия по уровню СКФ, подобно уровню креатинина, стали статистически значимыми к 6 месяцам: в основной группе - 64 ± 20 мл/мин, в группе сравнения - 47 ± 19 мл/мин ($p=0,02$). В целом динамика СКФ в обеих группах имела тенденцию к снижению, однако СКФ на протяжении всего периода наблюдения в основной группе была выше. Динамика СКФ в группах различалась статистически значимо - $p=0,011$ – рисунок 3.2. К концу наблюдения - 5,5 лет уровень СКФ в основной группе составил 63 ± 17 мл/мин, в группе сравнения - 48 ± 13 мл/мин.

RMANOVA, Время*группа $p=0,011$

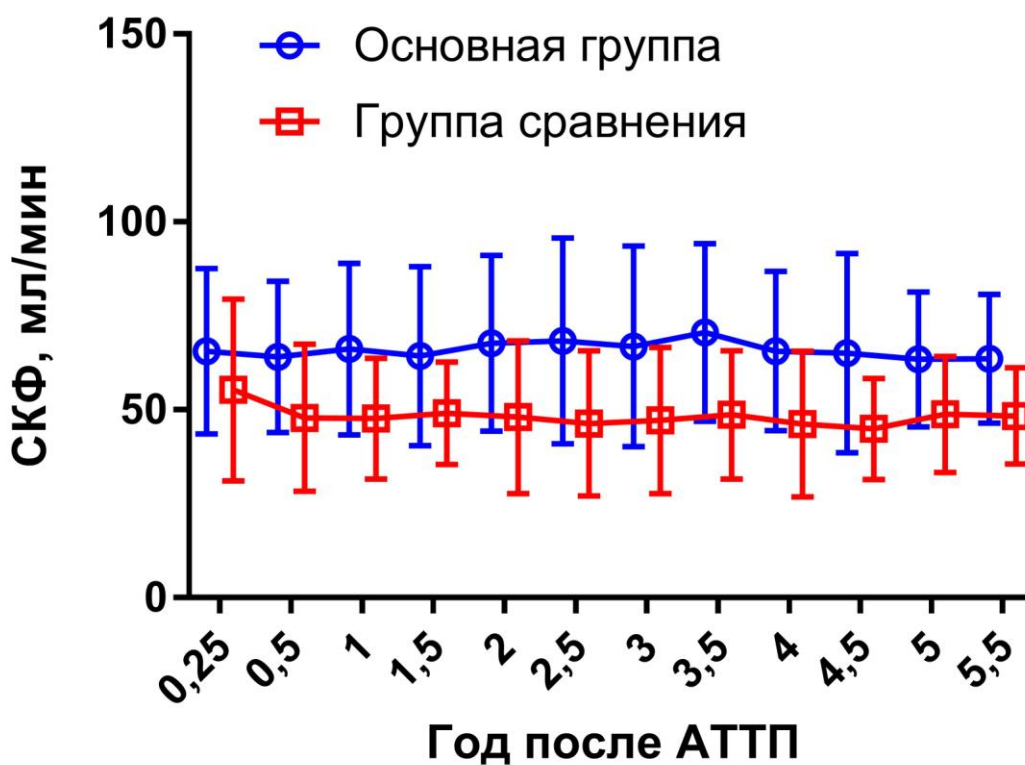


Рисунок 3.2 - Динамика уровня СКФ в отдаленном периоде после АТП, ($M \pm SD$)

Суточная протеинурия является не только косвенным показателем функции ПАТ, но и прогностическим маркером. На 30 сутки уровень суточной протеинурии в основной группе составил $0,43 \pm 0,3$ г/сутки, в группе сравнения – $0,52 \pm 0,32$ г/сутки, различия были статистически незначимы ($p=0,31$). Также мы не отметили значимых различий через 6 месяцев после АТП ($p=0,084$): в основной группе – $0,37 \pm 0,27$ г/сутки, в группе сравнения – $0,50 \pm 0,3$ г/сутки. Однако, начиная с 1,5 лет после АТП и до конца наблюдения (5,5 лет) различия между группами были статистически значимы. Таким образом, общая динамика статистически значимо различалась в двух группах – $p=0,027$ – рисунок 3.3.

RMANOVA, Время*группа $p=0,027$

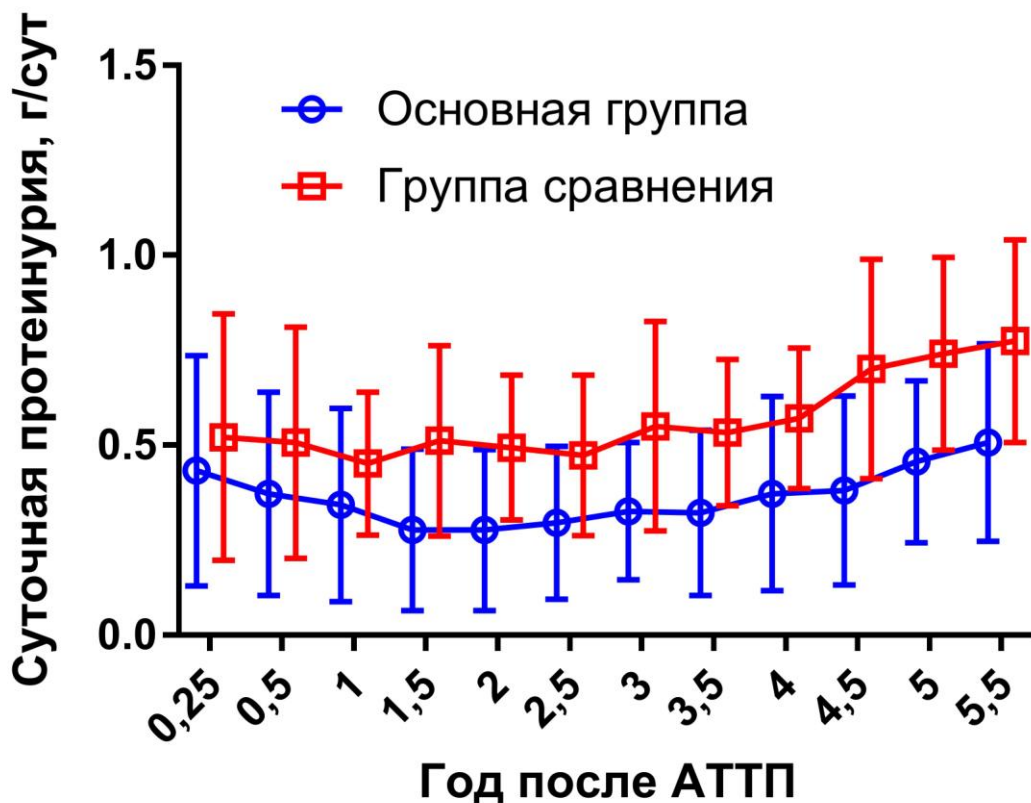


Рисунок 3.3 - Динамика уровня суточной протеинурии в отдаленном периоде после АТП, ($M \pm SD$)

Таким образом, мы можем заключить, что благодаря включению ТКИ в протокол иммуносупрессии в раннем послеоперационном периоде, в основной группе функция ПАТ была значительно лучше, чем в группе сравнения. Это наиболее заметно на поздних этапах посттрансплантационного периода.

3.2 Частота и тяжесть отторжения почечного аллотрансплантата

Развитие отторжение у пациентов с ПАТ мы оценивали по наличию клинико-лабораторной симптоматики (внезапного повышения уровня креатинина, суточной протеинурии, снижения СКФ) при исключении иных причин дисфункции ПАТ, а также при проведении морфологического исследования протокольных биопсий ПАТ или биопсий *on demand*.

Морфологическую оценку патологии ПАТ мы проводили согласно международной классификации Banff 2007 года. [167]

За весь период наблюдения у 2 из 30 пациентов основной группы (7%) и у 7 из 30 пациентов группы сравнения (24%) было выявлено отторжение, потребовавшее лечения. Суммарно за весь период наблюдения было диагностировано 11 эпизодов отторжения в двух группах – таблица 3.1.

Таблица 3.1 - Частота отторжения и его морфологический вариант (согласно классификации Banff-2007) в двух группах

Диагностические категории	Основная группа (N=30)	Группа сравнения (N=30)
Banff IA	1	1
Banff IB	0	2
Banff IIA	1 (C4d+)	0
Banff IIB	0	1 (C4d+)
Banff III	0	1 (C4d+)
Хроническое смешанное отторжение	0	1 (C4d+)
Пограничные изменения	1 (C4d+)	0
Отторжение без морфологической верификации	0	2
Всего эпизодов отторжения	3	8

В основной группе отторжение было диагностировано у двух пациентов. У одного пациента на 420 сутки после АТП при проведении протокольной биопсии было диагностировано острое клеточное отторжения по Banff Ia. При сборе анамнеза установлено, что пациент самостоятельно отменил прием преднизолона более месяца назад, после чего был отмечен рост уровня креатинина с 0,1 до 0,16 ммоль/л. Купирование отторжения проводилось пульс-терапией метилпреднизолоном в суммарной дозе до 1500 мг, после чего

достигнуто снижение уровня креатина до 0,09 ммоль/л и продолжена стандартная иммуносупрессивная терапия по протоколу.

У второго пациента основной группы с отторжением ПАТ было отмечено два эпизода отторжения. Первый эпизод пришелся на 764 сутки после АТП на фоне развития острого панкреатита, с резким ростом креатинина с 0,17 до 0,31 ммоль/л и суточной протеинурии до 2 г/сут. Нулевая концентрация такролимуса при этом составила 2,4 нг/мл. При проведении диагностической биопсии трансплантата выявлено острое антителоопосредованное отторжение трансплантата категории по Banff Pa. Лечение первого эпизода проводили приемом метилпреднизолона в дозе 4 г и внутривенные инфузии тимоглобулина, однако, в связи с отсутствием эффекта были проведены 4 процедуры ТКИ и 3 сеанса плазмафереза с введением человеческого иммуноглобулина. После чего достигнута стабилизация – уровень креатинина снизился до 0,2 ммоль/л, суточная протеинурия – до 0,6 г/сут. Была продолжена плановая иммуносупрессивная терапия. Второй эпизод отторжения у этого пациента возник еще через 2 года после первого эпизода, на 1512 сутки после АТП. В лабораторных анализах был отмечен рост креатина до 0,34 ммоль/л, суточной протеинурии - до 8 г/сут. При проведении биопсии ПАТ выявлен фокально-сегментарный гломерулосклероз с элементами коллабирующего нефрита, гломерулонефрит трансплантата (IgA нефропатия), пограничные изменения, свечение C4d фрагментов комплемента на перитубулярных капиллярах. Изменения в биопсии трансплантата были расценены как криз отторжения трансплантата (по Banff 07 – пограничные изменения). Лечение проводилось пульс-терапией метилпреднизолоном, 4 процедурами ТКИ и 3 сеансами каскадной плазмофильтрации и инфузией иммуноглобулина G (габриглобина). Выписан с улучшением: креатинин составил 0,24 ммоль/л, суточная протеинурия – 1,2 г/сут.

В группе сравнения отторжение было диагностировано у 7 из 30 пациентов. У первого пациента с острым отторжения ПАТ в раннем посттрансплантационном периоде отсутствовала функция трансплантата на

протяжении двух недель, в общем анализе крови сохранялся лейкоцитоз до $14 \cdot 10^9/\text{л}$, по данным УЗИ трансплантат был увеличен в размерах, сосудистый рисунок обеднен, высокий индекс сопротивления на артериях трансплантата, диастолический кровоток отсутствовал. Проводилась пульс-терапия метилпреднизолоном, 4 сеанса каскадной плазмофильтрации. На 18-е сутки после АТП введен ритуксимаб в дозе 650 мг в/в. Несмотря на проводимое лечение, функция ПАТ не восстановилась, в связи с чем проведена биопсия трансплантата, по результатам которой диагностировано острое гуморальное отторжение ПАТ по Banff IIb. В связи с отсутствием почечной функции и нарастанием интоксикации трансплантат пришлось удалить, пациент вернулся к программе гемодиализа.

У второго пациента группы сравнения острое отторжение трансплантата по Banff Ib было выявлено при проведении протокольной биопсии трансплантата на 6 месяц после АТП, при этом клинические проявления отсутствовали. При гистологическом заключении описана небольшая ишемия капиллярных петель в некоторых клубочках, диффузно-очаговый склероз интерстиция и атрофия канальцев, занимающие около 40 – 50% паренхимы, отек интерстиция, диффузно-очаговая интерстициальная инфильтрация лимфоцитами с явлениями тубулита (до 10 и более клеток на сечение канальца) как в атрофичных, так и в относительно сохранных канальцах, дистрофия канальцевого эпителия и выраженный артериосклероз. Пациенту проведена пульс-терапия метилпреднизолоном. По результатам лечения выполнена повторная биопсия, выявлены остаточные явления острого отторжения ПАТ, пациент выписан в удовлетворительном состоянии.

У третьего пациента группы сравнения с развитием отторжения ПАТ на 6 сутки после АТП отмечена клинико-лабораторная картина острого кровотечения. При ревизии были выявлены линейные разрывы капсулы трансплантата и паранефральная гематома. Произведена эвакуация гематомы, ушивание разрывов трансплантата, также взята биопсия. Биопсийный материал был представлен практически полностью разрушенной тканью почки,

некоторые клубочки склерозированы, а оставшиеся выглядели гиперклеточными за счет явлений гломерулита. В одном клубочке капиллярные петли частично разрушены, окружены сегментарным клеточным полулунием, еще в двух клубочках определяются более старые фиброзно-клеточные полулуния. Также отмечалась диффузная инфильтрация интерстиция лимфоцитами с примесью нейтрофилов, многие канальцы полностью разрушены. В участках относительно сохранной паренхимы – тяжелое повреждение канальцевого эпителия, явления тубулита до 6-8 клеток на срез канальца. В просвете канальцев определялись многочисленные воспалительные клетки и слущенные клетки канальцевого эпителия. Перитубулярные капилляры резко расширены, содержат стазы крови. Артерии с трансмуральным артериитом, выраженным артериосклероз. Артериолы с мукоидным набуханием интимы. Данные изменения соответствуют острому гуморальному отторжению трансплантата по Banff III. Пациенту была назначена терапия антитимоцитарным глобулином в дозе 100 мг. Однако на вторые сутки терапии при рентгенографии легких обнаружены воспалительные изменения в медиобазальных отделах правого легкого, в связи с чем от дальнейшего введения антитимоцитарного глобулина пришлось отказаться. Лечение проводилось пульс-терапией метилпреднизолоном в суммарной дозе 1,5 г и 3 сеансами каскадной плазмофильтрации. Назначена антимикробная, противогрибковая и противовирусная терапия, после которого состояние больного нормализовалось, пациент выписан в удовлетворительном состоянии на 53 сутки после АТП с диурезом 2600 мл и уровнем сывороточного креатинина 0,1 ммоль/л.

У четвертого пациента группы сравнения было два эпизода отторжения. При включении в настоящее исследование пациенту была выполнена повторная трансплантация почки. В связи с высоким иммунологическим риском ему проводили 3 сеанса плазмафереза и сорбция цитокинов для снижения тяжести реперфузионного повреждения. На момент трансплантации донор-специфичных антител в крови больного не выявлено. Несмотря на это, у

пациента развилась клиническая картина криза отторжения на 11 сутки после АТП. По данным биопсии ПАТ было выявлено острое клеточное отторжение, соответствующее Ib категории по Banff`07. Пациенту назначен ритуксимаб в суммарной дозе 300 мг в сочетании с 3 сеансами плазмафереза, что позволило купировать криз. На 30 сутки после АТП при проведении биопсии сохранялись остаточные явления острого канальцевого некроза. При выписке состояние трансплантата было удовлетворительное: креатинин 0,17 ммоль/л, СКФ 54 мл/мин, суточная протеинурия 0,2 г/сут. Второй эпизод отторжения у этого же пациента развился на 822 сутки после АТП и дебютировал макрогематурией, тошнотой, слабостью, головокружением, в анализе крови – повышение креатинина до 1,14 ммоль/л, мочевины 63,6 ммоль/л. Произведена имплантация 2х просветного центрального венозного катетера и экстренно проведен сеанс гемодиализа. На фоне проведения сеансов гемодиализа состояние пациента несколько улучшилось, была проведена биопсия ПАТ. В биоптате картина хронического активного смешанного отторжения – свечение C4d фрагментов комплемента на перитубулярных капиллярах, в большинстве клубочков ишемия различной степени выраженности, диффузно-очаговый склероз интерстиция лимфоцитами с примесью плазматических клеток и нейтрофилов до 3-5 клеток на срез канальца, в артериях и артериолах просвет сосудов сужен за счет мукоидного набухания и склероза интимы. Несмотря на проводимую противокризovou терапию, функцию ПАТ восстановить не удалось, в связи с чем была выполнена трансплантатэктомия и возврат пациента к программе гемодиализа.

Состояние пятого пациента группы сравнения с развитием отторжения ПАТ отторжение IA категории Banff`07 не сопровождалось яркой клинической картиной. По данным протокольной биопсии, проведенной на 30 сутки после АТП, отмечен отек интерстиция, резкая диффузно – очаговая инфильтрация интерстиция лимфоцитами с умеренной тенденцией к инвазии в канальцы (тубулит, до 5-7 клеток на сечение канальца). В отдельных канальцах отмечалось неравномерное снижение высоты канальцевого эпителия за счет

частичной утраты щеточной каймы и некроза отдельных тубулоцитов, в других канальцах – дистрофия канальцевого эпителия, перитубулярные капилляры расширены, содержат воспалительные клетки, в артериях отмечается артериосклероз. У пациента базисная иммуносупрессия была начата с приема циклоспорина. После конверсии на такролимус и пульс-терапии метилпреднизолоном мы отметили редукцию лабораторных признаков дисфункции ПАТ. При повторной биопсии – остаточные явления острого канальцевого некроза, хроническая трансплантационная нефропатия II степени. Пациент был выписан с удовлетворительной функцией ПАТ: креатинин 0,16 ммоль/л, СКФ 94 мл/мин и суточной протеинурией – 0,67 г/сут.

У шестого пациента группы сравнения развитие отторжения произошло на 594 сутки после АТП. На фоне клинической картины отторжения (ухудшение самочувствия, слабость), уровень креатинина повысился с 0,09 на 0,21 ммоль/л, СКФ снизилась с 83 до 36 мл/мин. Данный криз произошел на фоне низкой нулевой концентрации такролимуса - 4 нг/мл. При ультразвуковом обследовании трансплантат отечен, увеличен в размере. Пациент отказался от проведения биопсии ПАТ. Стабилизации функции ПАТ удалось добиться пульс-терапией метилпреднизолона в суммарной дозе 1,5 г, с последующей коррекцией дозы такролимуса. Пациент был выписан в удовлетворительном состоянии – креатинин 0,12 ммоль/л и СКФ 51 мл/мин.

У седьмого пациента группы сравнения имелась такая же клиника как у шестого, однако отторжение развилось на 665 сутки после АТП. Уровень креатинина вырос с 0,17 до 0,33 ммоль/л, а СКФ снизилась с 45 до 17 мл/мин. Пациент также отказался от проведения биопсии ПАТ. Была проведена пульс-терапия метилпреднизолона в суммарной дозе 1,5 г, что позволило улучшить функциональное состояние ПАТ и выписать пациента с креатинином 0,22 ммоль/л и СКФ 38 мл/мин.

Инцидентность (как функция риска) отторжения в основной группе составила 2,479 (95%ДИ 0,631; 6,748) на 100 пациенто-лет, а в группе сравнения – 9,877 (4,587; 18,75) 100 пациенто-лет. Риск отторжения в основной

группе был значительно ниже, чем в группе сравнения: IRR 0,2509 (95%ДИ 0,05386; 0,9167), $p=0,0358$. Бессобытийная выживаемость (до первого криза отторжения) была значительно выше в основной группе: – рисунок 3.4 (Log Rank $p=0,037$; Breslow $p=0,025$).

