

# Диагностическое значение антител к HLA при хроническом и позднем остром отторжении трансплантата почки

**Е.С. Иванова<sup>1</sup>, Е.С. Столяревич<sup>1,2,3</sup>, Ф.С. Баранова<sup>1</sup>, Л.Ю. Артюхина<sup>1</sup>, О.Е. Гичкун<sup>2</sup>, Н.Б. Богданова<sup>2</sup>, Н.А. Томилина<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup> ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр, 123182 Москва, ул. Пехотная, д. 3, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФБГУ «ФНЦ Трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123182 Москва, Щукинская ул., д. 1, Москва, Россия

<sup>3</sup> Кафедра нефрологии ФПДО ФГБУ ФГОУ «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», 127473 Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, Москва, Россия

## Diagnostic value of anti-HLA antibodies at chronic and late acute rejection of kidney transplant

**E.S. Ivanova<sup>1</sup>, E.S. Stolyarevich<sup>1,2,3</sup>, F.S. Baranova<sup>1</sup>, L.Y. Artyukhina<sup>1</sup>, Y.E. Gichkun<sup>2</sup>, N.B. Bogdanova<sup>2</sup>, N.A. Tomilina<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup> Moscow City Nephrology Center, Moscow City Hospital 52, 3 Pekhhotnaya Str, 123182 Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, 1 Shchukinskaya Str. 123182, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Chair of Nephrology, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20 Delegatskaya Str., bld. 1, Moscow, Russian Federation

**Ключевые слова:** трансплантация почки, АТ к HLA, C4d-компонент комплемента, антитело-опосредованное отторжение

### Резюме

**Цель исследования:** анализ корреляций между выявлением АТ к HLA I и II классов, свечением C4d и выявлением микроциркуляторного воспаления при позднем остром и хроническом отторжении трансплантата.

**Материалы и методы.** В исследование включены 108 пациентов с дисфункцией почечного трансплантата, которым была выполнена биопсия трансплантата (с определением C4d) и исследованы АТ к HLA. На основании морфологического диагноза пациенты были разделены на 3 группы: 1 группа ( $n=50$ ) – пациенты с хроническим отторжением трансплантата (ХОТ), 2 группа ( $n=24$ ) пациенты с кризами отторжения трансплантата с признаками микроциркуляторного воспаления (криз с м/в), 3 группа ( $n=34$ ) – пациенты с иной патологией трансплантата (группа контроля).

**Результаты.** АТ к HLA определялись у 70% пациентов 1 группы, 62% пациентов 2 группы и у 29% в 3 (контрольной) группе. При этом титр антител был значимо выше в C4d+ случаях, независимо от характера свечения. У 48% и 57% пациентов в 1 и 2 группах выявлялись оба маркера гуморального отторжения (C4d и АТ к HLA), что позволяло верифицировать диагноз без дальнейшего уточнения характера антител. В случаях выявления изолированного свечения C4d (12% и 35% в 1 и 2 группах) потребовалось использование более чувствительной методики определения антител (LUMINEX). Присутствие АТ к HLA в отсутствие свечения C4d, выявлявшееся у 22%

Адрес для переписки: Иванова Екатерина Сергеевна, ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр, 123182 Москва, ул. Пехотная, д. 3  
E-mail: katerineiv@mail.ru

пациентов 1 группы и у 29% в группе контроля, требовало определения донор-специфичности выявленных антител.

**Заключение.** Скрининговое определение АТ к HLA является первым этапом выявления донор-специфических антител, однако в некоторых случаях при наличии данных биопсии трансплантата также может применяться как независимый метод диагностики.

#### *Abstract*

**Aim:** to analyze the correlations between class-I and class-II anti-HLA antibodies with microvascular inflammation and C4d-staining in cases of late acute and chronic graft rejection.

**Materials and methods:** The study included 108 patients with indicative graft biopsies (with C4d-staining) and detection of anti-HLA antibodies (ELISA). Patients were divided into 3 groups based on pathology pattern: group 1 ( $n=50$ ) consisted of patients with chronic graft rejection, group 2 included 24 patients with acute graft rejection with microvascular inflammation, group 3 ( $n=34$ ) was presented by patients with other graft pathology (control group).

