

Влияние отложений белка C4d в перитубулярных капиллярах на результаты пересадки родственных почек

В.А. Горяйнов, М.М. Каабак, Н.Н. Бабенко, М.М. Морозова, Л.И. Агуреева, А.Г. Аганесов, Е.Н. Платова, О.В. Дымова, В.В. Панин
ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», Москва
Контакты: Виктор Андреевич Горяйнов, vik-kid@mail.ru

В отделении трансплантации почки ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» начали определять C4d в почечных биоптатах с 2009 г. Это исследование было проведено у 119 больных с нарушением функции аллотрансплантатов от живых родственных доноров. В 85 случаях оно дало отрицательный результат (1-я группа), а в 34 – положительный (2-я группа). Группы больных сравнивали по следующим параметрам: летальность, потери трансплантатов. Кроме того, сравнивали характер морфологических изменений в биоптатах обеих групп. Анализ клинического материала показал следующее. В 1-й группе умерли 6 больных из 85, во 2-й группе – 16 пациентов из 34. Сравнение результатов с использованием критерия Фишера показало, что различие в летальности между обеими группами статистически значимо ($\chi^2 = 4,86$; $p = 0,0275$). Что касается потерь трансплантатов, а также результатов оценки характера морфологических изменений, то они были практически одинаковыми в обеих группах. Следовательно, по нашим данным, наличие C4d ассоциировалось с повышенным уровнем летальности, во всех остальных показателях разница была статистически незначимой.

Ключевые слова: трансплантация, почка, живой родственный донор, иммунодепрессия.

The impact of C4d deposits in peritubular capillars on living related donor kidney transplantation outcome

V.A. Goryaynov, M.M. Kaabak, N.N. Babenko, M.M. Morozova, L.I. Agureeva, A.G. Aganesov, E.N. Platova, O.V. Dymova, V.V. Panin
Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow

In the Department of Kidney Transplantation of Petrovsky National Research Centre of Surgery, the investigations of kidney biopsy specimens for C4d started in 2009. The study was performed in 119 patients with impaired function of kidneys allografted from living related donors. The staining for C4d was negative in 85 cases, and positive in 34 cases. The groups were compared on the following parameters: the patient mortality, and allograft loss. Besides, morphologic findings in the biopsy were compared by nature between the groups. There were 6 deaths among 85 patients in Group 1, and 16 deaths among 34 patients in Group 2. Comparative analysis of results, using Fischer's criterion, demonstrated a statistically significant difference in mortality between the groups ($\chi^2 = 4,86$, $p = 0,0275$). As for graft losses, and the nature of assessed morphology findings, they were nearly similar in both groups. Therefore, according to our data, the presence of C4d protein was associated with increased mortality. The differences between the groups in all other parameters were not statistically significant.

Keywords: transplantation, kidney, living related donors, immunosuppression.

Введение

У пациентов с нарушенной функцией аллотрансплантированной почки диагноз острого гуморального отторжения обычно ставят на основании трех следующих критериев: 1) результаты пункционной биопсии аллопочки (полиморфно-клеточная инфильтрация в перитубулярных

капиллярах – ПТК); 2) диффузные круговые отложения моноклональных C4d в перитубулярных капиллярах; 3) серологические признаки донор-специфических антител [1]. Наличие отложений C4d в ПТК представляет собой фактор риска. В отделении трансплантации почки нашего Центра на протяжении последних 15 лет изучают влияние различных факторов на результаты

пересадки почек от живого родственного донора [2–6].

Трудности в диагностике острого гуморально-го отторжения почки возникают, когда: или два из вышеперечисленных критериев отсутствуют; или два из этих признаков не присутствуют одновременно; или степень распространенности окрашивания составляет не менее 50%, чтобы его можно было назвать диффузным [7]. Все эти признаки могут свидетельствовать об антительной агрессии против трансплантата и, следовательно, отрицательно влиять на результаты трансплантации почки как от живого родственного, так и от трупного доноров. В мировой литературе мнения по этому поводу разноречивы [8–11]. В связи с вышеизложенным мы решили проанализировать наш собственный опыт и представить нашу точку зрения по данному вопросу.