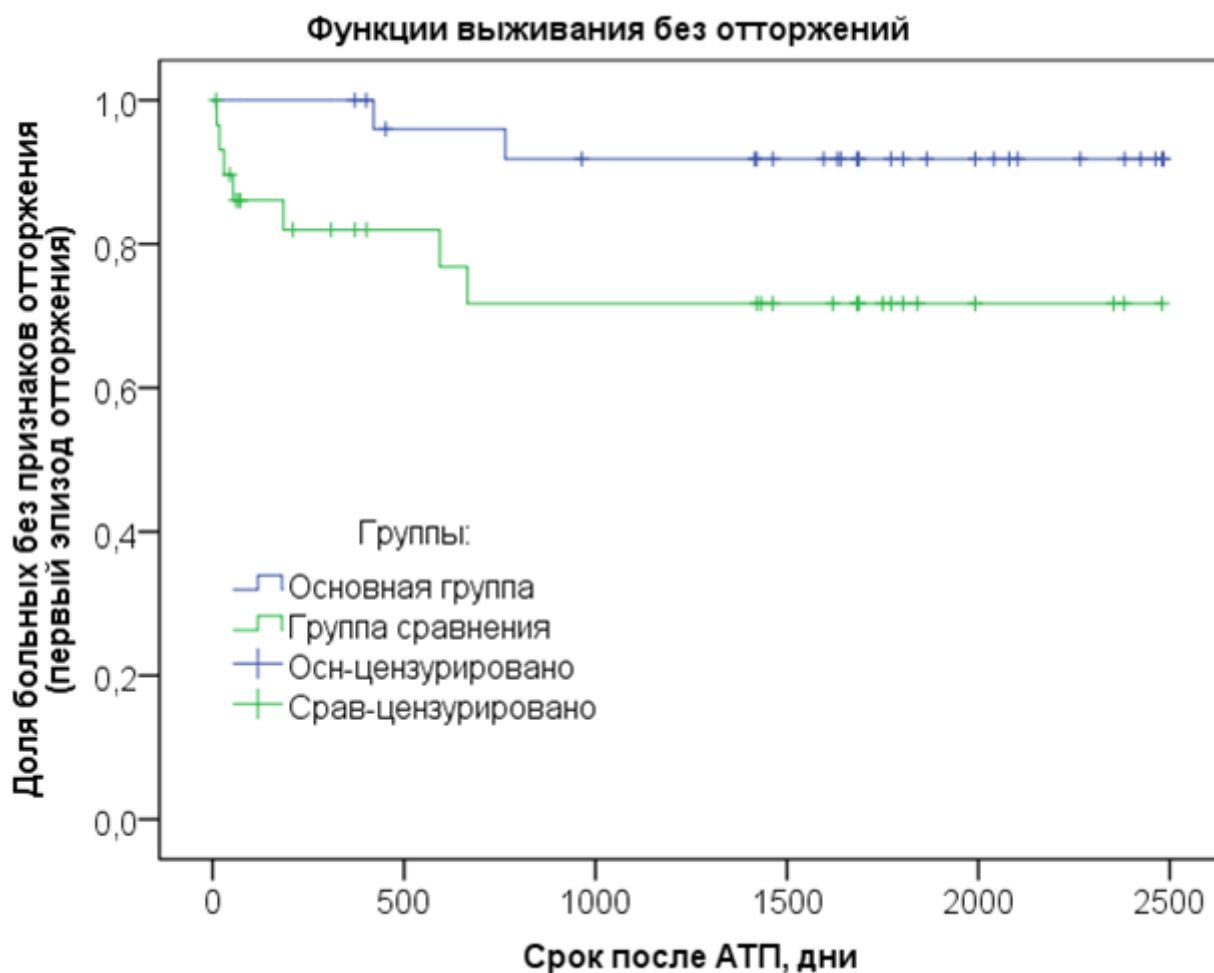


Рисунок 3.4 - График выживаемости без отторжения АТП в двух группах

Таким образом, мы можем заключить, что применение ТКИ в основной группе, позволило значительно снизить частоту развития отторжения, а также его тяжесть в позднем посттрансплантационном периоде.

3.3 Инфекционные осложнения

Несмотря на то, что современные иммуносупрессивные препараты улучшают выживаемость почечного трансплантата, они также способствуют развитию различных осложнений после трансплантации почки. Наиболее распространенными осложнениями являются сердечно-сосудистые осложнения, онкологические новообразования и инфекционные заболевания [21]. Последние зачастую значительно осложняют течение послеоперационного периода и занимают второе место по причине смерти реципиентов с функционирующим ПАТ после сердечно-сосудистых осложнений [30].

У 24 из 30 пациентов основной группы (80%) было зарегистрировано 52 эпизода инфекций и у 24 из 30 пациентов (80%) группы сравнения - 92 эпизодов инфекций. Мы проанализировали частоту встречаемости различных инфекционных осложнений у каждого пациента в двух группах – таблица 3.2.

Таблица 3.2 - Распределение количества любых эпизодов инфекций

количество эпизодов	основная группа, % (N пациентов)	группа сравнения, % (N пациентов)
1 эпизод	33,3% (8)	29,2% (7)
2 эпизода	33,3% (8)	4,2% (1)
3 эпизода	25% (6)	25% (6)
4 эпизода	4,2% (1)	8,3% (2)
5 эпизодов и более	4,2% (1)	33,3% (8)
всего эпизодов	100% (24)	100% (24)

В группе сравнения количество эпизодов инфекций, приходящихся на одного больного было приблизительно в два раза больше, чем в основной группе: из 24 пациентов группы сравнения у 10 пациентов (41,7%) было по 4 и более эпизода инфекций, в то время как в основной группе такое количество было всего у 2 пациентов (8,33%).

Мы проанализировали частоту развития любых инфекций в двух группах в зависимости от срока посттрансплантационного периода – рисунок 3.5.

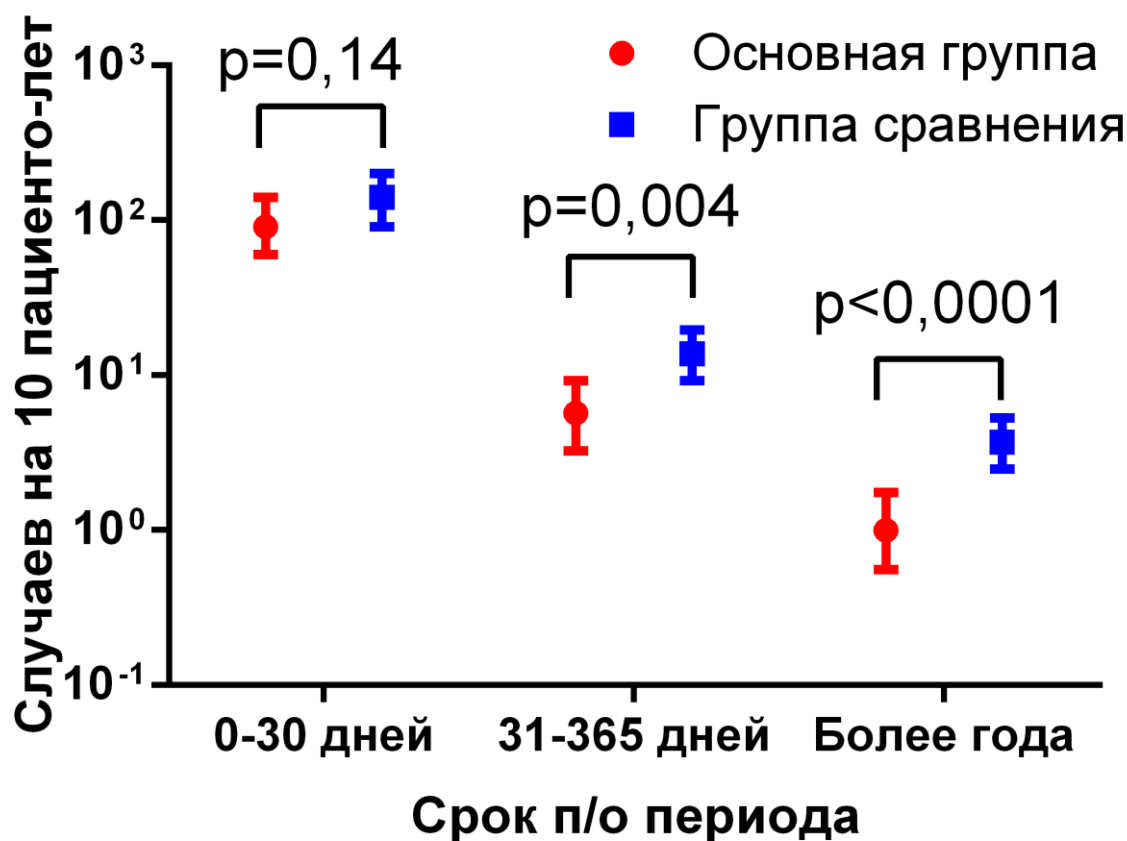


Рисунок 3.5 - Распределение всех эпизодов инфекций в посттрансплантационном периоде

Риск развития инфекций в обеих группах был непостоянен во времени. Мы выделили три ключевых временных периода. В течение первого месяца после АТП инцидентность («заболеваемость», отношение количества эпизодов инфекции к суммарному времени наблюдения) в основной группе составила 9,717 (95%ДИ 6,224; 14,46) на 1 пациенто-год. В группе сравнения – 14,41 (95%ДИ 9,976; 20,13). Таким образом, риск инфекционных осложнений за 1 месяц после АТП в основной группе был несколько меньше, чем группе сравнения: IRR 0,6761 (95%ДИ 0,3964; 1,139), $p=0,14$.

В период от 31 дня до конца первого года, инцидентность в основной группе 5,682 (95%ДИ 3,246; 9,227), а в группе сравнения – 13,72 (95%ДИ 9,258; 19,59) на 10 пациенто-лет. Таким образом, риск инфекционных осложнений в основной группе был меньше, чем группе сравнения: IRR 0,4139 (95%ДИ 0,2206; 0,7546), $p=0,00369$.

Третий период включал период свыше 1 года наблюдения, инцидентность в основной группе составила 9,993 (95%ДИ 5,518; 17,46), а в группе сравнения – 37,08 (95%ДИ 24,83; 53,26) на 100 пациенто-лет. Таким образом, риск инфекционных осложнений в основной группе был меньше, чем в группе сравнения: IRR 0,2695 (95%ДИ 0,1327; 0,5211), $p < 0,0001$.

Видно, что частота развития инфекций в обеих группах снижается по мере увеличения срока послеоперационного периода в геометрической прогрессии, однако в основной группе она ниже, чем в группе сравнения. За весь период наблюдения инцидентность в основной группе составила 4,299 (95%ДИ 3,21; 5,637), а в группе сравнения – 11,06 (95%ДИ 08,923; 11,06) на 10 пациенто-лет. Таким образом, риск инфекционных осложнений в основной группе был меньше, чем в группе сравнения: IRR 0,3888 (95%ДИ 0,2754; 0,5445), $p < 0,0001$.

Эпизоды инфекций были поделены на следующие типы – таблица 3.3.

Таблица 3.3 - Типы инфекционных осложнений после трансплантации почки

Тип инфекции	основная группа, % (N)	группа сравнения, % (N)
респираторные	3,85% (2)	9,68% (9)
пиелонефрит	5,77% (3)	4,3% (4)
бессимптомная бактериурия	50% (26)	50,54% (47)
виремия	40,38% (21)	34,4% (32)
все эпизоды	100% (52)	100% (92)

По клинической манифестации можно выделить две большие группы инфекционных осложнений: клинически значимые инфекции и бессимптомные. К первой группе мы отнесли респираторные инфекции и пиелонефрит. Ко второй группе – бессимптомные при наличии у пациента

бессимптомной бактериурии и вирусной инфекции, подтвержденной репликацией вируса без наличия клинических симптомов.

Рассмотрим каждый случай клинически значимых инфекций подробно.

В основной группе развитие респираторных инфекций имело место в двух случаях. У первого пациента к 18 суткам после АТП развился кашель, появились влажные хрипы в нижних участках легких, при проведении рентгенограммы диагностирована правосторонняя нижнедолевая пневмония, при качественной ПЦР-диагностике в крови выявлен вирус Эпштейн-Барра (ЭБВ). Начата комплексная антибактериальная и противовирусная терапия, при посеве мокроты выявлена *Klebsiella pneumoniae*. С учетом чувствительности была скорректирована антибактериальная терапия, состояние пациента нормализовалось. На 42 сутки пациент был выписан в удовлетворительном состоянии. У второго пациента через 1 год после АТП развился острый бронхит с ухудшением почечной функции - подъемом уровня креатинина с 0,08 до 0,17 ммоль/л, пациент был госпитализирован, проведена антибактериальная терапия с положительным эффектом. Также была проведена биопсия трансплантата, выявлена хроническая трансплантационная нефропатия I степени, ранние признаки развития токсичности ингибиторов кальцинейрина, в связи с чем была проведена коррекция дозы такролимуса, уровень креатинина при выписке составил 0,11 ммоль/л.

В группе сравнения наблюдалось 9 эпизодов респираторных инфекций у 6 пациентов.

Первый случай пневмонии, осложнившейся плевритом и гидротораксом, развился у пациента группы сравнения на 15 сутки после АТП. Пациент был госпитализирован, назначена антибактериальная терапия, под контролем ультразвукового обследования произведено дренирование правой плевральной полости. При пункции получен серозный экссудат, произведен его посев, по результатам которого обнаружена *Mycoplasma pneumoniae*. Произведена коррекция антибактериальной терапии с учетом чувствительности возбудителя. Через месяц, по завершению лечения, на контрольных рентгенограммах

органов грудной клетки легкие расправлены, жидкость в плевральных полостях не определяется. Пациент выписан в удовлетворительном состоянии. У этого же пациента на втором году после АТП развилась правосторонняя нижнедолевая пневмония. В ходе проведения комплексной антибактериальной терапии состояние пациента улучшилось при этом изменения со стороны почечной функции не наблюдалось. Пациент был выписан на 21 сутки госпитализации. В дальнейшем на 3 году после АТП у пациента развился острый бронхит на фоне ОРВИ без изменений на рентгенограмме, проведено комплексное лечение антибактериальными и противовирусными препаратами с выздоровлением через неделю терапии.

У второго пациента респираторная инфекция возникла на фоне лечения криза отторжения трансплантата (Banff 07 – категория III). Пациенту была назначена терапия антитимоцитарным глобулином в дозе 100 мг. На вторые сутки при рентгенографии органов грудной клетки обнаружены очаговые изменения в медиобазальных отделах правого легкого. Введение антитимоцитарного глобулина было отменено. Пациенту назначена комплексная антибактериальная, противогрибковая и противовирусная терапия, после которой состояние пациента нормализовалось. Он был выписан в удовлетворительном состоянии на 53 сутки после АТП.

На втором году после трансплантации у третьего пациента группы сравнения возникла резкая слабость, малопродуктивный кашель с подъемом температуры до 39 °С. Пациент был госпитализирован, на рентгенограмме органов грудной клетки картина двухсторонней нижнедолевой пневмонии. Пациенту был сделан посев мокроты на определение чувствительности к антибиотикам, начата эмпирическая антибактериальная терапия. Однако на фоне терапии состояние пациента оставалось тяжелым, на повторной рентгенограмме прогрессировали изменения в легких, нарастала дыхательная недостаточность. При посеве была выявлена *Klebsiella pneumoniae*. В связи с тяжелым течением инфекции были проведены три процедуры сорбции эндотоксина, на фоне которых состояние пациента значительно улучшилось,

нормализовалась температура. Была скорректирована антибактериальная терапия с учетом чувствительности. Пациент был выписан в удовлетворительном состоянии через 27 дней после госпитализации.

У четвертого пациента группы сравнения на 5 году после АТП диагностирован очаговый туберкулез в фазе инфильтрации и распада, требующий экстренной госпитализации в профильный стационар. На фоне лечения противотуберкулезными препаратами (офлоксацин, изониазид, амикацин, пиразинамид) в течение недели температура тела нормализовалась, а спустя 3 недели ушли симптомы интоксикации. Через 2 месяца наступила негитивация мокроты, и пациент был выписан в удовлетворительном состоянии для амбулаторного лечения в противотуберкулезном диспансере.

У пятого пациента через 2 месяца после АТП развилась двухсторонняя пневмоцистная пневмония, пациент поступил в отделение по экстренным показаниям в связи с нарастанием интоксикации и явлениями дыхательной недостаточности. Была начата комплексная терапия: минимизация иммуносупрессивной терапии, комбинированная антибактериальная, противовирусная, инфузионно-детоксикационная терапия, ингаляционные бронходилататоры. Производные микофеноловой кислоты были временно отменены. Все дозы лекарственных препаратов корректировались согласно клиренсу креатинина. Несмотря на проводимое лечение, состояние пациента прогрессивно ухудшалось: сохранялась лихорадка, нарастали клинические явления дыхательной недостаточности, на рентгенограмме нарастали интерстициальные изменения и инфильтрация. Пациент был переведен в отделение реанимации, в связи с нарастающей дыхательной недостаточностью начата искусственная вентиляция легких. На 30-е сутки лечения на фоне нарастающей сердечно-легочной недостаточности пациент умер.

Похожий случай, возник у шестого пациента группы сравнения с легочными инфекциями. У пациента развитие ХБП 5 стадии собственных почек возникло в результате хронического тубулоинтерстициального нефрита. Через 2 месяца после АТП развилась правосторонняя микст-пневмония

(бактериальная, грибковая, вирусная). Несмотря на проведение комплексной терапии с курсом гемосорбции эндотоксина у пациента наблюдалось стремительное ухудшение состояния, развитие полиорганной недостаточности и сепсиса согласно международным рекомендациям по лечению сепсиса и септического шока (третий пересмотр, 2016 года) [131]. Пациент был переведен в отделение интенсивной терапии с нарастающей дыхательной, сердечно-сосудистой недостаточностью и переводом на искусственную вентиляцию легких. На фоне интенсивной терапии прогрессировала отрицательная динамика, нарастала дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность, через сутки нахождения в отделении реанимации наступила смерть от остановки сердечной деятельности на 2 месяце после АТП.

В основной группе пиелонефрит развился у трех пациентов. У первого пациента причиной развития ХБП 5 стадии послужил поликистоз почек, который периодически осложнялся развитием пиелонефрита. В связи с этим за 1 год до АТП пациенту была удалена правая, а вовремя АТП - левая почка. После АТП, при проведении бактериологического исследования мочи на 10 сутки после трансплантации была выделена *Escherichia coli* в титре 1×10^5 колониеобразующие единицы в мл (КОЕ/мл). Несмотря на начало антибактериальной терапии к 14 суткам у пациента появились жалобы на, повышение температуры тела до 38 °С, помутнение мочи и уменьшение ее количества. По данным ультразвукового исследования у больного отсутствовали изменения в чашечно-лоханочной системе трансплантата или другие признаки обструкции мочевыводящих путей. Было заподозрено развитие острого пиелонефрита трансплантата. Пациенту было проведено три процедуры сорбции эндотоксина, на фоне лечения температура нормализовалась. На основании данных о чувствительности микроорганизма к антибактериальной терапии несколько раз вносились изменения в лечение данного пациента. На 28 сутки при повторном бактериологическом исследовании моча была стерильна. На 34 сутки после АТП пациент был

выписан в удовлетворительном состоянии с уровнем креатинина 0,12 ммоль/л, СКФ 68 мл/мин.

Второй пациент из основной группы к концу 2 года после АТП стал отмечать учащенное и болезненное мочеиспускание, уменьшение количества мочи, боли в области трансплантата, повышение температуры тела до 39 °С. При госпитализации область трансплантата болезненна при пальпации, отмечается рост креатинина с 0,07 до 0,17 ммоль/л, падение СКФ до 41 мл/мин и появления протеинурии до 0,37 г/сут. В общем анализе крови – лейкоцитоз, повышение СОЭ. В общем анализе мочи - лейкоцитурия. По данным ультразвукового исследования трансплантированной почки в левой подвздошной области выявлено умеренное расширение чашечно-лоханочной системы трансплантата, неоднородность почечной паренхимы с участками уплотнений. Признаков конкрементов, нарушения пассажа мочи по мочеточнику трансплантата или явлений паранефрита не выявлено. На фоне проводимой антибактериальной терапии пиелонефрита через 14 дней при контрольном бактериологическом исследовании мочи признаков инфекции мочевых путей (ИМП) не выявлено. Также была проведена диагностическая биопсия ПАТ, по результатам которой была выявлена хроническая трансплантационная нефропатия I степени, признаки токсичности ингибиторов кальцинейрина. Была проведена коррекция иммуносупрессивной терапии. Пациент выписан с улучшением почечной функции, уровнем креатинина 0,12 ммоль/л, СКФ 58 мл/мин и суточной протеинурией 0,12 г/сут на 29 сутки.

У третьего пациента основной группы через 2 года после АТП впервые возник эпизод острого пиелонефрита ПАТ с повышением температуры тела до субфебрильных значений, выраженной болезненностью в области ПАТ. При ультразвуковом исследовании трансплантата выявлен отек паренхимы. Развитие пиелонефрита привело к ухудшению функции ПАТ (уровень креатинина составил 0,37 ммоль/л, СКФ - 31 мл/мин). По данным бактериологического исследования мочи отмечен рост *Escherichia coli* 1×10^6 КОЕ/мл. В общем анализе мочи лейкоцитурия, микрогематурия, бактериурия. В

общем анализе крови нейтрофильный лейкоцитоз, повышение СОЭ. Проводилась антибактериальная терапия с учетом чувствительности к антибиотикам с положительным клиническим эффектом. На фоне медикаментозного лечения функция ПАТ улучшилась (уровень креатинина составил 0,12 ммоль/л, СКФ - 66 мл/мин), пациент был выписан из стационара через 3 недели.