**Results:** Anti-HLA antibodies (predominantly class-II anti-HLA) were identified in 70% of patients of group 1, in 62% of patients of group 2 and 29% patients of group 3 (control). The level of class-II anti-HLA antibodies was significantly higher in C4d-positive cases with no difference between its focal or diffuse expression. In 48% and 57% of patients of 1 and 2 groups, respectively both C4d and anti-HLA antibodies were positive and we considered these cases as AMR without subsequent DSA detection. In cases of isolated C4d staining (12% and 35% of cases in 1 and 2 group, respectively) more sensitive methods (LUMINEX) were needed. In C4d-negative cases (22% in group 1 and 29% in control group) single antigen detection of DSA should be performed.

**Conclusion:** Screening of anti-HLA antibody is a first step of DSA detection, but it can be used as an independent method of diagnosis in the presence of biopsy data in some cases.

**Key words:** kidney transplantation, anti-HLA antibodies, C4d, antibody-mediated rejection

Трансплантация почки (ТП) является лечением выбора пациентов с терминальной хронической почечной недостаточностью и имеет преимущества перед диализом по выживаемости, качеству жизни и экономическим затратам [5, 22].

Однако успех этой операции ограничивается во многих случаях формированием дисфункции трансплантированной почки, в структуре которой в поздние сроки основное место занимает отторжение [8].

В зависимости от механизма развития отторжение подразделяется на клеточное и антитело-опосредованное (гуморальное). Традиционно диагноз антитело-опосредованного отторжения ставится при наличии донор-специфических антител (ДСА) и характерной морфологической картины воспаления в микроциркуляторном русле в сочетании с экспрессией C4d компонента комплемента в перитубулярных капиллярах (ПТК). [18, 23, 26]

Свечение C4d отражает антитело-опосредованное повреждение клеток эндотелия. Однако, как показывают данные литературы и наши собственные более ранние исследования [1], его отсутствие не исключает участия антител (АТ) в патогенезе хронической трансплантационной гломерулопатии (ХТГ), то есть свечение C4d является специфичным, но недостаточно чувствительным методом диагностики гуморального отторжения. Во многих случаях ХТГ с наличием АТ к HLA (human leucocyte antigens) свечение C4d было негативным [7, 19, 27]. В современной литературе рассматривается несколько гипотез, объясняющих это явление.

Во-первых, не во всех случаях хронического от-

торжения трансплантата (ХОТ) реакция происходит с участием комплемента. Как было показано в экспериментальных работах, аллоантитела могут вызывать апоптоз эндотелиальных клеток независимо от действия комплемента [21]. При этом антитело-опосредованное повреждение трансплантата начинается со связывания ДСА с HLA-антигенами или другими мишенями на эндотелии трансплантата, что индуцирует клеточную пролиферацию или антитело-зависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность с высвобождением интерферона  $\gamma$  [3].

По всей видимости, изотип тяжелой цепи ДСА также является важным параметром, влияющим на патогенный потенциал антител, направленный против трансплантата. При воздействии ДСА классический путь комплемента быстро активируется посредством связывания IgG и активации C1q, что обычно приводит к быстрой потере трансплантата. Длительное отсутствие антитело-зависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности может быть также связано с полиморфизмом Fc IgG, что лежит в основе недостаточной активации NK-клеток через Fc $\gamma$ R (CD16)-зависимые пути. [12, 13]

Согласно второй гипотезе, АТ могут связываться с HLA и другими мишенями и активировать систему комплемента лишь частично (при этом нет образования C5b-C9 мембраноатакующего комплекса), не приводя к очевидному повреждению. Этот процесс называется аккомодация [20]. При хронической экспозиции низких уровней ДСА развивается повреждение с недостаточной степенью активации комплемента, при которой C4d может не обнаруживаться [7].

В-третьих, хроническое антитело-опосредованное отторжение, по всей видимости, имеет волнообразное течение с вариабельностью выработки АТ, и поэтому биопсия потенциально может пропустить пик продукции АТ и, соответственно, наличие положительного результата по С4d.

Поэтому в классификации Banff 2009 были окончательно сформулированы критерии С4d-негативного гуморального отторжения у пациентов с признаками микроциркуляторного воспаления и наличием ДСА, если С4d не выявлялась.

Целью настоящего исследования являлся анализ корреляций между выявлением АТ к HLA I и II классов, свечением С4d при позднем остром и хроническом отторжении трансплантата.

### Материалы и методы

В исследование были включены 108 пациентов с дисфункцией почечного трансплантата. Средний возраст пациентов составил  $41,8 \pm 1,4$  г. Медиана среднего срока после аллотрансплантации почки (АТП) на момент выявления дисфункции была 52,13 (18,69; 114,56) мес.