Материал и методы

В ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» С4d начали определять с 2009 г. Данный тест проводили не всем больным, а только тем, у кого наблюдалась отрицательная динамика со стороны функции трансплантированной почки, чтобы дифференцировать причину этого явления. С 2009 г. по апрель 2015 г. это исследование было выполнено у 119 пациентов. Возраст больных – от 1 года до 63 лет ($21,05 \pm 12,50$). Мужчин было 65, женщин – 54. Взрослых было 60, детей – 59. Причины терминальной стадии хронической почечной недостаточности представлены в таблице.

Результаты исследования С4d были отрицательными у 85 больных (1-я группа), положительными – у 34 (2-я группа). В 1-й группе совместимость по антигенам HLA-A, B, Dq составляла $2,55 \pm 1,00$; во 2-й группе – $2,91 \pm 1,24$. Хотя во 2-й группе совместимость была несколько выше, чем в 1-й, однако, согласно анализу с использованием критерия Стьюдента, эта разница оказалась статистически незначимой ($t = 1,96$; $p > 0,05$). Следовательно, степень совместимости в обеих группах была практически одинаковой.

Результаты исследования морфологии почечных биоптатов были представлены четырьмя категориями: 1) «норма»; 2) «пограничные изменения» (ПИ); 3) «острое отторжение» (ОО1-2); 4) «хроническая трансплантационная нефропатия» (ХТН). Исследование почечных биоптатов дало результаты, представленные на рис. 1.

Как видно из представленного на рис. 1 графика, в 1-й группе (С4d-) процент биоптатов с

Таблица. Причины терминальной стадии хронической почечной недостаточности

Диагноз	Число больных	Процент
Хронический гломерулонефрит	29	24,27
Пиело-мочеточниково-пузырный рефлюкс	12	10,29
Гемолитико-уремический синдром	9	7,35
Гипоплазия почек	13	11,02
Синдром Альпорта	3	2,94
Дисплазия почек	5	4,41
Поликистоз почек	2	2,21
Обструктивная уропатия	7	5,52
Нефронофтиз Фанкони	3	2,21
Нефротический синдром	5	4,04
Фокально-сегментарный гломерулосклероз	3	2,57
Диабетическая нефропатия	2	2,21
Прочее	26	20,96
Итого	119	100,00

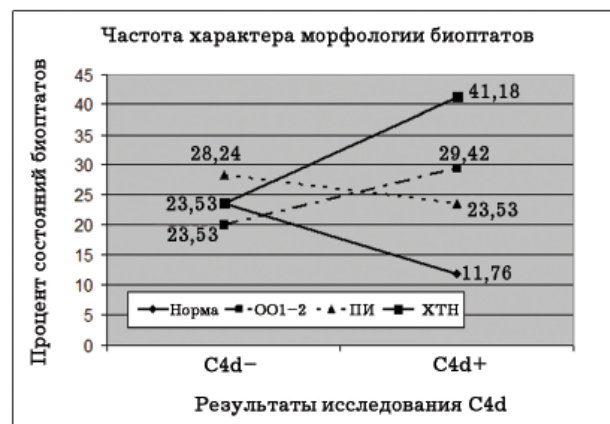


Рис. 1. Частота характера морфологии биоптатов

результатом «норма» почти в 2 раза выше, чем во 2-й (С4d+). То же самое можно сказать и о биоптатах с результатом «ПИ». Что же касается биоптатов с результатами «ОО1-2» и «ХТН», то здесь наблюдается обратная картина: в 1-й группе (С4d-) их доля почти в 2 раза ниже, чем во 2-й (С4d+). Следовательно, можно утверждать, что С4d+ отрицательно сказывается на морфологической картине биоптатов. Было проведено сравнение степени выраженности параметров морфологии биоптатов. Результаты представлены на рис. 2.