В группе сравнения, подобно основной группе, развитие пиелонефрита ПАТ имело место у трех пациентов, у одного из пациентов с рецидивирующим течением. Так, у первого пациента пиелонефрит развился на 17 сутки после трансплантации с подъемом креатинина с 0,15 до 0,26 ммоль/л, снижением суточного диуреза до 400 мл и повышение температуры тела до 38 °С. В клиническом анализе мочи выявлена лейкоцитурия, протеинурия до 0,4 г/л. По данным ультразвукового исследования трансплантата патологических изменений не было выявлено. Был заподозрен криз отторжения, в связи с чем выполнена биопсия трансплантата. Картина биоптата представлена 10 клубочками, в одном из которых наблюдается сильная нейтрофильная инфильтрация и тромбоз капиллярных петель. Остальные клубочки без изменений. Наблюдается отек интерстиция воспалительными клетками с преобладанием нейтрофилов. Многие каналы содержат лейкоцитарные цилиндры. Артерии и артериолы без особенностей. Данные по иммунофлуоресценции биоптата отрицательные. Картина биоптата расценена как острый пиелонефрит, назначена антибактериальная терапия. По результатам бактериологического исследования мочи выделен *Enterobacter spp.* в титре 1×10^5 КОЕ/мл, была скорректирована антибактериальная терапия с учетом чувствительности. Проведено два сеанса селективной сорбции эндотоксина. На 35 сутки после АТП пациент выписан из отделения в удовлетворительном состоянии с уровнем креатинина 0,14 ммоль/л, СКФ 73 мл/мин, суточной протеинурией до 0,2 г/л.

У второго пациента с нефрэктомией собственных почек эпизод пиелонефрита ПАТ развился через 1 год после АТП. Ему предшествовала

бессимптомная бактериурия в течение 8 месяцев, вызванная *Escherichia coli* в титре 1×10^4 - 10^5 КОЕ/мл. Периодически проводилась антибактериальная терапия с учетом чувствительности к антибиотикам со снижением титра $<10^3$ КОЕ/мл. Несмотря на проведение превентивной терапии, у пациента развился пиелонефрит ПАТ с повышением температуры тела до субфебрильных значений, уровень креатинина возрос с 0,15 до 0,25 ммоль/л, СКФ снизился с 67 до 39 мл/мин. При ультразвуковом исследовании у пациента были выявлены: диффузная акустическая неоднородность почечной паренхимы, расширение и деформация чашечно-лоханочной системы без признаков наличия конкрементов. В посевах мочи выявлены *Staphylococcus aureus* в 1×10^4 КОЕ/мл и *Escherichia coli* в 1×10^6 КОЕ/мл, начата антибактериальная терапия. Через неделю нормализовались клинико-лабораторные показатели, состояние пациента улучшилось, но так и не удалось добиться стерильности при бактериологическом исследовании мочи (*Escherichia coli* $<1 \times 10^3$ КОЕ/мл). Пациент был выписан в удовлетворительном состоянии на 21 сутки после госпитализации. В дальнейшем, еще через 1 год у пациента возник повторный эпизод острого пиелонефрита с подъемом температуры до 38 °С без признаков дисфункции ПАТ. При бактериологическом исследовании мочи выявлен *Escherichia coli* в 1×10^6 КОЕ/мл. При назначении антибактериальной терапии с учетом чувствительности удалось добиться успешным полной стерильности мочи в течение 2 недель, после чего пациент был выписан из стационара. В дальнейшем у пациента имелся повторный рост *Escherichia coli* до 1×10^4 КОЕ/мл без признаков системного воспаления и развития пиелонефрита ПАТ.

Третий пациент не имел клинических проявлений пиелонефрита, однако через 2 года после АТП отмечено стойкое снижение функции трансплантата: уровень креатинина увеличился до 0,32 ммоль/л, СКФ снизилась до 67 мл/мин, суточная протеинурия составила 0,9 г/сутки, наблюдалась выраженная лейкоцитурия, при повторных бактериологических исследованиях мочи выделена *Escherichia coli* 1×10^7 КОЕ/мл. По данным УЗИ патологических изменений функционирующего трансплантата не было выявлено, собственные

почки сморщены, их чашечно-лоханочная система не расширена. По данным компьютерной томографии нарушения пассажа мочи не выявлено. Проведена биопсия ПАТ, признаков отторжения не выявлено. Начата антибактериальная терапия, на фоне которой исчезли лейкоцитурия, протеинурия, бактериурия. Пациент выписан в удовлетворительном состоянии со снижением креатинина до 0,2 ммоль/л, СКФ 47 мл/мин, суточной протеинурией 0,5 г/сутки.

Бессимптомная бактериурия (ББ) встречается довольно часто у больных после АТП (от 26 до 61% случаев) [3]. Согласно последним клиническим рекомендациям, выявление ББ у пациентов с ПАТ требует назначение лечения антибактериальными препаратами, так как всегда имеется потенциальный риск прогрессирования ББ до клинически значимой ИМП [30; 21]. Также всем реципиентам ПАТ рекомендовано проводить раннюю профилактику ИМП с помощью ежедневного приема ко-тримоксазола в течение первых 6 месяцев после АТП [21].

В нашем исследовании ББ была отмечена у 18 из 30 пациентов основной группы (60%) и у 17 из 30 пациентов группы сравнения (56%). Как правило, антибактериальная терапия назначалась с учетом определения чувствительности микроорганизма к антибиотикам. Эти инфекции в большинстве случаев имеют тенденцию к частому рецидивированию. В основной группе было отмечено 26 эпизодов ББ, в группе сравнения – 47 эпизодов. Клинически значимые ИМП были описаны выше, лечение остальных эпизодов ББ проводилось в амбулаторных условиях.

Мы проанализировали основные патогены, выявляемые при посеве мочи у больных с ББ – таблица 3.5.

При оценке возбудителей, выявляемых при ББ, в обеих группах преобладала грамотрицательная флора – 53,8% в основной группе и 50,9% в группе сравнения. В основной группе несколько чаще обнаруживались *Escherichia coli* – 34,6%, в группе сравнения – 25,4%, *Klebsiella pneumoniae* приблизительно в равных пропорциях – 15,4% в основной группе и 17% в

группе сравнения. *Pseudomonas aeruginosa* встречалась в 1 случае (3,8%) основной группы и 4 случаях (8,5%) группы сравнения.

Таблица 3.5 - Основные возбудители, выявляемые при бессимптомной бактериурии, процент (количество эпизодов)

Основные возбудители:	Основная группа, % (N эпизодов)	Группа сравнения, % (N эпизодов)
грамположительные		
<i>Enterococcus faecium</i>	11,6% (3)	10,6% (5)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,7% (2)	6,4% (3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	11,6% (3)	4,3% (2)
грамотрицательные		
<i>Escherichia coli</i>	34,6% (9)	25,4% (12)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15,4% (4)	17% (8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,8% (1)	8,5 (4)
паразитарные		
<i>Mycoplasma hominis</i>	3,8% (1)	6,4% (3)
<i>Toxoplasma gondii</i>	3,8% (1)	6,4% (3)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0	4,3% (2)
грибковая инфекция		
<i>Candida albicans</i>	7,7% (2)	6,4% (3)
<i>Candida krusei</i>	0	4,3% (2)
Итого	100% (26)	100% (47)

После грамотрицательной флоры на втором месте в обеих группах оказалась грамположительная инфекция – 30,9 % в основной группе и 21,3% в группе сравнения. Частота встречаемости *Enterococcus faecium* и *Staphylococcus aureus* по процентному соотношению была приблизительно равна в обеих группах, однако *Streptococcus pneumoniae* несколько чаще наблюдалась в основной группе – 11,6% против 4,3% группы сравнения.

В большей части посевов у группы сравнения мы обнаружили инфекцию, вызываемую различными видами микоплазм – 17,1% против 7,6% в основной группе. В основной группе мы обнаружили по 1 эпизоду *Mycoplasma hominis* и *Toxoplasma gondii*. В группе сравнения частота встречаемости *Mycoplasma*

hominis - 6,4% (3), *Toxoplasma gondii* - 6,4% (3) и *Ureaplasma urealyticum* - 4,3% (2).

Несколько чаще в группе сравнения обнаруживались дрожжеподобные грибы. Встречаемость *Candida albicans* была приблизительно одинакова – 7,7% в основной группе и 6,4% в группе сравнения. Однако в группе сравнения обнаруживался *Candida krusei* 4,3% (2), в то время как в основной группе его не было выявлено.

Доля микроорганизмов в двух группах были сопоставимы. Это косвенно свидетельствует о том, что пациенты обеих групп в одинаковой мере подвержены контаминации вне- и внутрибольничными штаммов инфекции.

Наличие вирусной инфекции было диагностировано по данным ПЦР обследования – таблица 3.6.

Таблица 3.6 Результаты вирусологического обследования пациентов обеих групп

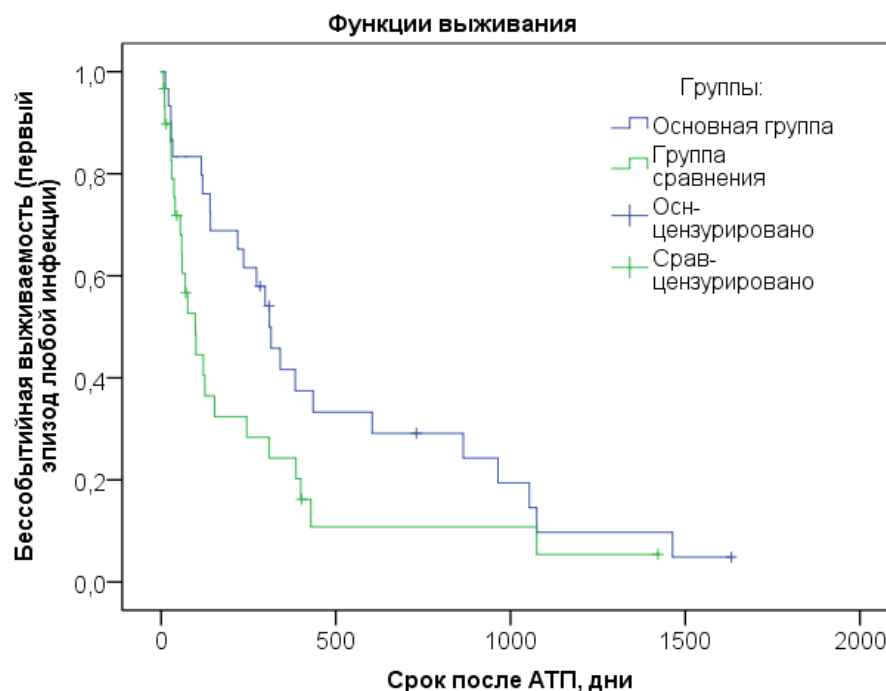
Основные возбудители:	основная группа, % (N эпизодов)	группа сравнения, % (N эпизодов)
Цитомегаловирус (ЦМВ)	23,8% (5)	21,9% (7)
Вирус Эпштейн-Барра (ЭБВ)	47,6% (10)	31,3% (10)
Вирус простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ-1,2)	28,6% (6)	37,5% (12)
Вирус ветряной оспы (ВВО)	0	6,2% (2)
гепатит В (ВГВ)	0	3,1% (1)
итого	100% (21)	100% (32)

В целом количество эпизодов выявленной вiremии в основной группе было ниже в 1,5 раза (21 положительный анализ в основной группе против 32 в группе сравнения). По распределению частоты встречаемости вирусов в основной группе преобладала верификация ЭБВ – 47,6%, против группы сравнения 31,3%. В обеих группах ЦМВ встречался в равных пропорциях 23,8% в основной и 21,9% в группе сравнения. В группе сравнения преобладала ВПГ-1,2 37,5% и ВВО – 6,2%. Как правило, вiremия, вызванная ЦМВ, ЭБВ, ВПГ-1,2, ВВО у всех пациентов носила транзиторных характер и при назначении противовирусной терапии спонтанно элиминировалась в течение 2

недель – 1 месяца. У двух пациентов основной группы и у трех пациентов группы сравнения в отдаленном посттрансплантационном периоде была реактивация ЦМВ, осложнившаяся дисфункцией трансплантата. По результатам морфологического исследования выявлены пограничные изменения с лимфоцитарной инфильтрацией канальцев до 2-4 клеток.

В группе сравнения был эпизод реактивации гепатита В. У этого пациента на момент трансплантации наблюдалась полная клинико-лабораторная ремиссия хронического гепатита В, однако на 1693 сутки после АТП при плановом обследовании была выявлена желтушность кожных покровов, слизистых, связанная с реактивацией гепатита по лабораторным показателям. Пациент был направлен в профильный стационар для проведения дополнительных обследований и лечения. Однако на фоне развития фульминантного гепатита пациент умер в связи с развитием острой печеночно-почечной недостаточности на 1698 сутки после АТП.

Мы рассчитали бессобытийную выживаемость, где событием считали возникновение первого эпизода инфекции – рисунок 3.6.



Различия в кривых бессобытийной выживаемости были статистически значимы: Log Rank $p=0,043$; Breslow $p=0,018$.

3.4. Заключение по главе

Таким образом, можно сделать следующие заключения:

1. Двухфакторный дисперсионный анализ свидетельствует, что ранее применение ТКИ способствует достоверному улучшению функции почечного трансплантата в позднем послеоперационном периоде, что подтверждается динамикой креатинина (RMANOVA, $P=0,0129$), клубочковой фильтрации (RMANOVA, $P=0,011$) и суточной протеинурии (RMANOVA, $P=0,027$).

2. На фоне применения трансляционной клеточной иммунотерапии снижается риск отторжения почечного трансплантата (IRR 0,2509; 95% ДИ: от 0,05386 до 0,9167).

3. На фоне применения трансляционной клеточной иммунотерапии снижается риск развития инфекционных осложнений (IRR 0,3888; 95%ДИ 0,2754; 0,5445).

ГЛАВА 4. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ, ЛЕКАРСТВЕННАЯ ИММУНОСУПРЕССИВНАЯ ТЕРАПИЯ, ВЫЖИВАЕМОСТЬ ТРАНСПЛАНТАТОВ И РЕЦИПИЕНТОВ

4.1 Особенности иммуносупрессивной терапии в двух группах

Основные компоненты иммуносупрессии, подверженные значительным изменениям – это, как правило, начальная доза метилпреднизолона и концентрация базисного иммуносупрессанта - такролимуса.

Индукционная терапия осуществлялась приемом базиликсимаба 20 мг внутривенно в первый день за 2 часа до трансплантации ПАТ и на 4-е послеоперационные сутки. Метилпреднизолон вводился внутривенно капельно во время трансплантации 10 мг/кг, затем на 1-е и 4-е сутки по 250 мг. В течение первых 3 месяцев после АТП доза преднизолона постепенно снижалась до поддерживающей и составляла 5-10 мг в сутки. Препараты микофеноловой кислоты или микофенолата мофетил назначались в стартовой дозе 720 мг 2 раза в сутки или 1000 мг 2 раза в сутки соответственно, начиная с 3 недели происходило снижение дозы в 2 раза. Стартовая доза такролимуса составила 0,12-0,2 мг/кг массы тела в сутки. Поддерживались общепринятые целевые концентрации препарата в крови: 1 месяц C_0 8-15 нг/мл, 2-3 месяц – 8-12 нг/мл, 3-6 месяц – 8-10 нг/мл, 6-12 месяцы 7-8 нг/мл, >12 месяцев – 5-8 нг/мл. Контроль концентрации такролимуса в крови проводился 1-2 раза в неделю с последующей коррекцией суточной дозы, затем раз в 1-2 месяца с последующей коррекцией суточной дозы.

В отдаленном посттрансплантационном периоде все пациенты придерживались стандартного трёхкомпонентного иммуносупрессивного протокола, состоящего из такролимуса, преднизолона и препаратов микофеноловой кислоты или микофенолата мофетила.

В дальнейшем мы придерживались тактики снижения дозы такролимуса при стабильной функции ПАТ и отсутствия признаков отторжения по данным

протокольных биопсий на 30 и 180 сутки после АТП. Если по биопсии отсутствовали признаки отторжения и функция ПАТ была стабильна, начиная с 180 суток пробовали постепенно снижать концентрацию такролимуса у пациентов обеих групп. При дисфункции ПАТ делали биопсии по требованию. Если были признаки отторжения – проводили терапию, согласно стандартным протоколам лечения криза отторжения. Если по биопсии имелись признаки хронической трансплантационной нефропатии без признаков отторжения или наличия токсичности ингибиторов кальцинейрина – то проводили постепенное снижение дозы такролимуса.

Как показал дисперсионный анализ с повторными измерениями, динамика средней C_0 концентрации такролимуса в крови в основной группе статистически значимо отличалась от группы сравнения ($p=0,0017$) – рисунок 4.1. Пациенты основной группы на протяжении первого года после АТП имели сопоставимую с группой сравнения концентрацию: так, через 3 месяца в основной группе концентрация была $9,24 \pm 2,71$ нг/мл, в группе сравнения – $11,97 \pm 4,66$ нг/мл ($p=0,61$). Однако начиная с 1,5 лет (Основная группа – $6,64 \pm 0,89$ нг/мл, группа сравнения – $8,14 \pm 0,96$, $p=0,004$) и до конца анализируемого периода различия были статистически значимы.

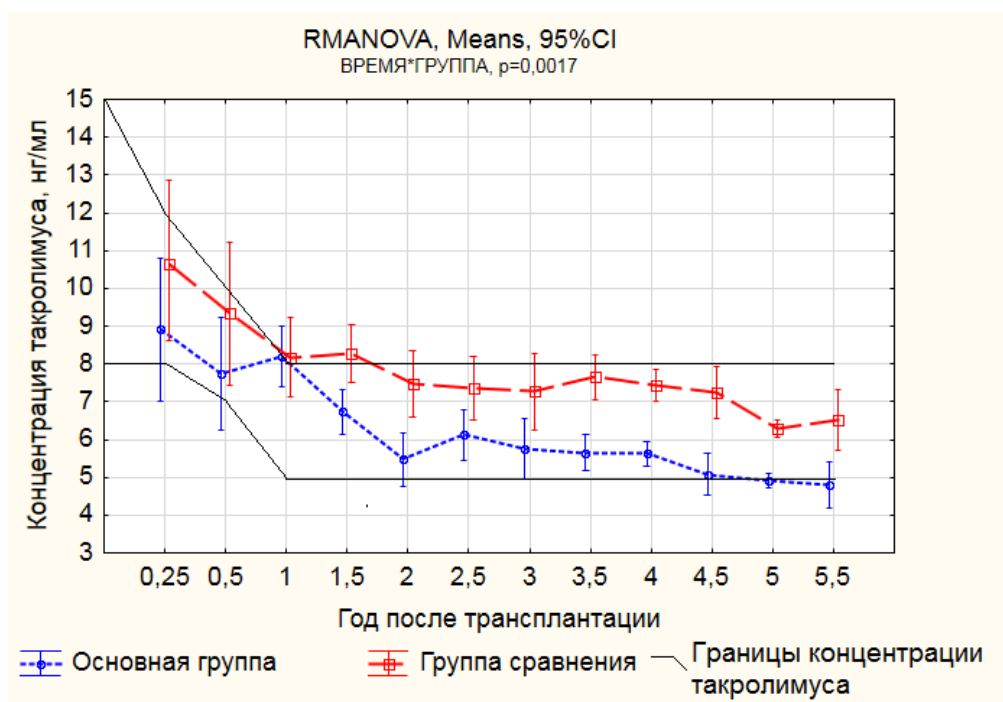


Рисунок 4.1 - График концентрации такролимуса в обеих группах

На этапе в 2 года после АТП у 13 больных основной группы со стабильной функцией ПАТ была снижена концентрацию такролимуса на 20% ниже рекомендованной без повышения риска отторжения в последующем наблюдении. Таким образом, в целом концентрация такролимуса в основной группе была ниже на 23% чем в группе сравнения. Средняя концентрация такролимуса в основной группе была ниже целевой через 5 лет после АТП при стандартной трехкомпонентной иммуносупрессии, состоящей из такролимуса, преднизолона и препаратов микофеноловой кислоты.

4.2 Результаты иммунологических тестов

Все пациенты, взятые на момент проведения иммунологических исследований, статистически не различались по возрасту и сроку после АТП, однако отличались по концентрации основного препарата иммуносупрессии – такролимуса – таблица 4.1.