Всем пациентам, помимо стандартного клинического обследования, выполнялась пункционная биопсия трансплантата почки. Показанием к биопсии являлось появление, либо нарастание дисфункции трансплантата, под которой подразумевалось повышение креатинина сыворотки крови выше 0,13 ммоль/л и/или протеинурия выше 0,3 г/сутки. Медиана креатинина сыворотки крови составила 0,2 (0,16; 0,29) ммоль/л. Протеинурия отмечалась у 87 (80,6%) человек (медиана 0,89 (0,2; 3,0) г/сутки). Пункционная биопсия трансплантата почки выполнялась под ультразвуковым контролем.

Гистологическое исследование биоптатов трансплантата почки включало в себя световую микроскопию и иммунофлюоресцентное исследование на замороженных срезах. При проведении световой микроскопии проводились окраски гематоксилином и эозином, ШИК-реакция и окраска трихромом по Массону. При иммунофлюоресцентном исследовании помимо стандартных сывороток (анти-IgG, анти-IgA, анти-IgM, анти-C3) использовались моноклональные FITS-меченные антитела анти-С4d. Заключение гистологического исследования формулировалось согласно классификации Banff 2009.

По результатам биопсии трансплантата почки все пациенты были разделены на 3 группы. 1 группу (50 человек) составили пациенты с ХТГ, то есть имевшие хроническое отторжение трансплантата (ХОТ). Ко 2 группе (24 человека) относились пациенты с кризами отторжения трансплантата с признаками микроциркуляторного воспаления (криз с м/в). 3 группа (34 человека) была представлена пациентами с иной патологией трансплантата. Последняя включала хроническую трансплантационную нефропатию, хро-

ническую нефротоксичность ингибиторов кальцинейрина, тромботическую микроангиопатию (ТМА), гломерулонефрит трансплантата и т.д., а также 11 случаев кризов отторжения без признаков микроциркуляторного воспаления, которые характеризовались как пограничные изменения или клеточные варианты отторжения. Таким образом, по сути 3 группа представляла собой группу контроля.

Исследование АТ к HLA I и II классов проводилось у всех пациентов после биопсии, выявившей гистологические признаки гуморального отторжения трансплантата почки, а также при подозрении на активацию гуморального звена иммунитета на основании клинических данных (развитие дисфункции на фоне низких уровней концентрации ингибиторов кальцинейрина в крови, эпизодов пропуска иммуносупрессивной терапии и т.д.). В этих случаях исследование АТ к HLA выполнялось до биопсии трансплантата.

АТ к HLA исследовались методом ELISA. Уровень АТ к HLA оценивался условными единицами измерения, отражающими оптическую плотность образца. При значении менее 0,5 результат считался отрицательным. В случаях сомнительности результатов, то есть при отрицательном результате и морфологических признаках гуморального отторжения, проводилось контрольное исследование АТ к HLA I и II классов методом LUMINEX.

При статистической обработке данных переменные, имеющие нормальное распределение, описывались как среднее  $\pm$  среднеквадратичное отклонение. При сравнении средних значений использовали критерий Стьюдента. Для оценки достоверности различий качественных признаков применялся точный критерий Фишера и  $\chi^2$  критерий. Для переменных с распределением, отличным от нормального, вычислялись медиана и интерквартильный размах. Для сравнения этих переменных использовались критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса. Результаты считались статистически достоверными при значениях  $p < 0,05$ . Статистический анализ выполнялся при помощи пакета программ SPSS.

### Результаты

#### *Клинико-демографическая характеристика групп*

Полная клинико-демографическая характеристика групп представлена в таблице 1. Пациенты выделенных групп не различались по возрасту и уровню креатинина крови ( $p=0,8$  и  $p=0,18$  соответственно). Уровень протеинурии у пациентов 1 группы (ХОТ) составил 2,7 (0,95; 4,2) г/сутки, что было значимо выше, чем у пациентов 2 группы ( $p < 0,001$ ). У пациентов 1 группы срок после ТП также был больше, чем во 2 и 3 группах и составил 73,5 (44,0; 125,7) мес. Между 2 и 3 группами значимых различий в сроке возникновения дисфункции не выявлялось ( $p=0,6$ ).

Статус по АТ к HLA

Частота выявления АТ к HLA I и II классов в выделенных группах представлена в таблице 2 и на рисунке 1. АТ к HLA определялись у 70% пациентов 1 группы, 62% пациентов 2 группы и статистически значимо реже (у 29%,  $p < 0,05$ ) в 3 (контрольной) группе, причем резко доминировали АТ к HLA II класса. Последниe определялись с частотой 66% (33 человека) в 1 группе и 62% (15 человек) во 2 группе, а в 3 группе – лишь у 27% (9 человек).