Таблица 4.1 - Клиническая характеристика обследуемых, М±SD

Показатель	Основная группа [1]	Группа сравнения [2]	P ₁₋₂	Практически здоровые лица
Возраст пациентов (лет)	45,94±10,51	49,53±12,9	0,53	39,62±8
Время после АТП (лет)	3,6±1,88	4±1,94	0,66	не было АТП
концентрация такролимуса в крови (нг/мл)	5,41±0,99	6,98±2,04	0,047	не было АТП

Иммунологические исследования проводились на фоне отсутствия инфекционных осложнений, клинических и морфологических признаков отторжения трансплантата.

В последующем было проведено сравнительное исследование основных субпопуляции лимфоцитов у больных двух групп и их сравнение с показателями практически здоровых лиц – кадровых доноров крови отделения

переливания крови ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского – таблица 4.2.

Таблица 4.2 - Количественные показатели основных клеточных субпопуляций у больных после ПАТ в двух группах, M±SD

Показатель	Основная группа [1]	Группа сравнения [2]	P ₁₋₂	Практически здоровые лица [3]	P ₁₋₃	P ₂₋₃
лимфоциты (10 ⁶ /л)	2067±445	1822±529	0,26	2006±399	0,7	0,4
CD3+ (%)	78,7±10,4	81,2±8,4	0,54	75,6±6,59	0,68	0,11
CD3+CD4+ (%)	48,5±7,3	43±4,6	0,04	45,2±5,6	0,26	0,3
CD3+CD8+ (%)	29,5±8,9	36,1±8,6	0,09	27,1±6,24	0,4	0,016
соотношение CD4+/CD8+	1,83±0,72	1,29±0,49	0,04	1,75±0,46	0,73	0,035
CD19+ (%)	7,73±3	5,06±2,1	0,02	10,8±2,98	0,01	<0,001
CD3- CD16+CD56+ (%)	11,8±9,8	11,6±9	0,96	11,6±6,15	0,95	0,99
CD3+CD16+CD56+ (%)	7,8±5,68	8,06±5,85	0,92	7,21±4,33	0,75	0,65

Как видно из таблицы 4.2. в основной группе было отмечено более высокое количество Т-хелперной субпопуляции лимфоцитов (CD3+CD4+) 48,5±7,3%, чем в группе сравнения 43±4,6% (p=0,04). При сравнении данных групп с практически здоровыми лицами 45,2±5,6%, в основной группе имелась некоторая тенденция к увеличению количества Т-хелперной субпопуляции (p=0,26), а в группе сравнения - тенденция к снижению (p=0,3), при этом достоверных различий не наблюдалось. Такие изменения могут характеризовать, что в основной группе среди Т-хелперной субпопуляции

лимфоцитов имеется большее количество Т-супрессорной субпопуляции лимфоцитов, чем в группе сравнения.

При анализе Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+) между основной группой $29,5 \pm 8,9\%$ и группой сравнения $36,1 \pm 8,6\%$ отмечалась некоторая тенденция к их увеличению в группе сравнения ($p=0,09$). В группе сравнения уровень Т-цитотоксических лимфоцитов был выше, чем в группе практически здоровых лиц $27,1 \pm 6,24\%$ ($p=0,016$). Это демонстрирует, что, несмотря на более высокие уровни иммуносупрессии в группе сравнения, ее дозы оказывается недостаточно для количественного снижения Т-цитотоксических лимфоцитов. В основной группе и группе практически здоровых лиц различий не отмечалось ($p=0,4$).

Иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+) был выше в основной группе $1,83 \pm 0,72$, чем в группе сравнения $1,29 \pm 0,49$ ($p=0,04$), и не отличался от практически здоровых лиц без АТП $1,75 \pm 0,46$ ($p=0,73$). В группе сравнения иммунорегуляторный индекс был достоверно ниже, чем в группе практически здоровых лиц ($p=0,035$).

Данные показатели для Т-клеточного звена иммунитета характеризуют, что в группе сравнения сохраняется состояние иммунодефицита, обусловленное большей дозой иммуносупрессивной терапии. В основной группе уровень Т-клеточного звена иммунитета был максимально приближен к практически здоровым лицам, что может свидетельствовать о поддержании иммунологического гомеостаза и больших возможностях по развитию иммунного ответа на риски инфекционных осложнений.

Уровень В-лимфоцитов (CD19+) в основной группе $7,73 \pm 3\%$, был достоверно больше по сравнению с группой сравнения $5,06 \pm 2,1\%$ ($p=0,02$), однако ниже значений практически здоровых лиц $10,8 \pm 2,98\%$ ($p=0,01$). В группе сравнения количество В-лимфоцитов более значимо отличалось от практически здоровых лиц без АТП ($p < 0,0001$). В обеих группах наблюдалось снижение количества В-лимфоцитов по отношению к практически здоровым

лицам, однако в группе сравнения уровень В-лимфоцитов был более низким, что коррелировало с дозой иммуносупрессивной терапии.

Количество естественных киллерных клеток (CD3-CD16+CD56+) и Т-киллерных клеток (CD3+CD16+CD56+) в обеих исследуемых группах статически не различались ($p=0,96$ и $p=0,92$ соответственно), а также при попарном сравнении с практически здоровыми лицами.

Ранее было продемонстрировано [32], что в раннем посттрансплантационном периоде в группе с ТКИ, по сравнению с группой без ТКИ, отмечалось снижение содержания наивных Т-лимфоцитов, имеющих фенотип: CD3+CD4+CD45RO-CD28+, а также снижение плотности экспрессии (MFI) молекул CD28+ на данной субпопуляции лимфоцитов к 30 суткам после АТП. Это может указывать на снижение второго коактивационного пути Т-хелперных лимфоцитов, снижение активации Т-хелперных лимфоцитов (CD3+CD4+), что, в свою очередь, приводит к снижению содержания специфических аллогенных Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+). Отсутствие процессов отторжения в отдаленном посттрансплантационном периоде через $4\pm 2,2$ года послужило основанием для изучения данных маркеров - таблица 4.3.

Таблица 4.3 - Показатели экспрессии CD28+ на наивных Т-хелперных лимфоцитах, $M\pm SD$

Показатель	Основная группа [1]	Группа сравнения [2]	P_{1-2}	Практически и здоровые лица [3]	P_{1-3}	P_{2-3}
CD3+CD4+CD45RO-CD28+ (%)	41,77±7,05	40,05±8,36	0,46	42,42±4,8	0,75	0,44
CD3+CD4+CD45RO-CD28+ ($10^6/\mu$)	781±385	539±372	0,14	850±211	0,52	0,04
MFI, усл. ед	307,93±73,47	288,03±35,8	0,47	290,21±77,1	0,51	0,92

Из представленных в таблице результатов было установлено отсутствие различий между группами, а полученные значения в основной группе

соответствуют показателям здоровых людей без ПАТ ($p=0,52$). В группе сравнения количественный показатель наивных лимфоцитов ($CD3+CD4+CD45RO-CD28+$) 539 ± 372 ($10^6/л$) был достоверно ниже группы практически здоровых лиц 850 ± 211 ($10^6/л$) ($p=0,04$), что может быть связано с избыточностью воздействия лекарственной иммуносупрессивной терапии.

Отсутствие каких-либо выраженных процессов отторжения при снижении иммуносупрессивной нагрузки свидетельствует о формировании иммунорегуляторных клеток, наличие которых обусловлено длительным отсутствием второго коактивационного пути со стороны наивных Т-хелперных лимфоцитов.

Известно, что Т-регуляторные клетки играют ведущую роль в поддержании периферической толерантности к алло- и аутоантигенам. [91; 98]. Данное положение послужило основанием для изучения периферических Т-рег в крови по фенотипу $CD3+CD4+CD25(hi)+CD127-$ у больных в двух группах в отдаленном посттрансплантационном периоде – таблица 4.4.

Таблица 4.4 - Уровень Т-регуляторных клеток в периферической крови, $M\pm SD$

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	P_{1-2}	Практически здоровые лица	P_{1-3}	P_{2-3}
$CD3+CD4+CD25(hi)CD127-$ (% от $CD3+CD4+$)	$2,3\pm1,52$	$1,8\pm0,63$	0,3	$3,09\pm0,88$	0,08	0,001
$CD3+CD4+CD25(hi)CD127-$ ($10^6/л$)	$20,6\pm10,76$	$12,9\pm4,97$	0,04	$28,7\pm13,3$	0,09	$<0,001$

При изучении экспрессии маркеров Т-рег были получены результаты, свидетельствующие о том, что в основной группе сохраняется большее количество Т-рег $20,6\pm10,76$ ($10^6/л$), чем в группе сравнения $12,9\pm4,97$ ($10^6/л$), в среднем на 59% ($p=0,04$). Данные показатели могут свидетельствовать, что в основной группе толерантность поддерживается за

счет контроля со стороны Т-рег, которые обладают цитолитической направленностью против аллогенного клона Т-лимфоцитов.

Уровень Т-рег в основной группе $20,6 \pm 10,76$ ($10^6/\text{л}$) статистически не отличался от группы практически здоровых лиц $28,7 \pm 13,3$ ($10^6/\text{л}$) ($p=0,09$). В группе сравнения уровень Т-рег $12,9 \pm 4,97$ ($10^6/\text{л}$) был значительно ниже, чем в группе практически здоровых лиц $28,7 \pm 13,3$ ($10^6/\text{л}$) ($p < 0,001$), что может повышать риски развития аутоиммунных заболеваний в группе сравнения. Данное снижение Т-рег у больных с ПАТ может быть обусловлено несколькими причинами. С одной стороны, это может быть связано с применением фармакологической иммуносупрессии, в частности ингибиторов кальцинейрина, которые могут снижать уровень Т-рег [160]. С другой стороны, Т-рег могут мигрировать в лимфатические ткани или ткани трансплантата, что снижает их количество в циркуляции периферической крови [56].

4.3 Выживаемость почечного аллотрансплантата

Из 60 пациентов, включенных в исследование, 14 (23%) утратили функцию ПАТ. Из них, 4 пациента были из основной группы (13% от количества пациентов основной группы) и 10 из группы сравнения (33% от количества пациентов группы сравнения). Структура потерь ренальных аллотрансплантатов представлена в таблице 4.5.

Таблица 4.5 - Структура утраты функции ПАТ в обеих группах

Причина потери	Основная группа (n=4)	Группа сравнения (n=10)
смерть пациентов с функционирующим ПАТ	0	3
отторжение ПАТ	0	2
IgA - нефропатия	1	0
гипертонический нефроангиосклероз	1	0
фокальный и сегментарный гломерулосклероз	1	3
гидронефроз трансплантата	0	1
тромботическая микроангиопатия на фоне тромбофилии	1	0
тромбоз вены трансплантата	0	1

Ниже более подробно мы опишем клинические случаи утраты функции ПАТ в двух группах.

В основной группе ведущей причиной потери функции ПАТ было развитие заболеваний *de novo* у 3 пациентов. У первого пациента основной группы наблюдалось развитие IgA-нефропатии. Нужно отметить, что у пациента первоначальная функция ПАТ была отсроченная, за весь период наблюдения уровень креатинина имел волнообразную динамику и никогда не опускался ниже 0,2 ммоль/л. Пациент неоднократно госпитализировался в отделение трансплантации МОНИКИ для коррекции терапии в связи с ростом суточной протеинурии (от 1,5 до 4,37 г/сут), наличием гематурии, хронической токсичностью ингибиторов кальцинейрина, и мочевыми инфекциями. Почти при каждой госпитализации ему проводили биопсию для морфологической верификации диагноза, на которой были выявлены признаки фокально-сегментарного гломерулосклероза, IgA-нефропатии и токсичность ингибиторов кальцинейрина без признаков отторжения. Несмотря на проводимое лечение, со

снижением доз иммуносупрессии, на 1865 сутки после АТП уровень креатинина у пациента достиг до 0,43 ммоль/л с суточной протеинурией до 6 г/сут. В связи с необратимым ухудшением функции ПАТ и не купируемым нефротическим синдромом, пациенту была проведена трансплантатэктомия и возврат к программному гемодиализу.

Второй пациент основной группы имел стойкую трудно корригируемую артериальную гипертензию 170-200/110-100 мм.рт.ст. В течение всего посттрансплантационного периода у пациента отмечался рост креатинина с 0,14 до 0,37 ммоль/л и наличия суточной протеинурии до 0,2 г/сут, в связи с чем он периодически госпитализировался для коррекции терапии. При проведении биопсий было обнаружено: диффузный глобальный сегментарный гломерулосклероз, гипертонический нефроангиосклероз с элементами злокачественной артериальной гипертензии, ХТН III степени. У пациента было диагностировано заболевание *de novo* – гипертонический нефроангиосклероз, послужившее причиной утраты функции нативных почек. На 2041 сутки после АТП у пациента повысился креатинин до критических значений - 0,48 ммоль/л, мочевины 32,8 ммоль/л и СКФ до 10 мл/мин. В связи со стойкой утратой функции ПАТ, пациент был переведен на программу гемодиализа.

У третьего пациента отмечена нарастающая дисфункция трансплантата, выраженная в постепенном росте суточной протеинурии до 4 г/сут к 3 годам после АТП. При проведении биопсии ПАТ, выявлен фокальный сегментарный гломерулосклероз. Пациенту сначала проводилась пульс-терапия высокими дозами преднизолона без клинического эффекта. В качестве альтернативной терапии пациенту проводили сеансы плазмафереза с увеличением дозы такролимуса, что сопровождалось временным улучшением функции ПАТ и снижением суточной протеинурии до 1 г/сут. В дальнейшем у пациента имелись повторные эпизоды роста суточной протеинурии, с постепенным нарастанием почечной дисфункции. Так к 5,5 годам креатинин достиг значений 0,37 ммоль/л, суточной протеинурии до 4,7 г/сут и СКФ 27 мл/мин. При

повторной биопсии ПАТ выявлен: ФСГС и склероз до 80% клубочков. На 2111 день после АТП пациент вернулся к заместительной почечной терапии.

Четвертый пациент в основной группе с потерей функции ПАТ имел сложную сопутствующую патологию. Через 3 месяца после АТП, на фоне мультигенной тромбофилии у пациента развился острый мезентериальный тромбоз, осложнившийся разлитым фибринозно-гнойным перитонитом. Пациенту экстренно была проведена резекция тонкой кишки с постановкой илеостомы и дренированием брюшной полости. Проводилась комплексная терапия антибиотиками широкого спектра действия, противогрибковая и противовирусная терапия с хорошим клиническим эффектом. При выписке скорректирована антиагрегантная и антикоагулянтная терапия. Через 1 год у пациента возник острый ишемический инсульт в бассейне правой средней мозговой артерии с левосторонним гемипарезом, в связи с чем он был экстренно переведен в отделение неврологии, проведен курс терапии по стандартной схеме. На 964 сутки после АТП пациент был госпитализирован со стойким повышением артериального давления до 150/110 мм.рт.ст., болями в животе, олигоурией, выраженными отеками голеней, резким повышением уровня креатинина до 0,6 ммоль/л, резким падением СКФ до 9 мл/мин, признаками активации внутрисосудистого свертывания по коагулограмме. При ультразвуковом исследовании трансплантата с доплерографией почечных артерий - сосудистый рисунок отсутствовал до уровня проксимальных сосудов мелкого калибра, были выявлены гипоэхогенные участки с неоднородной опухолевой структурой. Несмотря на проводимую тромболитическую терапию и в связи с отсутствием эффекта по восстановлению кровоснабжения ПАТ, проведена трансплантатэктомия и переходом пациента к программе гемодиализа.

Развитие хирургических осложнений, повлекших утрату функции ПАТ, возникло у двоих пациентов группы сравнения. У первого пациента в раннем послеоперационном периоде отмечена дисфункция ПАТ, анурия. По доплерографической картине (резко ослабленный кровоток ПАТ) заподозрен

тромбоз сосудов трансплантата. На ревизии выявлен субтотальный тромбоз почечной вены, некроз половины коры ПАТ, линейные разрывы коркового вещества, кровоизлияния в поверхностных отделах паренхимы, имбибиция кровью фиброзной капсулы. Трансплантат был удален. При морфологическом исследовании выявлено: коллапс капилляров клубочков, инфильтрация и отек стенок артерий и артериол, обтурирующие тромбы в просветах сосудов.

У второго пациента группы сравнения имелся некроз мочеточника ПАТ, экстравазация мочи в паравезикальную клетчатку. При ревизии выявлена несостоятельность неоуретропиелоанастомоза, выполнена его реконструкция. Через 5 дней при ультразвуковом исследовании ПАТ выявлено расширение чашечно-лоханочной системы, в связи с чем была выполнена чрескожная нефростомия. Нефростома промывалась, были отмыты единичные сгустки крови, которые, вероятно, стали причиной обтурации мочеточника. Пациент получал комплексную антибактериальную и противогрибковую терапию. Постепенно восстановился естественный пассаж мочи и нефростома была удалена. Пациент пропал из-под наблюдения на 7 месяцев. При следующем обращении в связи со стойкой дисфункцией ПАТ вновь выявлено расширение чашечно-лоханочной системы. Выполнена чрескожная нефростомия. Однако даже после этого дисфункция ПАТ сохранялась: стойкое повышение креатинина 0,39 ммоль/л, мочевины до 35 ммоль/л, снижение СКФ до 10 мл/мин. В связи с утратой функции ПАТ и с целью профилактики инфекционных осложнений была выполнена трансплантатэктомия.

Фокальный и сегментарный гломерулосклероз, как причина развития терминальной стадии ХБП трансплантата, развился у 3 пациентов группы сравнения. Один пациент имел частые обострения хронического панкреатита и склонность к панцитопении, требовавшей снижение дозы микофенолатов и коррекции дозы иммуносупрессивной терапии. При проведении биопсии ПАТ был выявлен фокальный и сегментарный гломерулосклероз, плохо поддающийся консервативной терапии. В связи с прогрессирующей нарастанием дисфункции ПАТ (ростом креатинина до 0,47 ммоль/л, суточной

протеинурии до 4,85 г/сут, снижением СКФ 12 мл/мин) и выраженной кахексией пациента была произведена трансплантатэктомия и возврат к программе гемодиализу.

Второй пациент группы сравнения изначально имел ущербную функцию ПАТ, уровень креатинина при выписке составил 0,25 ммоль/л и СКФ 44 мл/мин. Через 4 года после АТП у пациента была отмечена реактивация ЦМВ вирусной инфекции, сопровождающаяся лихорадкой, панцитопенией и ухудшением функции ПАТ (креатинин 0,38 ммоль/л, СКФ 24 мл/мин). Пациент был госпитализирован для проведения противовирусной терапии и коррекции дозы иммуносупрессии. Пациенту была произведена отмена препаратов микофеноловой кислоты с увеличением дозы такролимуса. После проведенного лечения функция трансплантата стабилизировалась (уровень креатинина 0,29 ммоль/л). Однако в дальнейшем наблюдалось стойкое снижение функции ПАТ (креатинина до 0,63 ммоль/л, СКФ до 8 мл/мин). Проведение диагностической биопсии показало наличия ФСГС, ХТН II степени и склероза до 80% клубочков. В результате необратимой утратой функции ПАТ, на 1760 сутки после АТП пациент вернулся к программе гемодиализа.

У третьего пациента группы сравнения с ФСГС в раннем посттрансплантационном периоде развилось острое отторжение, соответствующее категории III по классификации Banff'07. Описание клинического случая было приведено выше (см. раздел 3.2. Частота и тяжесть отторжения почечного аллотрансплантата). Через 6 месяцев после АТП пациент был госпитализирован с клиникой тяжелого нефротического синдрома, ростом креатинина до 1,1 ммоль/л, суточной протеинурии до 24 г/сут и снижением СКФ до 7 мл/мин. По данным биопсии ПАТ диагностирован фокальный и сегментарный гломерулосклероз, неспецифическая инфильтрация интерстиция лимфоцитами в зонах склероза без явной тенденции к инвазии в канальцы, дистрофия канальцевого эпителия с частичной утратой «щеточной каймы» и образованием фестончатого контура, имеется одна срезанная артерия с артериосклерозом. Проведен курс терапии метилпреднизолоном в суммарной

дозе 2,25 г и 4 сеансами обменного плазмафереза – без эффекта. Однако в связи с тяжелым нефротическим синдромом, не поддающимся консервативной терапии, сохранявшейся тяжелой гипопроотеинемией, гипоальбуминемией, появившимся перикардитом, плевритом и асцитом было принято решение о проведении трансплантатэктомии, больной вернулся к программе гемодиализа.

В группе сравнения имелось два пациента с утратой ПАТ в результате развития некупируемого отторжения, потребовавшего проведения трансплантатэктомии. У первого пациента выявлено острое гуморальное отторжение по Banff 2b на 71 сутки после АТП, у второго пациента - активное хроническое отторжение по смешанному типу на 844 сутки после АТП. Более подробно данные пациенты были описаны выше (см. раздел 3.2. Частота и тяжесть отторжения почечного аллотрансплантата).

Трое пациентов группы сравнения умерли с функционирующим трансплантатом. Все эти пациенты были описаны выше (см. раздел 3.3. Инфекционные осложнения). Двое из них умерли вследствие тяжелой респираторной инфекции, третий – в связи с реактивацией гепатита В.

Выживаемость трансплантатов в основной группе было значительно выше, чем в группе сравнения: Log Rank $p=0,009$; Breslow $p=0,005$ – рисунок 4.2.

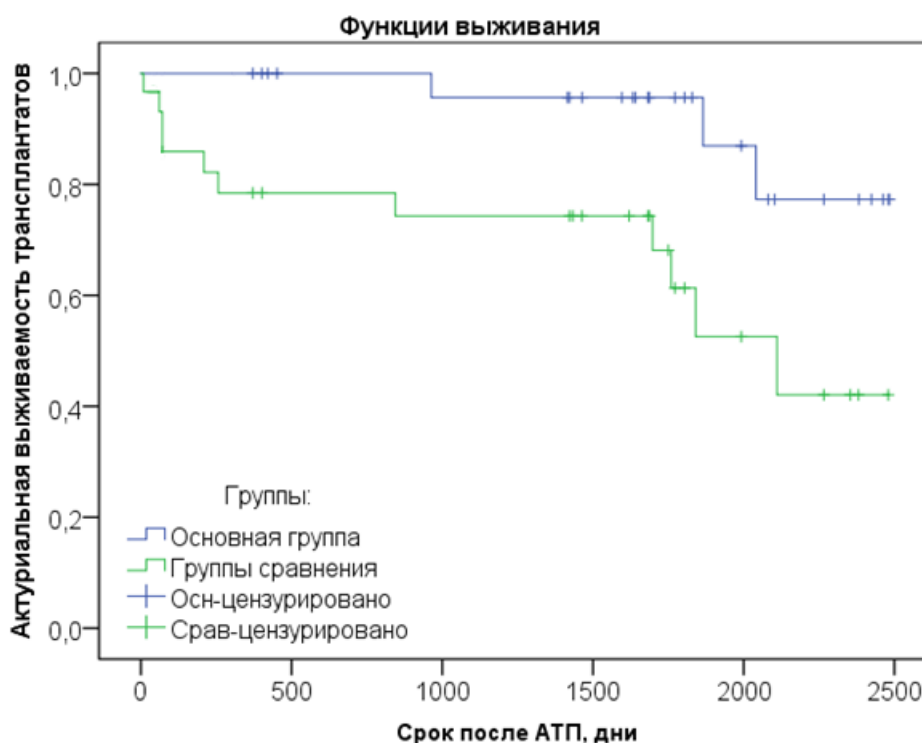


Рисунок 4.2 - График выживаемости трансплантатов в двух группах

Однолетняя выживаемость трансплантата в основной группе составила 100% и для группы сравнения – 80%, двухлетняя – 100% и 80%, трехлетняя – 97% и 78%, четырехлетняя – 97% и 78%, пятилетняя – 97% и 70%, шестилетняя 87% и 67% соответственно.

Таким образом, за 6 лет в основной группе было утрачено 4 трансплантата, в группе сравнения – 10 трансплантатов. В течение первого года после АТП инцидентность («потеря ПАТ», отношение количества эпизодов потери ПАТ к суммарному времени наблюдения) в группе сравнения составила 2,737 (95%ДИ 1,109; 5,693) на 1 пациенто-год. В основной группе в течение 1 года не было потери ПАТ.

В период с 1 года до 6 лет, инцидентность в основной группе 3,339 (95%ДИ 0,898; 8,548), а в группе сравнения – 4,926 (95%ДИ 1,325; 12,61) на 1 пациенто-год. Таким образом, различия в рисках для периода свыше 1 года между группами были недостоверны $p=0,29$.

При оценке риска потери ПАТ за весь период наблюдения для основной группы инцидентность составила 3,307 (95%ДИ 0,89; 8,465) на 100 пациенто-лет, для группы сравнения – 11,89 (95%ДИ 5,691; 21,86) на 100 пациенто-лет.

Таким образом, в основной группе риск потери ПАТ был ниже, чем в группе сравнения: IRR 0,2782 (95%ДИ 0,07562; 0,8657), $p=0,026$.

Видно, что риск потери ПАТ в группе сравнения оказался значительно выше в течение 1 года после АТП.

4.4 Выживаемость реципиентов и бессобытийная выживаемость

Анализ выживаемости реципиентов в двух группах продемонстрирован на рисунке 4.3.

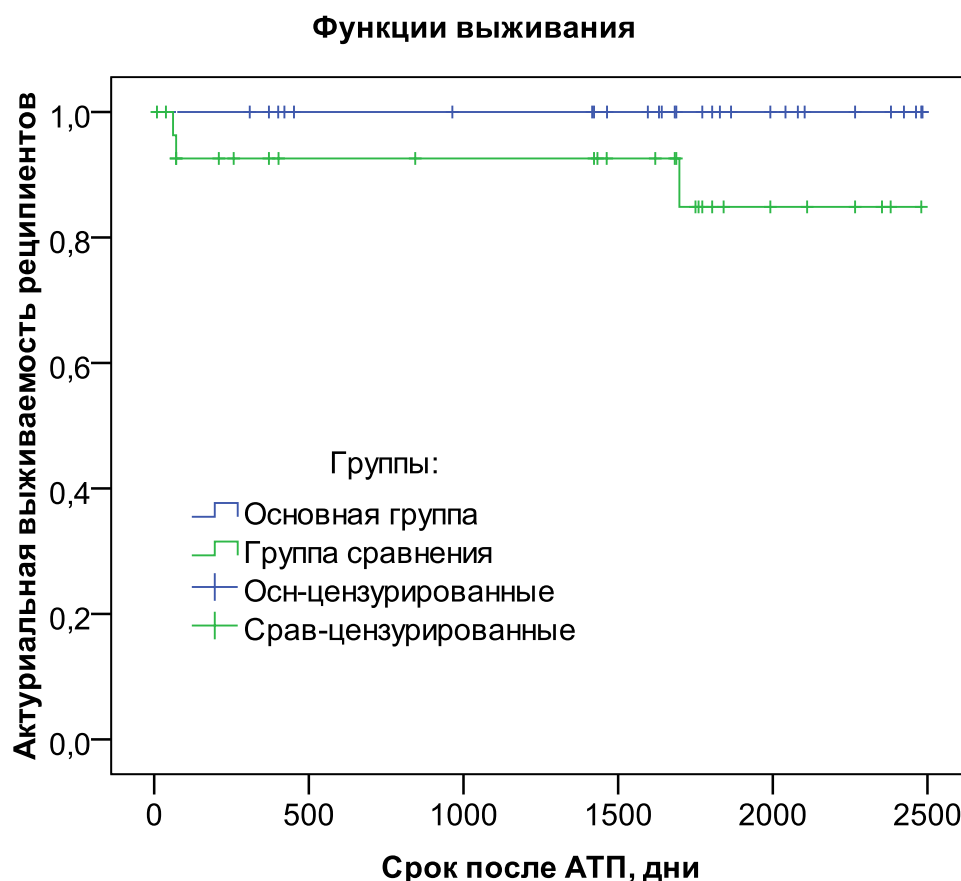


Рисунок 4.3 - График выживаемости реципиентов в двух группах

Различия в кривых бессобытийной выживаемости были статистически не значимы, в связи с малым количеством событий: Log Rank $p=0,067$; Breslow $p=0,081$.

За весь период наблюдения в группе сравнения умерло 3 пациентов, в основной группе смертей не было. Таким образом, 6 летняя выживаемость для

основной группы составила 100%, для группы сравнения 82,8% (95%ДИ 51,6; 93,16).

Мы проанализировали срок наступления любого события, будь то любые инфекции, отторжение или смерть реципиентов в двух группах – рисунок 4.4.

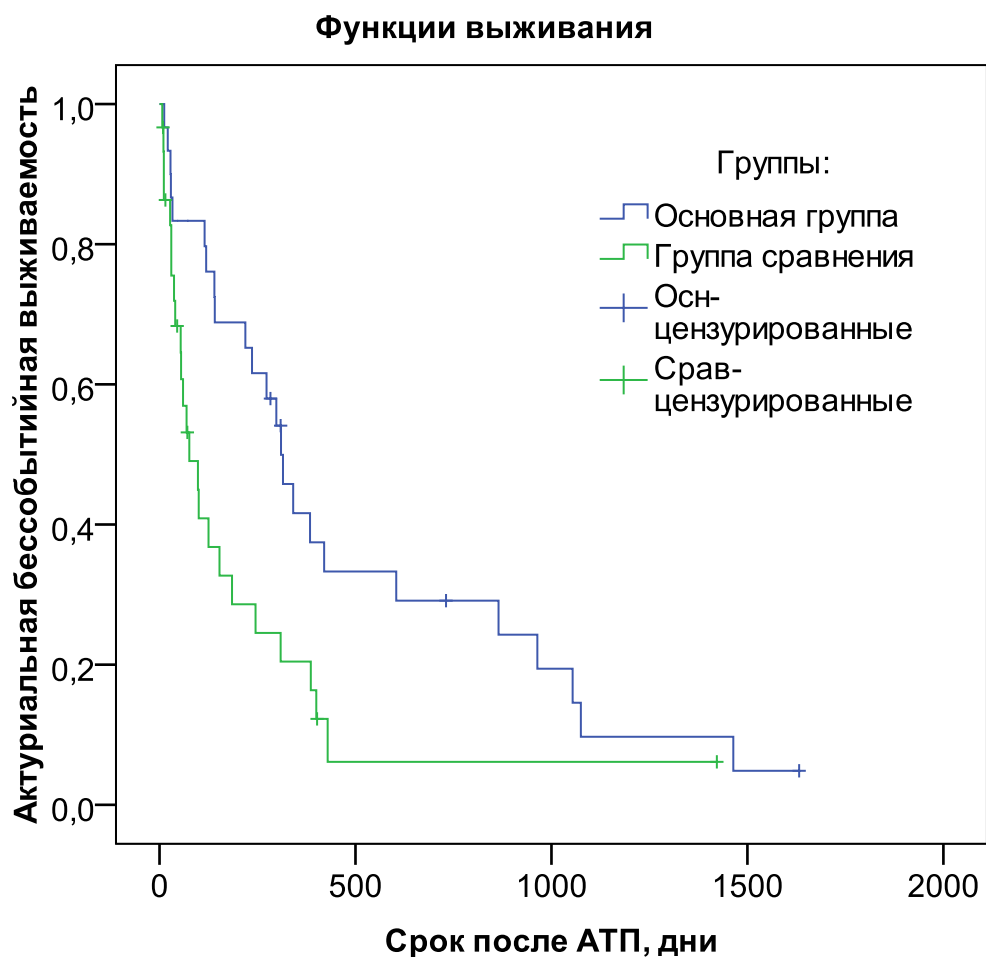


Рисунок 4.4 - График бессобытийной выживаемости в двух группах

Различия в кривых бессобытийной выживаемости были статистически значимы: Log Rank $p=0,013$; Breslow $p=0,007$.

4.5 Заключение по главе

Таким образом, можно сделать следующие заключения:

1. При наличии стабильной функции почечного аллотрансплантата и отсутствия признаков отторжения по данным протокольных биопсий на 180 сутки возможно проводить плановое снижение дозы такролимуса с сохранением концентрации препарата в пределах терапевтического окна (не менее 5 нг/мл).

2. При анализе основных субпопуляций лимфоцитов у пациентов основной группы имеется тенденция приближения к нормальным значениям практически здоровых пациентов без АТП за счет большего снижения целевых концентраций иммуносупрессивных препаратов. Достоверные изменения между группами прослеживаются при анализе Т-хелперной (CD3+CD4+) субпопуляции лимфоцитов ($p=0,04$), отношению CD4+/CD8+ клеток ($p=0,04$) и В-лимфоцитов ($p=0,02$).

3. Количественный уровень Т-регуляторных клеток по фенотипу: CD3+CD4+CD25(hi)+CD127- в основной группе в среднем был выше на 59%, чем в группе сравнения, что может объяснить феномен поддержания толерантности у больных с ТКИ.

4. Проведение трансляционной клеточной иммунотерапии позволяет повысить долгосрочную выживаемость почечного трансплантата, что подтверждается снижением риска утраты трансплантата (IRR 0,2782; 95%ДИ 0,07562; 0,8657).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансплантация почки, несомненно, является лучшим методом заместительной почечной терапии, способствующим наиболее полной социальной реабилитации больных, увеличению продолжительности и качества жизни по сравнению с другими видами заместительной почечной терапии, а также обладает более эффективной экономической составляющей.

Потеря почечного аллотрансплантата (ПАТ) может происходить вследствие различных причин, имеющих в основе своего патогенеза как иммунную, так и неиммунную природу. При этом процесс полной утраты функции ПАТ чаще всего носит смешанный характер, связанный с постепенным наслаиванием нескольких факторов.

Отторжение почечного аллотрансплантата, несмотря на совершенствование схем иммуносупрессии, по-прежнему остается ведущей причиной дисфункции трансплантата. Частота развития острого отторжения в течение первого года может достигать 10-20% [28]. Субклинические формы отторжения или хроническое отторжение, выявляемое при проведении протокольных биопсий, составляют примерно 10%. На смерть реципиентов с функционирующим трансплантатом приходится около 40% всех случаев утраты ПАТ [25; 121; 143; 194]. Однолетняя выживаемость почечного аллотрансплантата, полученного от трупного донора, составляет 93,4%, пятилетняя – 72,4%, 10-летняя – около 50% [189].

Все причины потери ПАТ и смерть реципиентов с функционирующим трансплантатом тесно связаны с несовершенством протоколов иммуносупрессии. Медикаментозная иммуносупрессия не обладает достаточной специфичностью в отношении предупреждения отторжения ПАТ, вследствие чего развиваются стойкие комплексные нарушения иммунного гомеостаза. В результате значительно повышается риск инфекционных и онкологических заболеваний. Из-за особенностей метаболизма некоторых иммуносупрессивных препаратов у реципиентов ПАТ развивается нарушение

гемопоза, липидного обмена, сахарный диабет, нейротоксичность, язвенная болезнь и другие осложнения [30]. К тому же, обладая нефротоксичным действием, данные препараты сами по себе приводят к постепенному ухудшению почечной функции трансплантата [27].

Совершенно другой подход к решению проблемы отторжения ПАТ заключается в формировании иммунологической толерантности, при котором иммунная система реципиента избирательно не реагирует на ткани трансплантата при сохранении своих базисных функций - развития воспалительных реакций ко всем остальным чужеродным антигенам. Существует много перспективных методов и подходов к достижению иммунологической толерантности, одним из которых является экстракорпоральная фотохимиотерапия или фотоферез.

Фотоферез – метод клеточной иммунотерапии, при котором из крови больного выделяют лейкоциты, сенсibiliзируют 8-метоксипсораленом, затем подвергая длинноволновому ультрафиолетовому облучению, возвращают обратно больному. Впервые фотоферез был применен R.Edelson в 1987 г. для терапии Т-клеточной лимфомы кожи [73]. В дальнейшем по мере изучения данного метода была доказана его эффективность при терапии стероидрезистентных кризов отторжения трансплантата солидных органов [49; 57; 62; 112; 164; 177].

Мы изучили эффективность трансляционной клеточной иммунотерапии (ТКИ), модификацию метода фотофереза, применив этот метод у 30 реципиентов, которым в раннем послеоперационном периоде мы провели курс из 15 сеансов, и сравнили результаты лечения с 30 реципиентами, которые получили парные почки от одного посмертного донора. У реципиентов группы сравнения ТКИ не применялась, пациенты придерживались стандартного протокола иммуносупрессии. Пациенты обеих групп до включения в исследования были сопоставимы по возрасту доноров и реципиентов, продолжительности и модальности заместительной почечной терапии, индексу совместимости и причине хронической болезни почек (ХБП).

Для нивелирования максимальных различий между группами по «донорским» факторам (возраста доноров, продолжительность консервации, тепловой ишемии и др.), мы осуществляли пересадку трупной почки от одного посмертного донора реципиентам обеих групп. Таким образом, одна почка донора пересаживалась пациенту в основной группе, вторая - пациенту из группы сравнения.

Всем пациентам в периоперационном периоде проводилась индукция базиликсимабом и метилпреднизолоном. В посттрансплантационном периоде все пациенты придерживались трёхкомпонентного иммуносупрессивного протокола, состоящего из такролимуса, преднизолона и микофенолатов. Снижение начальной дозировки до поддерживающей проводилось согласно стандартам протоколов введения посттрансплантационных больных. Ранее нами [31] была доказана эффективность применения ТКИ в раннем посттрансплантационном периоде. Поэтому, мы сосредоточили свое внимание на отдаленном посттрансплантационном периоде, динамике почечной функции, анализе эпизодов отторжения, инфекционных осложнениях и возможностях по дальнейшей редукции иммуносупрессии у больных основной группы.

При анализе функции ПАТ в обеих группах было установлено, что раннее применение ТКИ значительно улучшает процессы функционирования ПАТ (в основной группе наблюдается более низкий уровень креатинина, суточной протеинурии и более высокие показатели СКФ). Достоверные различия между двумя группам были отмечены на 180 сутки после АТП для уровня креатинина ($p=0,027$) и скорости клубочковой фильтрации ($p=0,02$), для суточной протеинурии достоверные различия наблюдались с 1,5 лет ($p=0,002$). Отличия между группами сохранялись на протяжении всего дальнейшего периода наблюдения, что подтверждается динамикой креатинина (RMANOVA, время*группа $p=0,0129$), клубочковой фильтрации (RMANOVA, время*группа $p=0,011$) и суточной протеинурии (RMANOVA, время*группа $p=0,027$). Мы полагаем, что указанные различия между группами, преимущественно обусловлены большей тяжестью хронической трансплантационной нефропатии

у больных группы сравнения, что было подтверждено морфологическим исследованием трансплантатов.

За весь период наблюдения отторжение было выявлено у двух пациентов основной группы (7%) и у семи пациентов группы сравнения (24%), диагностированное по данным клинической картины и морфологических исследований почечного биоптата трансплантата. У одного пациента основной группы и у одного пациента группы сравнения были отмечены повторные кризы отторжения. Суммарно за весь период наблюдения было диагностировано 11 эпизодов отторжения в двух группах. У двоих пациентов группы сравнения отторжение ПАТ повлекло некупируемое развитие дисфункции трансплантата, потребовавшее проведение трансплантатэктомии. В основной группе у двух больных развитие криза отторжения наблюдалось в отдаленные сроки (на 420 и 764 сутки после АТП), в то время как в группе сравнения отторжение было диагностировано на различных сроках посттрансплантационного периода. Риск отторжения в основной группе был значительно ниже, чем в группе сравнения: IRR 0,2509 (95%ДИ 0,05386; 0,9167), $p=0,0358$. Таким образом, мы можем заключить, что применение ТКИ в основной группе позволило значительно снизить частоту развития отторжения в позднем посттрансплантационном периоде.

Риск развития инфекций в послеоперационном периоде подвержен значительной вариабельности. Можно выделить три основных периода. Первый период – от момента пересадки ПАТ до 1 месяца после АТП. В этот период инфекции, как правило, развиваются вследствие частого использования инвазивных процедур (катетеризация центральных и периферических сосудов, мочевого пузыря, выполнение цистоскопии и др.) и послеоперационных инфекций. Второй период – от 1 месяца до 1 года после АТП, связан с развитием оппортунистических инфекций и реактивации латентных инфекций, имеющих у реципиента ПАТ или передавшихся от донора. В третий период после 1 года трансплантации развитие инфекции характерно для общей популяции. Частота развития инфекций в обеих группах снижается в

геометрической прогрессии по мере увеличения срока послеоперационного периода, однако в группе сравнения она была выше в 2-3 раза, чем в основной группе. Примечательно, что в основной группе было в 4 раза меньше эпизодов респираторных инфекций, в 2 раза - бессимптомной бактериурии и в 1,5 раза чаще обнаруживалась вирусемия по данным ПЦР обследования. Доля микроорганизмов в двух группах в целом были сопоставимы, что косвенно свидетельствует о том, что пациенты обеих групп в одинаковой мере подвержены контаминации вне- и внутрибольничными штаммами инфекций. Трое пациентов группы сравнения умерли с функционирующим трансплантатом в результате развития инфекционных осложнений. У двоих пациентов смерть возникла вследствие нарастания сердечно-сосудистой недостаточности на фоне развития респираторной инфекции, у третьего реципиента - резкое нарастание печеночно-почечной недостаточности на фоне реактивации гепатита В. У двух пациентов основной группы и у трех пациентов группы сравнения в отдаленном посттрансплантационном периоде была реактивация цитомегаловирусной инфекции, осложнившаяся дисфункцией трансплантата. Таким образом, риск инфекционных осложнений в основной группе был меньше, чем в группе сравнения: IRR 0,3888 (95%ДИ 0,2754; 0,5445), $p < 0,0001$. Риск развития инфекций во многом детерминирован иммуносупрессивной лекарственной нагрузкой, поэтому мы полагаем, что такое различие между группами обусловлено большим снижением целевой концентрации такролимуса в основной группе.