Анализ полученных данных показал, что АТ к HLA II класса у пациентов 3 (контрольной) группы определялись значимо реже ( $p < 0,05$ ), чем в 1 и 2 группах. При этом их уровень также был значимо более низким, чем в группах с острым гуморальным и хроническим отторжением (рис. 2). Средний уровень АТ к HLA II класса в 1 и 2 группах значимо не различался и составил 0,74 (0,36; 1,2) и 0,63 (0,37; 1,98), соответственно,  $p = 0,7$ . В то время как в 3 группе средний уровень АТ к HLA II класса был 0,23 (0,16; 0,5) ( $p < 0,005$ ).

Дальнейший анализ показал, что среди 10 человек 3 (контрольной) группы, у которых определялись АТ к HLA, 3 пациента морфологически имели признаки нефротоксичности ингибиторов кальцинейрина, у 2 других выявлялась ТМА, у 1 – ХТН 3 ст., у другого – признаки токсичности ингибиторов пролиферативного сигнала, еще у одного

диагностирован острый канальцевый некроз. Только у 1 пациента диагностированы пограничные изменения, еще у одного – криз отторжения 1а. При оценке возможных причин обнаружения АТ к HLA у описанных 10 пациентов выяснилось, что 4 из них имели повторный трансплантат, причем у 2 реципиентов предыдущие трансплантаты прекратили свою функцию вследствие отторжения, а у двух других в раннем посттрансплантационном периоде в связи с отсроченной функцией трансплантата

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика групп

	1 группа (ХОТ) $n=50$	2 группа (криз с м/в) $n=24$	3 группа (контроль) $n=34$	Всего $n=108$
Возраст реципиентов (года)	41,6 ± 13,4	43,0 ± 9,6	41,0 ± 13,9	41,8 ± 12,8
Срок после АТП (мес.)	73,5 (44,0; 125,7)*	42,33 (9,8; 61,8)	39,1 (12,6; 110,0)	52,1 (18,7; 114,6)
Креатинин (ммоль/л)	0,2 (0,18; 0,26)	0,22 (0,16; 0,33)	0,23 (0,16; 0,31)	0,2 (0,16; 0,29)
Протеинурия (г/сутки)	2,7 (0,95; 4,2) *	0,3 (0,14; 0,8)	0,23 (0,1; 1,0)	0,89 (0,2; 3,0)

\* Статистически значимо больше, чем во 2 и 3 группах ( $p < 0,01$ )

Таблица 2

Частота выявления АТ к HLA в исследованных группах

	1 группа (ХОТ) $n=50$	2 группа (криз с м/в) $n=24$	3 группа (контроль) $n=34$	Всего $n=108$
АТ к HLA отсутствуют (%)	30*	38*	70	44,5
АТ к HLA I класс (%)	4	0	3	3
АТ к HLA II класс (%)	54	54	24	44,5
АТ к HLA I + II класс (%)	12	8	3	8

\* Статистически значимо больше, чем во 2 и 3 группах ( $p < 0,01$ )