За весь период наблюдения в группе сравнения умерло 3 пациента, в основной группе смертей не было. Таким образом, 6 летняя выживаемость для основной группы составила 100%, для группы сравнения 82,8%. При анализе бессобытийной выживаемости мы смогли сделать вывод, что количество и время наступления любых нежелательных событий (любые инфекции, отторжение, потеря ПАТ) для основной группы было достоверно ниже ($p=0,007$).

Если по данным биопсии отсутствовали признаки отторжения и функция ПАТ была стабильна, начиная с 180 суток после АТП мы пробовали постепенно снижать концентрацию такролимуса у пациентов обеих групп. При дисфункции ПАТ мы делали биопсии по требованию. Если были признаки отторжения – проводили терапию согласно стандартным протоколам лечения криза отторжения. Если по данным биопсии имелись признаки хронической трансплантационной нефропатии без признаков отторжения или наличия токсичности ингибиторов кальцинейрина – то проводили постепенное снижение дозы такролимуса. Пациенты основной группы на протяжении первого года после АТП имели сопоставимую с группой сравнения концентрацию, однако начиная с 1,5 лет (основная группа – $6,64 \pm 0,89$ нг/мл, группа сравнения – $8,14 \pm 0,96$, $p=0,004$) и до конца анализируемого периода различия были статистически значимы. У 13 больных основной группы со стабильной функцией ПАТ на этапе в 2 года после АТП мы снизили концентрацию такролимуса на 20% ниже рекомендованной без повышения риска отторжения в дальнейшем наблюдении. Таким образом, в целом концентрация такролимуса была ниже в основной группе на 23%, чем в группе сравнения. В мировой литературе описаны случаи, когда использование ЭФХТ при трансплантации печени удалось отсрочить у трети реципиентов начало приема ингибиторов кальцинейрина [176; 177]

При анализе основных субпопуляций лимфоцитов мы обнаружили, что в основной группе наблюдается более высокое количество Т-хелперных клеток $48,5 \pm 7,3\%$ против $43 \pm 4,6\%$, в группе сравнения ($p=0,04$), В-лимфоцитов $7,73 \pm 3\%$ против $5,06 \pm 2,1\%$ ($p=0,02$) и соотношения $CD4+/CD8+$ $1,83 \pm 0,72$ против $1,29 \pm 0,49$ ($p=0,04$) соответственно, при чем эти значения стремятся приблизиться к значениям практически здоровых лиц без ПАТ. Такое положение может объяснено большим снижением дозы иммунодепрессантов в основной группе и характеризует более высокий потенциал иммунной системы реципиентов основной группы для борьбы с инфекционными осложнениями.

Ранее мы продемонстрировали [31; 32], что в раннем посттрансплантационном периоде в группе с ТКИ, по сравнению с группой сравнения, отмечается снижение наивных Т-лимфоцитов, имеющих фенотип: CD3+CD4+CD45RO-CD28+, а также снижение степени экспрессии молекул CD28+ на этой субпопуляции лимфоцитов к 30 суткам после АТП. Мы исследовали данные маркеры в отдаленном периоде, однако не получили достоверных различий между группами как по относительным ($p=0,46$), так и абсолютным величинам ($p=0,14$). По-видимому, в отдаленном периоде существуют иные механизмы поддержания иммунологической толерантности. В группе сравнения количественный показатель наивных лимфоцитов (CD3+CD4+CD45RO-CD28+) 539 ± 372 ($10^6/\text{л}$) был достоверно ниже группы практически здоровых лиц 850 ± 211 ($10^6/\text{л}$) ($p=0,04$), что может характеризовать избыточность воздействия лекарственной иммуносупрессивной терапии в группе сравнения.

Т-регуляторные клетки играют ведущую роль в поддержании периферической толерантности, направленные на уничтожение аутореактивных лимфоцитов [91; 172]. Полагают [148; 184], что их роль может также заключаться в поддержании толерантности при трансплантации солидных органов или тканей. Поэтому мы изучили количество Т-регуляторных клеток по фенотипу CD3+CD4+CD25(hi)+CD127- у пациентов обеих групп. При изучении экспрессии маркеров Т-рег были получены результаты, свидетельствующие о том, что в основной группе сохраняется большее количество Т-рег $20,6\pm 10,76$ ($10^6/\text{л}$), чем в группе сравнения $12,9\pm 4,97$ ($10^6/\text{л}$), в среднем на 59% ($p=0,04$). Данные показатели могут свидетельствовать, что в основной группе толерантность поддерживается за счет иммунологического контроля со стороны Т-рег, которые обладают цитолитической направленностью против аллогенного клона Т-лимфоцитов. Подобные результаты в повышение Т-рег после проведения сеансов ЭФХТ при трансплантации легких и гемопоэтических стволовых клеточных клеток были отмечены еще у ряда зарубежных авторов [96; 130; 156].

Уровень Т-рег в основной группе $20,6 \pm 10,76$ ($10^6/\text{л}$) не отличался от группы практически здоровых лиц $28,7 \pm 13,3$ ($10^6/\text{л}$) ($p=0,09$). В группе сравнения уровень Т-рег $12,9 \pm 4,97$ ($10^6/\text{л}$) был значительно ниже, чем в группе практически здоровых лиц $28,7 \pm 13,3$ ($10^6/\text{л}$) ($p < 0,001$), что может объяснять отсутствие формирования толерантности к ПАТ и повышать риски развития аутоиммунных заболеваний. Возможно, такое различие обусловлено токсичностью ингибиторов кальцинейрина [160]. С другой стороны, Т-регуляторные клетки могут мигрировать в лимфатические узлы или ткани трансплантата, что снижает их количество циркуляции в периферической крови, что подтверждено некоторыми исследованиями [56].

При оценке выживаемости трансплантата потеря функции ПАТ наблюдалась у 4 реципиентов основной группы (13%) и 10 реципиентов группы сравнения (33%). В структуре потерь ПАТ в основной группе имело место развитие патологии *de novo* у троих пациентов (у двух – ФСГС, у одного IgA-нефропатия) и у одного пациента – тромботическая микроангиопатия на фоне тяжелого течения тромбофилии. Среди структур потерь ПАТ в группе сравнения у двух реципиентов имели место хирургические осложнения (у одного пациента - тромбоз вены трансплантата, у второго – гидронефроз трансплантата), у двух пациентов - развитие некупируемого криза отторжения, у трех - развитие патологии *de novo* ПАТ (3 случая развития ФСГС), у троих пациентов имела место смерть с функционирующим трансплантатом в результате развития инфекционных осложнений. Однолетняя выживаемость трансплантата в основной группе составила 100% и для группы сравнения – 80%, трехлетняя – 97% и 78%, пятилетняя – 97% и 70% и шестилетняя – 87% и 67% соответственно. Таким образом, в основной группе риск потери ПАТ был ниже, чем в группе сравнения: IRR 0,2782 (95%ДИ 0,07562; 0,8657), $p=0,026$. Мы полагаем, что такое различие в выживаемости ПАТ между группами главным образом происходит за счет формирования частичной иммунологической толерантности между трансплантатом и реципиентом в основной группе. Это позволило безопасно снизить уровень

иммуносупрессивной нагрузки в позднем послеоперационном периоде. Применение ЭФХТ при трансплантации легких позволило повысить выживаемость легких в среднем на 4,9 лет [102; 161].

ТКИ является эффективным адьювантным методом лечения и профилактики отторжения ПАТ, позволяющим улучшить функцию почечного трансплантата в результате снижения числа кризов отторжения, а также предоставить возможность для большего снижения медикаментозной иммуносупрессии. В основе формирования толерантности к ПАТ на фоне ТКИ, как мы полагаем, лежит увеличение количества Т-регуляторных клеток. При этом применение ТКИ не способствует тотальной иммуносупрессии, а напротив – позволяет значительно сократить риск развития инфекционных осложнений в отдаленном посттрансплантационном периоде.

Дальнейшее совершенствование методов клеточной иммунотерапии позволит еще лучше понять природу и возможности по формированию иммунологической толерантности. Уже на данном этапе развития трансплантации профилактическое применение ТКИ способно значительно улучшить результаты пересадки трупной почки. Данный метод создает возможности для частичной редукции иммуносупрессии, что позволяет в некоторых случаях избежать развития серьезных осложнений от приема данного класса иммунодепрессантов, тем самым значительно улучшая качество жизни реципиентов.

ВЫВОДЫ

1. Двухфакторный дисперсионный анализ свидетельствует, что ранее применение ТКИ способствует достоверному улучшению функции почечного трансплантата в позднем послеоперационном периоде, что подтверждается динамикой креатинина (RMANOVA, $p=0,0129$), клубочковой фильтрации (RMANOVA, $p=0,011$) и суточной протеинурии (RMANOVA, $p=0,027$).

2. На фоне применения трансляционной клеточной иммунотерапии снижается риск отторжения почечного трансплантата (IRR 0,2509; 95% ДИ: от 0,05386 до 0,9167) и риск развития инфекционных осложнений (IRR 0,3888; 95% ДИ: от 0,2754 до 0,5445).

3. При наличии стабильной функции почечного аллотрансплантата и отсутствии признаков отторжения (по данным протокольных биопсий) на 180 сутки возможно проводить плановое снижение дозы такролимуса с сохранением концентрации препарата в пределах терапевтического окна (не менее 5 нг/мл).

4. Применение трансляционной клеточной иммунотерапии сопровождается повышением на 59% количества Т-регуляторных клеток (CD3+CD4+CD25(hi)+CD127-), ответственных за поддержание иммунологической толерантности.

5. Проведение трансляционной клеточной иммунотерапии позволяет повысить долгосрочную выживаемость почечного трансплантата, что подтверждается снижением риска утраты трансплантата (IRR 0,2782; 95% ДИ: от 0,07562 до 0,8657).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Процедуры трансляционной клеточной иммунотерапии следует проводить по модифицированной методике фотофереза. Начало курса не позднее 3-7 дней от момента трансплантации почки. Курс состоит из 15 процедур: в первые 2 недели после трансплантации почки по 2 процедуры в неделю, следующие 6 недель по 1 процедуре в неделю, в течение 3-го месяца – 1 раз в 2 недели, затем 1 раз в месяц в течение 4, 5 и 6 месяца после трансплантации почки.

2. При наличии кризов клеточного отторжения следует провести дополнительно 5 процедур трансляционной клеточной иммунотерапии с интервалами по 2 процедуры в неделю. При наличии гуморального компонента отторжения трансляционная клеточная иммунотерапия менее предпочтительна.

3. В качестве критерия оценки сохранения иммунологической толерантности в позднем послеоперационном периоде следует использовать количественный показатель уровня Т-регуляторных клеток, исследуемых по фенотипу: CD3+CD4+CD25(hi)+CD127-.

4. Плановое снижение основных компонентов иммуносупрессии на фоне ТКИ возможно проводить при наличии стабильной функции почечного трансплантата и отсутствии признаков отторжения по данным протокольных биопсий, сделанных на 180 сутки. Дополнительно через 2 года после трансплантации почки при отсутствии признаков отторжения возможно повторное снижение ингибиторов кальцинейрина еще на 20%.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В-лф – В-лимфоцит

АПК – антигенпрезентирующие клетки

АТП – аллотрансплантация трупной почки

ББ – бессимптомная бактериурия

ВВО – вирус ветряной оспы

ВГВ – вирус гепатита В

ВПГ – вирус простого герпеса

ГКС – главный комплекс гистосовместимости

ДИ – доверительный интервал

ДК – дендритные клетки

ИЛ – интерлейкин

ИМП – инфекции мочеполовых путей

ИФН – интерферон

КОЕ - колониеобразующие единицы

ПАТ – почечный аллотрансплантат

РНК – рибонуклеиновая кислота

РТПХ – реакция трансплантат против хозяина

СКК - стволовые кроветворные клетки

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СОЭ – степень оседания эритроцитов

Т_С – Т-цитотоксические лимфоциты

ТКИ – трансляционная клеточная иммунотерапия

Ткр – Т-клеточный рецептор

Т_Н – Т-хелперные лимфоциты

Т-рег – Т-регуляторные клетки

ТФР-β – трансформирующий фактор роста β

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФНО – фактор некроза опухоли

ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз

ФСГС – фокальный сегментарный гломерулосклероз

ХБП – хроническая болезнь почек

ХТН - хроническая трансплантационная нефропатия

ЦМВ – цитомегаловирус

ЭБВ – вирус Эпштейн-Барра

ЭФХТ – экстракорпоральная фотохимиотерапия

CD – cluster of differentiation (кластер дифференцировки)

CTLA-4 – cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (цитолитический Т – лимфоцитарный антиген 4)

Fas – first apoptosis signal (первый апоптотический сигнал)

HLA – human leukocyte antigen (человеческий лейкоцитарный антиген)

ICOS – inducible T-cell COStimulator (активирующий Т-клеточный костимулятор)

MFI – mean fluorescence intensity (средняя интенсивность флюоресценции)

MHC – mayor histocompatibility complex (главный комплекс гистосовместимости)

NFAT – nuclear factor of activated T-cells (ядерного фактора активированных Т-лимфоцитов)

PD – programmed cell death (рецептор запрограммированной клеточной гибели)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бикбов, Б.Т. Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998-2011 гг. (отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии. Часть первая) / Б.Т. Бикбов, Н.А. Томилина // Нефрология и диализ. – 2014. – Т. 16, № 1. - С. 11-127.
2. Ватазин, А.В., Некоторые механизмы действия экстракорпоральной фотохимиотерапии при трансплантации солидных органов / А.В. Ватазин, А.Б. Зулькарнаев, А.В. Кильдюшевский [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. 16, № 1. - С. 76-84.
3. Ватазин, А.В., Трансплантация почки как оптимальный метод лечения хронической болезни почек / А.В. Ватазин, А.Б. Зулькарнаев // Лечебное дело. - 2013. - № 3. - С. 47-52.
4. Габриэль, М. Данович Трансплантация почки / Габриэль М. Данович - Пятое издание. Перевод с англ. под ред. Я.Г. Мойсюка – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014 г. - 848 с.
5. Готье, С.В. Донорство и трансплантация органов в российской федерации в 2014 году. VII сообщение регистра российского трансплантологического общества / С.В. Готье, Я.Г. Мойсюк, С.М. Хомяков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 15, № 2. - С. 7-22.
6. Готье, С.В. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2012 г. (V сообщение регистра Российского трансплантологического общества) / С.В. Готье, Я.Г. Мойсюк, С.М. Хомяков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – Т. 15, № 2. - С. 8–22.
7. Готье, С.В. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2011 г. IV сообщение регистра Российского трансплантологического общества / С.В. Готье, Я.Г. Мойсюк, С.М. Хомяков,

О.С. Ибрагимова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 6–18.

8. Готье, С.В. Оценка потребности населения в трансплантации органов, донорского ресурса и планирование эффективной сети медицинских организаций (центров трансплантации) / С.В. Готье, С.М. Хомяков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – Т. 15, № 3. - С. 11-24.

9. Готье, С.В., Донорство и трансплантация органов в российской федерации в 2013 году. VI сообщение регистра российского трансплантологического общества / С.В. Готье, Я.Г. Мойсюк, С.М. Хомяков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. - Т.16, №2. - С. 5-23.

10. Грозных, Е.В. Сравнительная характеристика интегральной шкалы хронического системного воспаления и шкалы совместимости генов HLA при развитии хронической дисфункции трансплантированной почки / Е.В. Грозных, Е.Ю. Гусев // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8. № 3(17). – С. 518-521.

11. Дмитриева, Н.Г. Система гистосовместимости при трансплантации почки / Н.Г. Дмитриева, О.Н. Яковчик, А.В. Ватазин [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2014. - № 31. - С. 83-87.

12. Капишников, А.В. Возможности динамической реносцинтиграфии в диагностике посттрансплантационных осложнений у реципиентов почки / А.В. Капишников, А.В. Колсанов, Ю.С. Пышкина // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. - Т. 16. № 2. - С. 39-45.

13. Кильдюшевский, А.В. Применение экстракорпоральной фотохимиотерапии при лимфомах кожи и трансплантации солидных органов / А.В. Кильдюшевский, В.А. Федулкина, О.А. Фомина, А.М. Фомин // Альманах клинической медицины. – 2014. - № 30. - С. 61-69.

14. Кильдюшевский, А.В. Фотоферез - новый метод лечения вульгарной пузырчатки / А.В. Кильдюшевский, В.А. Молочков, О.В. Карзанов // Российский биотерапевтический журнал. – 2002. – Т. 1, № 1. - С. 42-46.

15. Козлов, А.В. Экстракорпоральный фотоферез в лечении реакции "трансплантат против хозяина" / А.В. Козлов, Т.А. Быкова, И.И. Кулагина [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2014. – Т. 59, № 1. - С. 47.
16. Лубенников, А.Е. Современные взгляды на проблему удаления почечного трансплантата / А.Е. Лубенников, Р.Н. Трушкин, Л.Ю. Артюхина // Московский хирургический журнал. – 2014. - № 4. - С. 49-56.
17. Любченко, П.Н. Структура морфологических изменений почечной ткани и роль биопсии почек в коррекции лечения нефропатий у жителей московской области / П.Н. Любченко, С.Б. Уренков, Е.С. Столяревич [и др.] // Клиническая нефрология. – 2011. - № 2. - С. 52-55.
18. Мейл, Д. Иммунология / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д. Б. Рот, А. Ройтт - Перевод с англ. под ред. В.И. Кандрора, А.Н. Маца, Л.А. Певницкого и М.А. Серовой — М.: Логосфера, 2007. – 568 с.
19. Мойсюк, Я.Г. Современные технологии и клинические исследования в трансплантации почки / Я.Г. Мойсюк, А.И. Сушков, А.В. Шаршаткин [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. - Т. 16, № 3. - С. 63-75.
20. Муравьева, Е.Г. Роль пункционных биопсий в различные сроки после трансплантации почки / Е.Г. Муравьева, Н.Б. Емельянова, Л.Ю. Журавлева // Вестник Челябинской областной клинической больницы. – 2016. – № 4 (34). – С. 36-38.
21. Нефрология. Клинические рекомендации / Под ред. Е.М. Шилова, А.В. Смирнова, Н.Л. Козловской. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 816 с.
22. Ройт А., Иммунология / А. Ройт, Д. Бростофф, Д. Мейл. - перевод с англ. под ред. В.И. Кандрора, А.Н. Маца, Л.А. Певницкого и М.А. Серовой – М.: Мир, 2000 - 592 с.
23. Сандриков, В.А. Клиническая физиология трансплантированной почки / В.А. Сандриков, В.И. Садовников – М.:МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. – 288 с.

24. Стоимость диализа и трансплантации почки в экономически развитых странах // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2013. - № 3(3). - С. 154-158.
25. Столяр, А.Г. Улучшение результатов трансплантации почки / А.Г. Столяр, Л.Н. Будкарь, Н.Ф. Климушева, О.М. Лесняк // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. - № 4 - С. 55-61.
26. Столяревич, Е.С. Морфологические особенности позднего отторжения трансплантированной почки и их прогностическое значение / Е.С. Столяревич, Л.Ю. Артюхина, И.Г. Ким [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. - Т. 16, № 2. - С. 30-38.
27. Столяревич, Е.С. Поздняя дисфункция трансплантированной почки: причины, морфологическая характеристика, подходы к профилактике и лечению / Е.С. Столяревич, Н.А. Томилина // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 114-122.
28. Столяревич, Е.С. Эволюция представлений о причинах поздней дисфункции трансплантированной почки / Е.С. Столяревич, Н.А. Томилина // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 17, № 2. – С. 113-115.
29. Томилина, Н.А. Заместительная терапия терминальной хронической почечной недостаточности в Российской Федерации в 2010-2015 гг. Отчет по данным Общероссийского Регистра заместительной почечной терапии Российского диализного общества, Часть первая. / Н.А. Томилина, А.М. Андрусев, Н.Г. Перегудова [и др.] // Нефрология и диализ. – 2017. – Т. 19, № 4. – С. 1-95.
30. Трансплантология. Фармакотерапия без ошибок. Руководство для врачей / под ред. С.В. Готье, Я.Г. Мойсюка. – М.: Е-ното, 2014. – 432 с.
31. Федулкина, В.А. Трансляционная клеточная иммунотерапия при аллотрансплантации трупной почки у урологических больных / В.А. Федулкина, А.В. Ватазин, А.В. Кильдюшевский [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2013. – № 28. – С. 25-31.