Рис. 1. Частота выявления АТ к HLA в исследованных группах



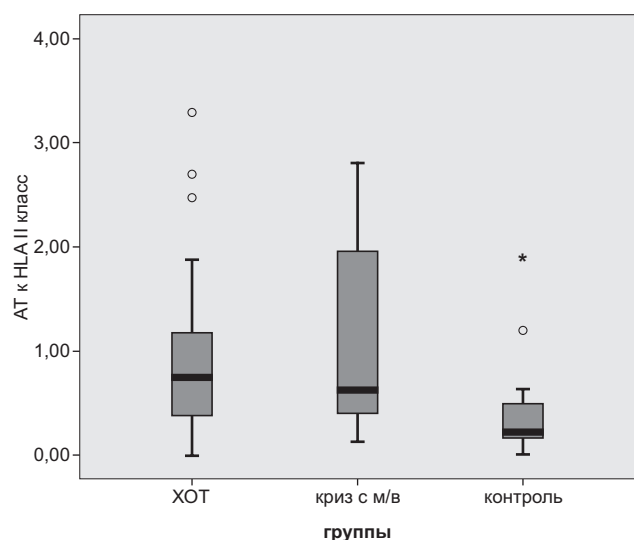


Рис. 2. Уровень АТ к HLA II класса в исследованных группах

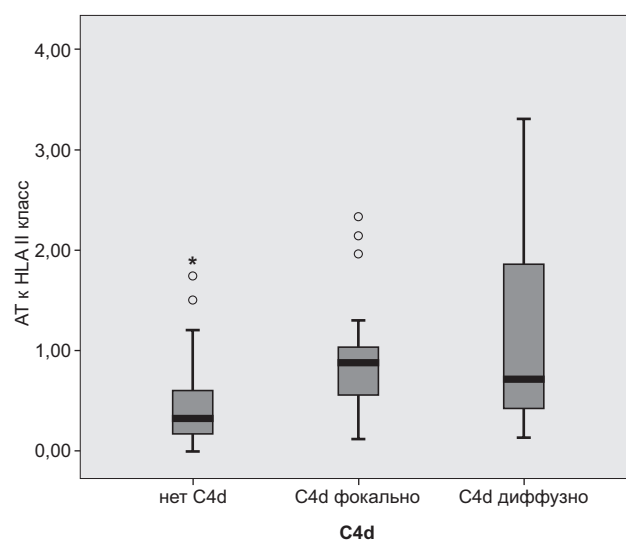


Рис. 4. Уровень АТ к HLA II класса при разном характере свечения C4d

и высоким иммунологическим риском назначалась терапия плазмаферезами и антилимфоцитарным иммуноглобулином. Два реципиента из упомянутых 10 ранее перенесли кризы отторжения с гуморальным компонентом. В то же время, у 4 других реципиентов явного объяснения выявления АТ к HLA мы не нашли. Следует отметить, что все 10 пациентов находятся под динамическим наблюдением, и одного из них при контроле через 6 месяцев АТ к HLA не определялись.

*Статус по свечению C4d*

При иммунофлюоресцентном исследовании свечение C4d выявлялось только в 1 и 2 группах, при этом в группе ХОТ C4d обнаруживались в 62% (31 человек), во 2 группе – в 96% случаев (22 человека), что было статистически значимо чаще ( $p=0,04$ ) (рис. 3).

Наблюдалась связь между свечением C4d и уровнем АТ к HLA II класса (рис. 4). Медиана оптической плотности образца была минимальной при отсутствии свечения C4d и возрастала при C4d-позитивности. При этом при фокальной и диффузной экспрессии C4d она статистически значимо

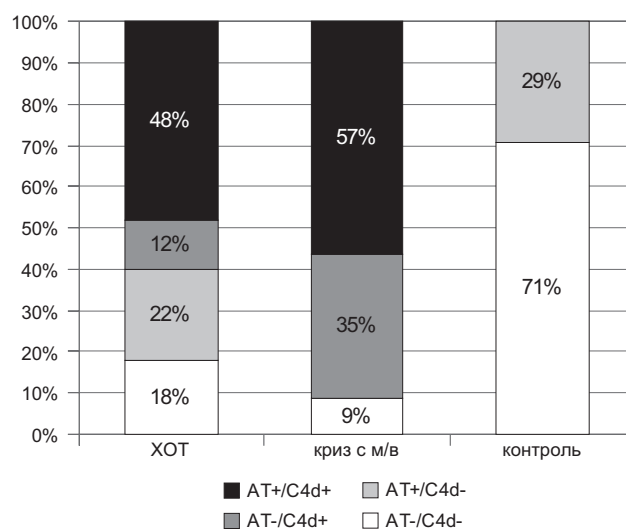


Рис. 5. Распределение пациентов по сочетанию признаков гуморального отторжения

не различалась, составляя 0,88 (0,5; 1,1) и 0,71 (0,39; 1,93) соответственно ( $p=0,5$ ), но была статистически значимо выше, чем в группе без свечения C4d — 0,32 (0,17; 0,6),  $p<0,03$ .



Рис. 3. Частота выявления C4d в группах

ХОТ – хроническое отторжение трансплантата  
криз с м/в – криз с признаками микроциркуляторного воспаления

Распределение пациентов в зависимости от присутствия обоих признаков гуморального отторжения в 3 группах представлено на рисунке 5. Оба маркера (АТ к НЛА и свечение С4d) определялись у 48% реципиентов (24 человека) 1 группы и у 57% (13 человек) 2 группы. Без признаков гуморального отторжения в 1 группе было 18% пациентов (9 человек), во 2 группе – 9% (2 человека), в 3 группе эти признаки отсутствовали в 71% случаев (24 человека).

Особый интерес представляли пациенты 1 и 2 групп, у которых выявлялся только один признак активации гуморального звена иммунитета. АТ к НЛА при отсутствии свечения С4d в группе ХОТ определялись у 22% пациентов. В группе с кризами отторжения с признаками микроциркуляторного воспаления таких пациентов не было. У 12% 1 группы и 35% 2 группы имелось свечение С4d при отсутствии АТ к НЛА. Суммарно в 1 и 2 группах подобная ситуация наблюдалась у 14 человек. У 6 пациентов в дальнейшем удалось исследовать ту же сыворотку на АТ к НЛА методом LUMNEX. Оказалось, что у 5 из них были обнаружены АТ к НЛА (у 2 – АТ к НЛА II класса и у 3 – АТ к НЛА I и II классов).

### Обсуждение

К настоящему времени известно, что ДСА могут появляться в любой период времени после трансплантации и наблюдаются у 20-30% реципиентов почечного трансплантата. Еще выше частота встречаемости ДСА у пациентов с дисфункцией почечного трансплантата [6].

Происхождение ДСА может быть различным. В последних наблюдениях было показано, что *de novo* ДСА в основном представлены II классом и наличие ДСА к НЛА II класса связано с худшим прогнозом, чем ДСА к НЛА I класса [11]. Так 5-летняя выживаемость трансплантатов в больших сериях трансплантатов от живого донора с позитивным кросс-матч у пациентов, сенсibilизированных по I классу, значимо выше, чем таковая у пациентов, сенсibilизированных по II классу (85,3% против 62,6%) [2].

ДСА ответственны за целый комплекс различных типов острого и хронического антитело-опосредованного отторжения трансплантата, включая особенно неблагоприятную форму хронического отторжения – трансплантационную гломерулопатию (ТГ) [3, 7, 17, 27].

Наше исследование, как и многие другие, показало, что наиболее частым проявлением гуморального отторжения трансплантата является ТГ, развивающаяся как исход гуморального ответа. Морфологическими признаками ТГ являются расслоение и образование двойных контуров гломерулярной базальной мембраны при отсутствии отложения иммунных комплексов. Поскольку зачастую невозможно четко разграничить стадии развития

гломерулярного поражения, многие авторы выделяют трансплантационную гломерулопатию как отдельную форму отторжения, не подразделяя ее на острую и хроническую стадии. В своем исследовании мы также не разграничивали эти признаки и интерпретировали случаи сочетания острой и хронической гломерулопатии в рамках хронического отторжения (ХОТ). Свечение С4d на ПТК рассматривалось в диагнозе антитело-опосредованного отторжения как проявление активности процесса.

Пациенты с гистологическими признаками ТГ часто клинически имеют протеинурию, в том числе нефротического уровня, артериальную гипертензию и/или ухудшение функции трансплантата почки. Как было показано в многочисленных исследованиях, данный симптомокомплекс характеризуется неблагоприятным прогнозом [15]. Более того, в исследовании Gloor с соавторами было показано, что даже субклиническая ТГ, выявляемая при протокольных биопсиях, влияет на отдаленный исход функции трансплантата [7].

Если пациенты с полным набором критериев антитело-опосредованного отторжения трансплантата (морфологическая картина + свечение С4d на ПТК + выявление АТ к НЛА) вопросов по диагнозу и прогнозу не вызывают, то пациенты с неполным набором этих критериев представляют особый интерес.

В недавнем исследовании Torres с соавт. [30] сравнили пациентов с ТГ с полным набором критериев хронического антитело-опосредованного отторжения с реципиентами, также имевшими ТГ, но не имевшими ни АТ к НЛА, ни свечения С4d (изолированная ТГ). Оказалось, что пациенты с изолированной ТГ имели менее выраженные признаки воспаления в клубочках, интерстиции и ПТК и отличались лучшим исходом, чем пациенты с ТГ и полными критериями хронического антитело-опосредованного отторжения. Согласно другим данным, у 62% пациентов с ТГ, не имевших на момент постановки диагноза АТ к НЛА II класса, через год они определялись [7].

В настоящее время в литературе активно обсуждаются варианты хронического антитело-опосредованного отторжения трансплантата с отсутствием свечения С4d на ПТК при наличии АТ к НЛА. В последних исследованиях было показано, что даже при доказанном гуморальном характере отторжения свечение С4d выявляется не во всех случаях. Если при остром гуморальном отторжении его отсутствие может объясняться существованием других, не связанных с активацией системы комплемента механизмов, то в случаях ХОТ выявление свечения С4d варьирует в еще более широких пределах (от 25% до 61% по данным различных авторов) вследствие волнообразного характера процесса [3, 10, 12, 13, 20]. Наши данные также свидетельствуют о меньшей частоте обнаружения свечения С4d в группе ХОТ

(62%) по сравнению с группой кризов с признаками микроциркуляторного воспаления (96%).