32. Федулкина, В.А. Трансляционная клеточная иммунотерапия – новое направление трансплантационной медицины / В.А. Федулкина, А.В. Ватазин, А.В. Кильдюшевский // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 133.
33. Хубутя, М.Ш. Экономическая эффективность трансплантации органов на примере трансплантации почки / М.Ш. Хубутя // Трансплантология. - 2012. - № 4. - С. 30-34.
34. Чепель, Э. Основы клинической иммунологии / Э. Чепель, М. Хейни, С. Мисбах – М.:ГЭОТАР-Медиа, 2008 г. – 416 с.
35. Abe Y. Induction of Foxp3-expressing regulatory T-cells by donor blood transfusion is required for tolerance to rat liver allografts / Y. Abe, H. Urakami, D. Ostanin [et al.] // PLoS One. – 2009. - № 4 (11). - P. 1-9.
36. Afaneh C. Urinary cell levels of mRNA for OX40, OX40L, PD-1, PD-L1, or PD-L2 and acute rejection of human renal allografts / C. Afaneh, T. Muthukumar, M. Lubetzky [et al.] // Transplantation. – 2010. - № 90 (12). - P. 1381-1387.
37. Akiyama K. Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis / K. Akiyama, C. Chen, D. Wang [et al.] // Cell Stem Cell. – 2012. - № 10 (5). - P. 544-555.
38. Albert M.L. Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs / M.L. Albert, B. Sauter, N. Bhardwaj // Nature. – 1998. – № 392. - P. 86–89.
39. Ali J. Targeting indirect pathway CD4 T-cell alloresponses in the prevention of chronic transplant rejection / J. Ali, E. Bolton, K. Saeb-Parsy [et al.] // Lancet. – T. 26, № 385 (1). - P.17.
40. Alvarez I. Central T cell tolerance: Identification of tissue-restricted autoantigens in the thymus HLA-DR peptidome / I. Alvarez, J.A. Collado, R. Colobran [et al.] // Autoimmune Journey. – 2015. - № 60. - P. 12-19.

41. Andreu-Ullrich H. Miscellaneous indications for extracorporeal photochemotherapy (ECP) / H. Andreu-Ullrich // *Transfusion and Apheresis Science*. – 2014. - № 50 (3). - P. 363-369.
42. Asashima H. The anergy induction of M3 muscarinic acetylcholine receptor-reactive CD4+ T cells suppresses experimental sialadenitis-like Sjögren's syndrome / H. Asashima, H. Tsuboi, H. Takahashi [et al.] // *Arthritis & Rheumatology*. – 2015. - № 67 (8). - P. 2213-2225.
43. Baecher-Allan C. CD4+CD25hi regulatory cells in human peripheral blood / C. Baecher-Allan, H.L. Weiner, D.A. Hafler [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2001. - № 167. - P. 1245–1253.
44. Baine I. Helios induces epigenetic silencing of IL2 gene expression in regulatory T cells / I. Baine, S. Basu, R. Ames [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2013. – T. 190, №3. - P. 1008-1016.
45. Balogun R.A. Clinical applications of therapeutic apheresis / R.A. Balogun, A. Kaplan, D.M. Ward [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis*. – 2010. – T. 25, № 5. - P. 250-264.
46. Bandyopadhyay S. Silencing of the Il2 gene transcription is regulated by epigenetic changes in anergic T cells / S. Bandyopadhyay, C. Montagna, F. Macian // *European Journal of Immunology*. – 2012. – T. 42, № 9. – P. 2471-2483.
47. Baron E.D. Immunomodulatory effect of extracorporeal photopheresis after successful treatment of resistant renal allograft rejection / E.D. Baron, P.S. Heeger, D.E. Hricik [et al.] // *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*. – 2001. – T. 17, № 2. - P. 79-82.
48. Barr M.L. Photopheresis for the prevention of rejection in cardiac transplantation. Photopheresis Transplantation Study Group. / M.L. Barr, B.M. Meiser, H.J. Eisen [et al.] // *N Engl J Med*. – 1998. – T. 339, №24. – P. 1744-1751.
49. Barten M.J., Dieterlen M.T. Extracorporeal photopheresis after heart transplantation / Barten M.J., Dieterlen M.T. // *Immunotherapy*. – 2014. – № 6 (8) – P. 927-944.

50. Benden C. Therapy options for chronic lung allograft dysfunction-bronchiolitis obliterans syndrome following first-line immunosuppressive strategies: A systematic review / C. Benden, M. Haughton, S. Leonard [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* – 2017. – T. 36, № 9. – P. 921-933.
51. Benden C. Extracorporeal photopheresis after lung transplantation: a 10-year single-center experience / C. Benden, R. Speich, G.F. Hofbauer [et al.] // *Transplantation.* – 2008. – T. 86, № 11. - P. 1625-1627.
52. Berg M. Regulation of CD28 expression on CD8+ T cells by CTLA-4 / M. Berg, N. Zavazava // *Journal of Leukocyte Biology.* – 2008. – T. 83, №4. - P. 853-863.
53. Breman E. HLA monomers as a tool to monitor indirect allorecognition / E. Breman, P.P. van Miert, D.M. van der Steen [et al.] // *Transplantation.* – 2014. – T. 97, №11. - P. 1119-1127.
54. Buhmann J.E. A role for the B7-1/B7-2:CD28/CTLA-4 pathway during negative selection / J.E. Buhmann, S.K. Elkin, A.H. Sharpe // *Journal of Immunology.* – 2003. – T. 170, № 11. - P. 5421-5428.
55. Bulat V. The mechanisms of action of phototherapy in the treatment of the most common dermatoses / V. Bulat, M. Situm, I. Dediol [et al.] // *Collegium Antropologicum.* – 2011. – T. 35, № 2. - P.147-151.
56. Burrell B.E. Regulatory T cell induction, migration, and function in transplantation / B.E. Burrell, Y. Nakayama, J. Xu [et al.] // *J. Immunol.* – 2012. – T. 189, № 10. – P. 4705-4711.
57. Calore E. Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease in Childhood with Extracorporeal Photochemotherapy/Photopheresis: The Padova Experience / E. Calore, P. Marson, M. Pillon [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2015. – T. 21, № 11. - P. 1963-1972.
58. Caron E. Analysis of Major Histocompatibility Complex (MHC) Immunopeptidomes Using Mass Spectrometry / E. Caron, D.J. Kowalewski, Koh. C. Chiek [et al.] // *Molecular & Cellular Proteomics.* – 2015. - № 14 (12). - P. 3105-3117.

59. Carvalho Bittencourt M. Intravenous injection of apoptotic leukocytes enhances bone marrow engraftment across major histocompatibility barriers / M. Carvalho Bittencourt, S. Perruche, E. Contassot [et al.] // *Blood*. – 2001. - № 98 - P.224–230.
60. Cohen J.L. CD4+CD25+ immunoregulatory T Cells: new therapeutics for graft versus host disease / J.L. Cohen, A. Trenado, D. Vasey, D. Klatzmann, B.L. Salomon // *Journal of Experimental Medicine*. – 2002. - № 196. - P. 40–46.
61. Colvin M.M. Antibody-mediated rejection in cardiac transplantation: emerging knowledge in diagnosis and management: a scientific statement from the American Heart Association / M.M. Colvin, J.L. Cook, P. Chang [et al.] // *Circulation*. – 2015. – T. 131, №18. – P. 1608-1639.
62. Costanzo-Nordin M.R. Successful treatment of heart transplant rejection with photopheresis / M.R. Costanzo-Nordin, E.A. Hubbell, E.J. O'Sullivan [et al.] // *Transplantation*. – 1992. – T. 53, № 4. - P. 808-815.
63. Coutinho A. Thymic commitment of regulatory T cells is a pathway of TCR-dependent selection that isolates repertoires undergoing positive or negative selection / A. Coutinho, I. Caramalho, E. Seixas, J. Demengeot // *Current Topics in Microbiology and Immunology*. – 2005. - № 293. - P. 43-71.
64. Del Rio M.L. PD-1/PD-L1, PD-1/PD-L2, and other co-inhibitory signaling pathways in transplantation / M.L. Del Rio, L. Buhler, C. Gibbons [et al.] // *Transplant International*. – 2008. - № 21(11). - P. 1015-1028.
65. Delgoffe G.M. Feeding an army: The metabolism of T cells in activation, anergy, and exhaustion / G.M. Delgoffe, J.D. Powell // *Molecular Immunology*. – 2015. - № 68. - P. 492-496.
66. Denecke C. Adherence to immunosuppression: a critical aspect for the success of organ transplantation / C. Denecke, G. Tullius // *Transplant international*. – 2011. – T. 24, № 9. – P.880-891.
67. Dhaeze T. Circulating Follicular Regulatory T Cells Are Defective in Multiple Sclerosis / T. Dhaeze, E. Peelen, A. Hombrouck [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2015. – T. 195, № 3. - P. 832-840.

68. Dhodapkar M.V. Antigen-bearing immature dendritic cells induce peptide-specific CD8(+) regulatory T cells in vivo in humans / M.V. Dhodapkar, R.M. Steinman // *Blood*. – 2002. – T. 100, №1 - P. 174–177.

69. Di Renzo M. Extracorporeal photopheresis affects co-stimulatory molecule expression and interleukin-10 production by dendritic cells in graft-versus-host disease patients / M. Di Renzo, P. Sbano, G. De Aloe [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology* - 2008 - 151 (3) - P. 407–413.

70. Dieterlen M.T. Immunological monitoring of extracorporeal photopheresis after heart transplantation / M.T. Dieterlen, H.B. Bittner, A. Pierzchalski [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology*. – 2014. – T. 176, №1. - P. 120-128.

71. Durand J. B cells with regulatory properties in transplantation tolerance / J. Durand, E. Chiffolleau // *World Journal Transplant*. – 2015. - № 5 (4). - P. 196-208.

72. Durrbach A. Co-signals in organ transplantation / A. Durrbach, H. Francois, A. Jacquet [et al.] // *Current Opinion in Organ Transplantation*. – 2010. - № 15 (4) - P. 474-480.

73. Edelson R.L. Treatment of leukemic cutaneous T-cell lymphoma with extracorporeally photoactivated 8-methoxypsoralen / R.L. Edelson, C.L. Berger, F.P. Gasparro [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. – 1987. – № 316. - P. 297-303.

74. Elhalel M.D. CTLA-4. FasL induces alloantigen-specific hyporesponsiveness / M.D. Elhalel, J.H. Huang, W. Schmidt [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2003. – T. 170, № 12. - P. 5842-5850

75. Esposito P. Costimulatory pathways in kidney transplantation: pathogenetic role, clinical significance and new therapeutic opportunities / P. Esposito, F. Grosjean, T. Rampino [et al.] // *International Reviews of Immunology*. – 2014 – T. 33, № 3. – P. 212-233.

76. Fellström B. Risk factors for and management of post-transplantation cardiovascular disease/ B. Fellström // *BioDrugs*. – 2001. – T. 15, № 4. - P.261-278.

77. Feng J.F. Induction of immune tolerance by pre-infusion of apoptotic lymphocytes derived from peripheral blood of donor rats before liver transplantation / J.F. Feng, F. Chen, H. Liu, J. Liu // *Minerva Chirurgica*. – 2013. – T. 68, №2. - P. 183-189.
78. Fife B.T. The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance / B.T. Fife, K.E. Pauken // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2011. - № 1217. - P. 45–59.
79. Fiorante S. Systematic screening and treatment of asymptomatic bacteriuria in renal transplant recipients / S. Fiorante, F. Lopez-Medrano, M. Lizasoain [et al.] // *Kidney Int*. – 2010. – № 78. – P. 774–781.
80. Ford M.L., Larsen C.P. Translating costimulation blockade to the clinic: lessons learned from three pathways / M.L. Ford, C.P. Larsen // *Immunol. Rev.* – 2009. – №. 229 (1) – P. 294-306.
81. Francisco L.M. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity / L.M. Francisco, P.T. Sage, A.H. Sharpe // *Immunological Reviews*. – 2010. - № 236. - P. 219–242.
82. Fu Y. Levamisole promotes murine bone marrow derived dendritic cell activation and drives Th1 immune response in vitro and in vivo / Y. Fu, T. Wang, L. Xiu [et al.] // *International Immunopharmacology*. – 2015. - № 31. - P. 57-65.
83. Gardner D.H. 1,25(OH)₂D₃ Promotes the Efficacy of CD28 Costimulation Blockade by Abatacept / D.H. Gardner, L.E. Jeffery, B. Soskic [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2015. – T. 195, №6. - P. 2657-2665.
84. Golshayan D. From current immunosuppressive strategies to clinical tolerance of allografts / D. Golshayan, L. Buhler, R.I. Lechler, M. Pascual // *Transplant International*. – 2007. – T. 20, № 1. - P. 12-24.
85. Gorgun G. Immunologic mechanisms of extracorporeal photochemotherapy in chronic graft-versus-host disease / G. Gorgun, T. Alcindor, R. Rao, F. Foss // *Blood*. – 2002. – T. 100, № 3. - P. 941–947.

86. Gracon A.S. Lung transplantation: chronic allograft dysfunction and establishing immune tolerance / A.S. Gracon, D.S. Wilkes // *Human Immunology*. – 2014. – T. 75, №8. - P. 887-894.
87. Gregori S. Regulatory T cells induced by 1 α , 25dihydroxy vit D3 and mycophenelate mofetil treatment mediate transplantation tolerance / S. Gregori // *The Journal of Immunology*. – 2001. - № 167. - P. 1945–1953.
88. Greil R. On the role and significance of Fas (Apo-1/CD95) ligand (FasL) expression in immune privileged tissues and cancer cells using multiple myeloma as a model / R. Greil, A. Egle, A. Villunger // *Leukemia & Lymphoma*. – 1998. – T. 31 № 5-6. - P. 477-490.
89. Habicht A. New insights in CD28-independent allograft rejection / A. Habicht, N. Najafian, H. Yagita [et al.] // *American Journal of Transplantation*. – 2007. – № 7 (8). – P.1917-1926.
90. Hall B.M. T Cells: Soldiers and Spies-The Surveillance and Control of Effector T Cells by Regulatory T Cells / B.M. Hall // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. – 2015. – № 10 (11). - P. 2050-2064.
91. Hall B.M. Induction of antigen specific CD4(+)CD25(+)Foxp3(+)T regulatory cells from naïve natural thymic derived T regulatory cells / B.M. Hall, G.T. Tran, C.M. Robinson, S.J. Hodgkinson // *International Immunopharmacology*. – 2015. – T. 28, № 2. - P. 875-886.
92. Hannani D. Photochemotherapy induces a faster apoptosis of alloreactive activated T cells than of nonalloreactive resting T cells in graft versus host disease / D. Hannani, E. Merlin, F. Gabert [et al.] // *Transplantation*. – 2010. – T. 90, № 11. - P. 1232–1238.
93. Hara M. IL10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigen in vivo / M. Hara // *The Journal of Immunology*. – 2001. - № 166. - P.3789–3798.
94. Harada H., Salama A.D., Sho M. et al. The role of the ICOS-B7h T cell costimulatory pathway in transplantation immunity / H. Harada, A.D. Salama, M.

Sho [et al.] // The Journal of Clinical Investigation. – 2003. – T. 112, №2. – P. 234-243.

95. Herzenberg A.M. C4d deposition in acute rejection: an independent long-term prognostic factor / A.M. Herzenberg, J.S. Gill, O. Djurjev [et al.] // Journal of the American Society of Nephrology. – 2002. - № 13. - P. 234–241.

96. Heshmati F. Updating ECP action mechanisms / F. Heshmati // Transfusion and Apheresis Science. – 2014. – T. 50, №3. - P. 330-339.

97. Holtick U. In vitro PUVA treatment preferentially induces apoptosis in alloactivated T cells / U. Holtick, X.N. Wang, S.R. Marshall, C. Scheid, M. von Bergwelt-Baildon, A.M. Dickinson // Transplantation. – 2012. – T. 94, № 5. - P.31-34.

98. Hu G. Antigen-non-specific regulation centered on CD25+Foxp3+ Treg cells / G. Hu, Z. Liu, C. Zheng, S.G. Zheng // Cellular & Molecular Immunology. – 2010. - № 7 (6). - P. 414-418.

99. Inaba K. Efficient presentation of phagocytosed cellular fragments on the major histocompatibility complex class II products of dendritic cells / Inaba K., Turlev S., Yamaide F. [et al.] // Journal of Experimental Medicine. – 1998. - № 11. - P. 2163–2173.

100. Isenring B. Lung transplant recipients on long-term extracorporeal photopheresis / B. Isenring, C. Robinson, U. Buergi [et al.] // Clin. Transplant. – 2017. – № 31 – P. 10.

101. Iyoda T. The CD8+ dendritic cell subset selectively endocytoses dying cells in culture and in vivo / T. Iyoda, S. Shimoyama, K. [Liu et al.] // Journal of Experimental Medicine. – 2002. - № 195. - P.1289–1302.

102. Jaksch P. A prospective interventional study on the use of extracorporeal photopheresis in patients with bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation / P. Jaksch, A. Scheed, M. Keplinger [et al.] // The Journal of Heart and Lung Transplantation. – 2012. – T. 31, № 9. - P. 950-957.

103. Johnston O. Nephrectomy after transplant failure: current practice and outcomes / O. Johnston, C. Rose, D. Landsberg [et al.] // *American Journal Transplantation*. – 2007. - № 7 (8). - P. 1961-1967.
104. Juarez-Ortega M. Induction and treatment of anergy in murine leprosy / M. Juarez-Ortega, V.G. Hernandez, Arce- P. Paredes [et al.] // *International Journal Of Experimental Pathology*. – 2015. – Т. 96, № 1. - P. 31-41.
105. Jung A.G. A rare case of a sclerodermoid chronic graft versus host disease. Successful treatment with extracorporeal photopheresis (ECP) / A.G. Jung, H.P. Bertsch, M.P. Schoen, U. Lippert // *Hautarzt*. – 2010. – Т. 61, № 6. - P. 514-517.
106. Kapadia E. Extracorporeal photopheresis performed on the CELLEX® compared with the UVAR-XTS® instrument is more efficient and better tolerated in children with steroid-refractory graft-versus-host disease / E. Kapadia, E. Wong, E. Perez-Albuerne, D. Jacobsohn // *Pediatric Blood & Cancer*. – 2015. – Т. 62, № 8. - P. 1485-1488.
107. Karczewski J. Role of TH1/TH2 cytokines in kidney allograft rejection / J. Karczewski, M. Karczewski, M. Glyda, K. Wiktorowicz // *Transplantation Proceedings*. – 2008. – Т. 40, № 10. – P.3390-3392.
108. Kasiske B.L. Рекомендации KDIGO по клинической практике ведения реципиентов трансплантата почки. Продолжение / B.L. Kasiske, M.G. Zeier, J.R. Chapman [et al.] // *Нефрология*. – 2011. – Т. 15, № 3. – С. 76-119.
109. Kawai T. Effect of mixed hematopoietic chimerism on cardiac allograft survival in cynomolgus monkeys / T. Kawai, A.B. Cosimi, S.L. Wee [et al.] // *Transplantation*. – 2002. – Т. 73, № 11. - P. 1757-1764.
110. Kitko C.L. Extracorporeal photopheresis in prevention and treatment of acute GVHD / C.L. Kitko, J.E. Levine // *Transfusion and Apheresis Science*. – 2015. – Т. 52, № 2. - P. 151-156.
111. Kleinclaus F. Intravenous apoptotic spleen cell infusion induces a TGF- β -dependent regulatory T-cell expansion / F. Kleinclaus, S. Perruche, E. Masson [et al.] // *Cell Death & Differentiation*. – 2006. - № 13. - P. 41–52.