В поздние сроки после ТП особый интерес приобретают данные о значении свечения C4d, выявляемого лишь фокально. Несмотря на то, что Banff-классификация рассматривает в качестве диагностического критерия гуморального отторжения лишь диффузное свечение, тем не менее, по данным некоторых исследований фокальное свечение C4d характеризуется снижением выживаемости трансплантатов, хотя и не столь значительным, как при диффузном типе свечения. Это особенно характерно для эпизодов отторжения, развившихся в поздние сроки после ТП, когда фокальный тип свечения встречается чаще, возможно отражая меньшую активность гуморального отторжения, но при этом коррелируя с выявлением антидонорских АТ, признаками микроциркуляторного воспаления и ТГ [1]. Так наши данные не выявили различий в уровнях АТ к HLA в зависимости от характера свечения. И при фокальной и при диффузной экспрессии этот показатель был значимо выше, чем в отсутствии свечения.

### Заключение

В настоящее время важная роль в диагностике и мониторинге антитело-опосредованного отторжения принадлежит контролю АТ к HLA, что подтверждают представленные данные и данные литературы.

При наличии свечения C4d-компонента комплекса в сочетании с характерной морфологической картиной исследование АТ к HLA не представляет дополнительной информации в диагностике острого и хронического антитело-опосредованного отторжения, но позволяет объективизировать диагноз, так как выявление свечения C4d зависит от особенностей метода и квалификации морфолога. Кроме того, определение АТ к HLA позволяет оценить динамику процесса и эффективность лечения гуморального отторжения.

По нашим результатам определение АТ к HLA методом ELISA может использоваться в качестве скринингового метода, данные которого хорошо коррелируют с особенностями морфологической и иммуногистохимической картины, что позволяет в большинстве случаев с высокой достоверностью диагностировать гуморальное отторжение. В случаях негативного результата у пациентов с признаками микроциркуляторного воспаления и свечением C4d-компонента комплекса следует применять метод LUMINEX как более чувствительный.

В случаях сомнительных результатов свечения C4d, то есть при выявлении фокальной или слабой экспрессии C4d-компонента комплекса, что по нашим данным имеет самостоятельное диагностическое и прогностическое значение, необходимо

исследовать АТ к HLA, в том числе высокочувствительными методами (LUMINEX).

При отсутствии свечения C4d-компонента комплекса в случаях характерной морфологической картины гуморального отторжения для диагностики C4d-негативных форм исследование АТ к HLA строго необходимо и требует определения донор-специфичности выявленных антител.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.*

### Литература

1. *Столяревич Е.С., Артюхина А.Ю., Ким И.Г. и др.* Морфологические особенности позднего отторжения трансплантационной почки и их прогностическое значение. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2014. 16 (2): 30-38.
2. *Bentall A., Cornell L.D., Gloor J.M. et al.* Five-year outcomes in living donor kidney transplants with a positive crossmatch. American Journal of Transplantation. 2013. 13 (1): 76-85.
3. *Colvin R.B.* Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. J Am Soc Nephrol 2007. 18: 1046-1056.
4. *Cosio F.G., Sedmak D.D., Henry M.L. et al.* The high prevalence of severe early posttransplant renal allograft pathology in hepatitis C positive recipients. Transplantation 1996. 62: 1054-1059.
5. *Evans R.W. et al.* The quality of life of patients with end-stage renal disease. N. Eng. J. Med. 1985. 312: 553-559.
6. *Gaston R.S., Cecka J.M., Kasiske B.L., et al.* Evidence for antibody-mediated injury as a major determinant of late kidney allograft failure. Transplantation. 2010. 90(1): 68-74.
7. *Gloor J.M., Sethi S., Stegall M.D. et al.* Transplant glomerulopathy: Subclinical incidence and association with alloantibody. Am J Transplant. 2007. 7: 2124-2132.
8. *Gourishankar S., Leduc R., Connett J., et al.* Pathological and clinical characterization of the "troubled transplant": data from the DeKAF study. Am J Transplant. 2010. 10(2): 324-330.
9. *Haas M.* Pathology of C4d-negative antibody-mediated rejection in renal allografts. Curr Opin Organ Transplant. 2013. 18(3): 319-326.
10. *Hanf W., Bonder C.S. and Coates P.T.H.* Transplant Glomerulopathy: The Interaction of HLA Antibodies and Endothelium. Journal of Immunology Research. 2014: 1-12.
11. *Hidalgo L.G. et al.* De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associated with microvascular pathology and late graft failure. Am J Transplant 2009. 9: 2532-2541.
12. *Hidalgo L.G. et al.* NK cell transcripts and NK cells in kidney biopsies from patients with donor-specific antibodies: evidence for NK cell involvement in antibody-mediated rejection. Am J Transplant. 2010. 10: 1812-1822.
13. *Hirohashi T. et al.* A novel pathway of chronic allograft rejection mediated by NK cells and alloantibody. Am J Transplant. 2012. 12: 313-321.
14. *Jordan S.C., Kabwaji J., Toyoda M., Vo A.* B-cell immu-

- notherapeutics: emerging roles in solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2011. 16: 416-424.
15. *Kieran N., Wang X., Perkins J. et al.* Combination of Peritubular C4d and Transplant Glomerulopathy Predicts Late Renal Allograft Failure. *J Am Soc Nephrol*. 2009. 20(10): 2260–2268.
  16. *Lai C.H. et al.* Antibody testing strategies for deceased donor kidney transplantation after immunomodulatory therapy. *Transplantation*. 2011. 92: 48-53.
  17. *Lefaucheur C. et al.* Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. *Contrib Nephrol*. 2009. 162: 1-12.
  18. *Mauzyedy S., Pelle P.D., Saidman S. et al.* Chronic humoral rejection: Identification of antibody-mediated chronic allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol*. 2001. 12: 574-582.
  19. *Miura M., Ogawa Y., Kubota K.C. et al.* Donor-specific antibody in chronic rejection is associated with glomerulopathy, thickening of peritubular capillary basement membrane, but not C4d deposition. *Clin Transplant*. 2007. 21: 8-12.
  20. *Platt J.L.* Antibodies in transplantation. *Discov Med*. 2010. 10: 125-133.
  21. *Plissonier D., Henaff M., Poncet P. et al.* Involvement of antibody-dependent apoptosis in graft rejection. *Transplantation*. 2000. 69: 2601-2608.
  22. *Port F.K., Wolfe R.A., Manger E.A., Berling D.P. & Ji-ang K.* Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *JAMA*. 1993. 270: 1339-1343.
  23. *Regele H., Bobmig G.A., Habicht A. et al.* Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: A contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2002. 13: 2371-2380.
  24. *Reinsmoen N.L. et al.* Acceptable donor-specific antibody levels allowing for successful deceased and living donor kidney transplantation after desensitization therapy. *Transplantation*. 2008. 86: 820-825.
  25. *Sellarres J., de Freitas D.G., Mengel M. et al.* Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *American Journal of Transplantation*. 2012. 12(2): 388–399.
  26. *Sijpkens Y.W., Joosten S.A., Wong M.C. et al.* Immunologic risk factors and glomerular C4d deposits in chronic transplant glomerulopathy. *Kidney Int*. 2004. 65: 2409-2418.
  27. *Sis B., Campbell P.M., Mueller T. et al.* Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant*. 2007. 7: 1743-1752.
  28. *Solez K., Colvin R.B., Racusen L.C. et al.* Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *American Journal of Transplantation*. 2008. 8(4): 753–760.
  29. *Suri D.L., Tomlanovich S.J., Olson J.L., Meyer T.W.* Transplant glomerulopathy as a cause of late graft loss. *Am J Kid Dis*. 2000: 35.
  30. *Torres I.B., Salcedo M., Moreso F. et al.* Comparing transplant glomerulopathy in the absence of C4d deposition and donor-specific antibodies to chronic antibody-mediated rejection. *Clin Transplant*. 2014. 28(10): 1148-1154.
  31. *Vo A.A. et al.* Analysis of subcutaneous (SQ) alemtuzumab induction therapy in highly sensitized patients desensitized with IVIG and rituximab. *Am J Transplant*. 2008. 8: 144-149.
  32. *Vo A.A. et al.* Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Eng J Med*. 2008. 359: 242-251.
  33. *Vo A.A. et al.* Use of intravenous immune globulin and rituximab for desensitization of highly HLA-sensitized patients awaiting kidney transplantation. *Transplantation*. 2010. 89: 1095-1102.

Дата получения статьи: 28.06.2015

Дата принятия к печати: 09.11.2015