112. Knobler R. Guidelines on the use of extracorporeal photopheresis / R. Knobler, G. Berlin, P. Calzavara-Pinton [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2014. – T. 28, № 1. - P. 1-37.
113. Kuzstal M. Application of extracorporeal photopheresis in kidney transplant recipients: technical considerations and procedure tolerance / M. Kuzstal, R. Kłak, M. Krajewska [et al.] // *Transplant proceedings*. – 2011. – T. 43, № 8. - P. 2941-2942.
114. Laan M. The many faces of aire in central tolerance / M. Laan, P. Peterson // *Frontiers in Immunology*. – 2013. - № 4. - P. 326.
115. LaFlam T.N. Identification of a novel cis-regulatory element essential for immune tolerance / T.N. LaFlam, G. Seumois, C.N. Miller [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2015. – T. 212, № 12. - P. 1993-2002.
116. Lal G., Kulkarni N., Nakayama Y. IL-10 from marginal zone precursor B cells controls the differentiation of Th17, Tfh and Tfr cells in transplantation tolerance / G. Lal, N. Kulkarni, Y. Nakayama [et al.] // *Immunology Letters*. – 2016. - № 170. - P. 52-63.
117. Lamioni A. Induction of regulatory T cells after prophylactic treatment with photopheresis in renal transplant recipients / A. Lamioni, R. Carsetti, A. Legato [et al.] // *Transplantation*. – 2007 – T. 83, № 10. – P. 1393-1396.
118. Li T. Blockade of the OX40/OX40L pathway and induction of PD-L1 synergistically protects mouse islet allografts from rejection / T. Li, R. Ma, J. Zhu [et al.] // *Chinese Medical Journal*. – 2014. – T. 127, № 14. - P. 2686-2692.
119. Linsley P.S. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7 / P.S. Linsley, W. Brady, M. Urnes [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 1991. - №. 174 – P.561-569.
120. Linsley P.S. The role of the CD28 receptor during T cell responses to antigen / P.S. Linsley, J.A. Ledbetter // *Annual Review of Immunology*. - 1993 – № 11. – P.191-212.

121. Lou I. How Well Does Renal Transplantation Cure Hyperparathyroidism? / I. Lou, D. Foley, S.K. Odorico [et al.] // *Annals of Surgery*. – 2015. – T. 262, № 4. - P. 653-659.
122. Macheiner W. Sézary syndrome and seronegative polyarthritis: treatment with extracorporeal photochemotherapy / W. Macheiner, C. Jantschitsch, W. Graninger [et al.] // *Journal of The American Academy of Dermatology*. – 2003. – T. 48, № 2. - P. 220-226.
123. Maeda A. Intravenous infusion of syngeneic apoptotic cells by photopheresis induces antigen-specific regulatory T cells / A. Maeda, A. Schwarz, K. Kernebeck [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2005. – № 174. - P. 5968–5976.
124. Marrack P. Antigen-specific, major histocompatibility complex-restricted T cell receptors / P. Marrack, C. Hannum, M. Harris [et al.] // *Immunological Reviews*. – 1983. - № 76. - P. 131-145.
125. Martin P.J. Biology of chronic graft-versus-host disease: implications for a future therapeutic approach / P.J. Martin // *The Keio Journal of Medicine*. – 2008. – T. 57, № 4. - P.177–183.
126. Masson P. Belatacept for kidney transplant recipients / P. Masson, L. Henderson, J.R. Chapman [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2014. - № 11. - P. 1-65.
127. Matthews N.C. Urban particulate matter suppresses priming of T helper type 1 cells by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor-activated human dendritic cells / N.C. Matthews, A. Faith, P. Pfeffer [et al.] // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. – 2014. – T. 50, № 2. - P. 281-291.
128. Mauiyyedi S. Acute Humoral Rejection in Kidney Transplantation: II. Morphology, Immunopathology, and Pathologic Classification / S. Mauiyyedi, M. Crespo, A.B. Collins [et al.] // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2002. - № 13. - P. 779–787.
129. Mayes M.D. Photopheresis and autoimmune diseases / M.D. Mayes // *Rheumatic Diseases Clinics of North America*. – 2000. – T. 26, № 1. - P.75-81.

130. Meloni F. Peripheral CD4+CD25+ Treg cell counts and the response to extracorporeal photopheresis in lung transplant recipients / F. Meloni, A. Cascina, S. Miserere [et al.] // *Transplantation Proceedings*. – 2007. – T. 39, № 1. - P. 213–217.
131. Mervyn S. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) / S. Mervyn, S.D. Clifford, W.S. Christopher [et al.] // *JAMA*. – 2016. – T. 315, № 8. – P. 801-810.
132. Michallet M. Extracorporeal photopheresis for GVHD prophylaxis after reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective multicenter phase 2 study / M. Michallet, M. Sobh, F. Garban [et al.] // *Leuk. Lymphoma*. – 2018. – T. 59, № 2. – P. 372-380.
133. Morelli A.E. The immune regulatory effect of apoptotic cells and exosomes on dendritic cells: its impact on transplantation / A.E. Morelli // *American Journal of Transplantation*. – 2006. - № 6. - P. 254–261.
134. Morelli A.E. Internalisation of circulating apoptotic cells by splenic marginal zone dendritic cells: dependence on complement receptors and effect on cytokine production / A.E. Morelli, A.T. Larregini, W.J. Shufesky [et al.] // *Blood*. – 2003. – № 101. - P.611–620.
135. Nadazdin O. Stem cell mobilization and collection for induction of mixed chimerism and renal allograft tolerance in cynomolgus monkeys / O. Nadazdin, G. Abrahamian, S. Boskovic [et al.] // *Journal of Surgical Research* - 2011 – T. 168, № 2. - P. 294-300.
136. Nafar M. Pre-transplant and post-transplant soluble CD30 for prediction and diagnosis of acute kidney allograft rejection / M. Nafar, F. Farrokhi, M. Vaezi [et al.] // *Int Urol Nephrol*. – 2008. – № 12. – P.2114-2115.
137. Neale J. Cardiovascular risk factors following renal transplant / J. Neale, A.C. Smith // *World Journal Transplantation*. – 2015. - № 5(4) - P.183-195.
138. Nie J. FOXP3(+) Treg Cells and Gender Bias in Autoimmune Diseases / J. Nie, Y.Y. Li, S.G. Zheng, A. Tsun, B. Li // *Frontiers in Immunology*. – 2015. - № 6. - P. 493.

139. Nikoueinejad H. Dynamic changes of regulatory T cell and dendritic cell subsets in stable kidney transplant patients: a prospective analysis / H. Nikoueinejad, A. Amirzargar, A. Sarrafnejad [et al.] // *Iran. J. Kidney Dis.* – 2014. – T 8, № 2. – P. 130-138.
140. O’Leary J.G. The Influence of Immunosuppressive Agents on the Risk of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Production in Solid Organ Transplant Recipients / J.G. O’Leary, M. Samaniego, M.C. Barrio [et al.] // *Transplantation.* – 2016. – T. 100, № 1. - P. 39-53.
141. Pabón M.A. Minor histocompatibility antigens as risk factor for poor prognosis in kidney transplantation / M.A. Pabón, C.E. Navarro, R. Martin [et al.] // *Transplantation Proceedings* - 2011 – T. 43, № 9. - P. 3319-3323.
142. Papp G. The effects of extracorporeal photochemotherapy on T cell activation and regulatory mechanisms in patients with systemic sclerosis / G. Papp, S. Barath, A. Szegedi [et al.] // *Clinical Rheumatology.* – 2012. – T. 31, № 9. - P. 1293-1299.
143. Pérez-Sáez M.J. Kidney Transplantation in the Diabetic Patient / M.J. Pérez-Sáez, J. Pascual // *Journal of Clinical Medicine.* – 2015. – T. 9, № 6. - P.1269-1280.
144. Peritt D. Potential mechanisms of action of photopheresis in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow* / D. Peritt // *Transplantation.* – 2006. – № 12. - P. 7–12.
145. Perotti C., Sniecinski I. A concise review on extracorporeal photochemotherapy: Where we began and where we are now and where are we going! / C. Perotti, I. Sniecinski // *Transfusion and Apheresis Science.* – 2015. – T. 52, № 3 - P. 360-368.
146. Peters J.H. Ex vivo generation of human alloantigen-specific regulatory T cells from CD4(pos)CD25(high) T cells for immunotherapy / J.H. Peters, L.B. Hilbrands, H.J. Koenen, I. Joosten // *PLoS One.* – 2008. - № 3 (5). - e2233.
147. Peters J.H., Preijers F.W., Woestenenk R. et al. Clinical grade Treg: GMP isolation, improvement of purity by CD127 Depletion, Treg expansion, and

Treg cryopreservation / J.H. Peters, F.W. Preijers, R. Woestenenk [et al.] // PLoS One - 2008 - № 3 (9). - e 3161.

148. Pierini A. Regulatory T Cell Immunotherapy in Immune-Mediated Diseases / A. Pierini, D. Schneidawind, H. Nishikii, R.S. Negrin // Current Stem Cell Reports. – 2015. - № 1(4). - P. 177-186.

149. Pilat N. Costimulatory pathways in transplantation / N. Pilat, M.H. Sayegh, T. Wekerle // Seminars in Immunology. – 2011. – T. 23, № 4. – P. 293-303.

150. Prosser A. C. Tissue-resident Lymphocytes in Solid Organ Transplantation: Innocent Passengers or the key to Organ Transplant Survival? / A.C. Prosser, A. Kallies, M. Lucas // Transplantation. – 2018. – T. 102, № 3. – P. 378-386.

151. Radojcic V. The role of extracorporeal photopheresis in chronic graft-versus-host disease / V. Radojcic, M.A. Pletneva, D.R. Couriel // Transfusion and Apheresis Science. – 2015. – T. 52, № 2. - P.157-161.

152. Raker V.K. Tolerogenic Dendritic Cells for Regulatory T Cell Induction in Man / V.K. Raker, M.P. Domogalla, K. Steinbrink // Frontiers in Immunology. – 2015. - № 9 (6). - P. 569

153. Rančić N. Tacrolimus concentration/dose ratio as a therapeutic drug monitoring strategy: the influence of gender and comedication / N. Rančić, V. Dragojević-Simić, N. Vavić [et al.] // Vojnosanitetski Pregled. - 2015 – T. 72, № 9. - P. 813-822.

154. Reddy P. Pathophysiology of acute graft-versus-host disease / P. Reddy // Hematology & Oncology. – 2003. – T. 21, № 4. - P.149–161.

155. Rotmans S. C4d deposition in allograft: current concepts and interpretation / S. Rotmans, A.B. Collins, R.B. Colvin // Transplantation reviews. – 2005. - № 19 - P. 65–77.

156. Rubegni P. CD4+CD25+ lymphocyte subsets in chronic graft versus host disease patients undergoing extracorporeal photochemotherapy / P. Rubegni, P. Sbrano, G. Cevenini [et al.] // International Journal of Immunopathology and Pharmacology. – 2007. – T. 20, № 4 - P. 801–807.

157. Ruffoni E. Role of antibodies in kidney transplant / E. Ruffoni, M. Seveso, P. Marson [et al.] // *G. Ital. Nefrol.* - 2012 - № 29 (54). - P. 54-60.
158. Russo G.E. New therapeutic prospects for renal transplant: extracorporeal photochemotherapy / Russo G.E., D'Angelo A.R., Testorio M. [et al.] // *Giornale Italiano di Nefrologia.* - 2012. - № 29 (54). - S. 36-39.
159. Safinia N. Successful expansion of functional and stable regulatory T cells for immunotherapy in liver transplantation / N. Safinia, T. Vaikunthanathan, H. Fraser [et al.] // *Oncotarget.* - 2016. - № 17. - e. 6927.
160. San Segundo D. Calcineurin inhibitors affect circulating regulatory T cells in stable renal transplant recipients / D. San Segundo, J.C. Ruiz, G. Fernández-Fresnedo [et al.] // *Transplant Proc.* - 2006. - № 38. - P. 2391-2393.
161. Sato M. Restrictive allograft syndrome (RAS): a novel form of chronic lung allograft dysfunction / M. Sato, T.K. Waddell, U. Wagnetz [et al.] // *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* - 2011. - T. 30, № 7. - P. 735-742.
162. Sayegh M.H. Mechanisms of T cell recognition of alloantigen: the role of peptides / M.H. Sayegh, B. Watschinger, C.B. Carpenter // *Transplantation.* - 1994. - № 57. - P.1295-1302.
163. Schmid D. T-cell death, phosphatidylserine exposure and reduced proliferation rate to validate extracorporeal photochemotherapy / D. Schmid, C. Grabmer, D. Streif [et al.] // *Vox Sanguinis.* - 2015. - T. 108, № 1. - P.82-88.
164. Schwartz J. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: the sixth special issue / J. Schwartz, J.L. Winters, A. Padmanabhan [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis.* - 2013. - T. 28, № 3. - P. 145-284.
165. Setterblad N. Extracorporeal photopheresis increases sensitivity of monocytes from patients with graft-versus host disease to HLA-DR-mediated cell death / N. Setterblad, F. Garban, R. Weigl [et al.] // *Transfusion.* - 2008. - T. 48, № 1. - P.169-177.

166. Shimizu K. Host CD40 ligand deficiency induces long-term allograft survival and donor-specific tolerance in mouse cardiac transplantation but does not prevent graft arteriosclerosis / K. Shimizu, U. Schönbeck, F. Mach [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2000. – T. 165, № 6. - P. 3506-3518.

167. Solez K. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions / K. Solez, R.B. Colvin, L.C. Racusen [et al.] // *Am J Transplant*. – 2008. – T. 8, № 4. – P. 753-760.

168. Spisek R. Maturation state of dendritic cells during the extracorporeal photopheresis and its relevance for the treatment of chronic graft-versus-host disease / R. Spisek, Z. Gasova, J. Bartunkova // *Transfusion*. – 2006. – T. 46, № 1 - P. 55–65.

169. Stoumpos S. Cardiovascular morbidity and mortality after kidney transplantation / S. Stoumpos, A.G. Jardine, P.B. Mark // *Transplant International*. – 2015. – T. 28, № 1. - P. 10-21.

170. Strom T.B. Prospects and applicability of molecular diagnosis of allograft rejection / T.B. Strom, M. Suthanthiran // *Semin Nephrol*. – 2000. – T. 20, № 2. - P.103-107.

171. Sun Z. Immunological effect induced by mesenchymal stem cells in a rat liver transplantation model / Z. Sun, T. Li, H. Wen, H. Wang [et al.] // *Experimental and Therapeutic Medicine*. – 2015. – T. 10, № 2. - P. 401-406.

172. Svensson-Arvelund J. The human fetal placenta promotes tolerance against the semiallogeneic fetus by inducing regulatory T cells and homeostatic M2 macrophages / J. Svensson-Arvelund, R.B. Mehta, R. Lindau [et al.] // *Journal of Immunology* - 2015 – T. 194, № 4. - P. 1534-1544.

173. Thorp E.B. T-cell exhaustion in allograft rejection and tolerance / E.B. Thorp, C. Stehlik, M.J. Ansari // *Current Opinion in Organ Transplantation*. – 2015. – T. 20, № 1. - P. 37-42.

174. Trpkov K. Pathologic features of acute renal allograft rejection associated with donor-specific antibody: Analysis using the Banff grading schema / K. Trpkov, P. Campbell, F. Pazderka [et al.] // *Transplantation*. – 1996. – T. 61, № 11. - P. 1586-1592.

175. Urbani L. The role of immunomodulation in ABO-incompatible adult liver transplant recipients / L. Urbani, A. Mazzoni, I. Bianco [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis*. - 2008. – T. 23, № 2. - P. 55–62.
176. Urbani L. A single-staggered dose of calcineurin inhibitor may be associated with neurotoxicity and nephrotoxicity immediately after liver transplantation / L. Urbani, A. Mazzoni, L. Bindi [et al.] // *Clinical Transplantation*. - 2009. – T. 23, № 6. - P. 853-860.
177. Urbani L. Potential applications of extracorporeal photopheresis in liver transplantation / L. Urbani, A. Mazzoni, P. Colombatto [et al.] // *Transplantation Proceedings*. – 2008. – T. 40, № 4. - P. 1175–1178.
178. Urbani L. Avoiding calcineurin inhibitors in the early post-operative course in high-risk liver transplant recipients: The role of extracorporeal photopheresis / L. Urbani, A. Mazzoni, P. De Simone [et al.] // *Journal of Clinical Apheresis*. – 2007. – T. 22, № 4. - P. 187-194.
179. Usharauli D. Dendritic cells and the immunity/tolerance decision / D. Usharauli // *Medical Hypotheses*. – 2005. – T. 64, № 1. - P. 112–113.
180. Valujskikh A. Memory T cells and their exhaustive differentiation in allograft tolerance and rejection / A. Valujskikh, X.C. Li // *Current Opinion in Organ Transplantation*. – 2012. – T. 17, № 1. - P. 15-19.
181. Vela-Ojeda J. Role of CD4⁺CD25⁺highFoxp3⁺CD62L⁺ regulatory T cells and invariant NKT cells in human allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / J. Vela-Ojeda, L. Montiel-Cervantes, P. Granados-Lara et al. // *Stem Cells and Development*. – 2010. – T. 19, № 3. - P. 333-340.
182. Vella J.P. Indirect allorecognition of major histocompatibility complex allopeptides in human renal transplant recipients with chronic graft dysfunction / J.P. Vella, M. Spadafora-Ferreira, B. Murphy [et al.] // *Transplantation*. - 1997. – № 64. – P.795-800.
183. Ville S. Co-Stimulatory Blockade of the CD28/CD80-86/CTLA-4 Balance in Transplantation: Impact on Memory T Cells? / J.P. Vella, M. Spadafora-

Ferreira, B. Murphy [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2015. – T. 10, № 6. - P. 411.

184. Vogel I. CD28/CTLA-4/B7 costimulatory pathway blockade affects regulatory T-cell function in autoimmunity / I. Vogel, A. Kasran, J. Cremer [et al.] // *European Journal of Immunology*. – 2015. – T. 45, № 6. - P.1832-1841.

185. Walker L.S. Confusing signals: recent progress in CTLA-4 biology / L.S. Walker, D.M. Sansom // *Trends In Immunology*. – 2015. – T. 36, № 2. - P. 63-70.

186. Walunas T.L. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation / T.L. Walunas, C.Y. Bakker, J.A. Bluestone // *Journal of Experimental Medicine*. – 1995. – T. 182, № 2. - P. 459–465.

187. Wambre E. Effect of allergen-specific immunotherapy on CD4+ T cells / E. Wambre // *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. – 2015. – T. 15, № 6. - P. 581-587.

188. Wan C.D. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells derived from adipose tissues in a rat orthotopic liver transplantation model / C.D. Wan, R. Cheng, H.B. Wang, T. Liu // *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*. – 2008. – T. 7, № 1. - P. 29-33.

189. Wang J.H. Current Status of Kidney Transplant Outcomes: Dying to Survive / J.H. Wang, M.A. Skeans, A.K. Israni // *Adv. Chronic Kidney Dis*. – 2016. – T. 23, № 5. - P.281-286.

190. Wells A.D. T cell effector function and anergy avoidance are quantitatively linked to cell division / A.D. Wells, M.C. Walsh, D. Sankaran, L.A. Turka // *Journal of Immunology*. – 2000. – T. 165, № 5. - P. 2432-2443.

191. Wherry E.J. Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection / E.J. Wherry, S.J. Ha, S.M. Kaech [et al.] // *Immunity*. – 2007. - 27 (4) - P. 670-684.

192. Wortel C.M. Regulatory B cells: Phenotype, function and role in transplantation / C.M. Wortel, S. Heidt // *Transpl. Immunol*. – 2017. – № 41. – P. 1-9.

193. Xia C.Q. Extracorporeal photopheresis-induced immune tolerance: a focus on modulation of antigen-presenting cells and induction of regulatory T cells by apoptotic cells / C.Q. Xia, K.A. Campbell, M.J. Clare-Salzler // *Current Opinion in Organ Transplantation*. – 2009. – T. 14, № 4. - P. 338-343.

194. Yabanoğlu H. Early Infections in Renal Transplant Recipients: Incidence, Risk Factors, and Causative Microorganisms / H. Yabanoğlu, H.E. Alışkan, K. Çalışkan [et al.] // *Exp. Clin. Transplant*. – 2015. – T. 13, № 3. - P.11-14.

195. Yamano T. Thymic B Cells and Central T Cell Tolerance / T. Yamano, M. Steinert, L. Klein // *Frontiers in Immunology*. – 2015. - № 6. - P. 376.

196. Yang J. Adhesion: a confounding bias in murine cervical heterotopic heart transplantation / J. Yang, Q. Chen, F. Liu [et al.] // *American Journal of Translational Research*. – 2015. – T. 15, № 7. - P.1487-1498.

197. Yoo E.K. Apoptosis induction of ultraviolet A and photochemotherapy in cutaneous T cell lymphoma; relevance to mechanism of therapeutic action / E.K. Yoo, A.H. Rook, R. Elenitsas [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 1996. - № 107. - P. 235–242.

198. Zhang H. Systematic review and meta-analysis of prospective studies for ECP treatment in patients with steroid-refractory acute GVHD / H. Zhang, R. Chen, J. Cheng [et al.] // *Journal of Patient Preference and Adherence*. – 2015. - № 9. - P. 105-111.