Как видно из представленного на рис. 2 графика, конфигурации морфологических спектров

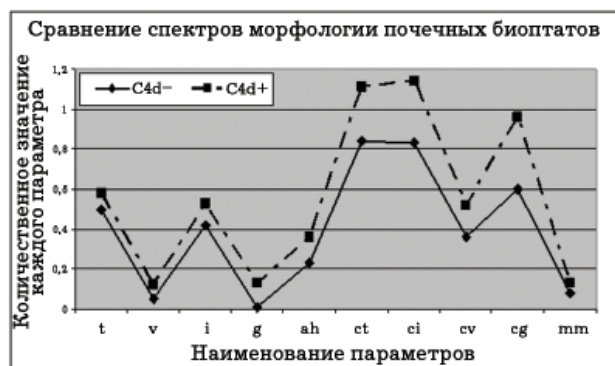


Рис. 2. Сравнение спектров морфологии почечных биоптатов

в обеих группах практически одинаковы, но во 2-й группе числовое значение каждого параметра несколько выше, чем в 1-й. Сравнительный анализ с использованием критерия Стьюдента показал, что числовая разница между группами статистически незначима ($t = 0,671$; $p > 0,05$).

Для получения ответа на вопрос: влияет ли возраст родственного донора на вероятность отложений C4d в аллотрансплантате? – вычислили средний возраст доноров в обеих группах. В 1-й группе возраст доноров составлял $40,92 \pm 9,62$ года, во 2-й – $45,68 \pm 10,75$. Однако, как показала математическая обработка с использованием критерия Стьюдента, эта разница статистически незначима ($t = 0,33$; $p > 0,05$). Следовательно, возраст родственного донора не влияет на вероятность отложения C4d.

Исследование результатов выявило, что в 1-й группе умерли 6 больных из 85 (7,06%), а во 2-й – 8 пациентов из 34 (23,53%). Математическая обработка с использованием критерия Фишера показала, что эта разница статистически значима ($\chi^2 = 4,86$; $t = 0,0275$). Следовательно, отложения C4d в аллотрансплантате почки отрицательно сказываются на летальности реципиентов. Что касается потери трансплантатов, то в 1-й группе были потеряны 7 трансплантатов из 85, а во 2-й – один трансплантат из 34. Математическая обработка с использованием критерия Фишера показала, что эта разница статистически незначима ($\chi^2 = 0,41$; $p = 0,5243$). Получается, что C4d не оказывает влияния на частоту потери трансплантатов.

Аналогичные результаты дал математический анализ с вычислением кумулятивной выживаемости по Каплану-Мейеру и кумулятивного риска по Уилкоксу. Результаты анализа отражены на рис. 3 и 4.

На представленном графике на рис. 3 четко видно, что кумулятивная выживаемость реципи-

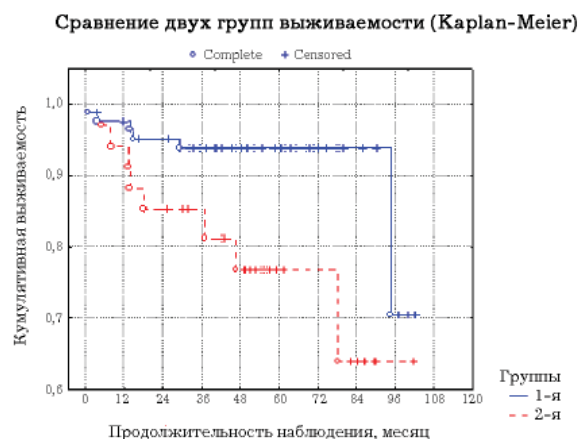


Рис. 3. Сравнение выживаемости двух групп больных по Каплану-Мейеру

ентов в 1-й группе (C4d-) значительно выше, чем во 2-й (C4d+). Статистический анализ с использованием Логрангового критерия показал, что эта разница статически значима ($t = 2,46840$; $p = 0,01357$). Аналогичная картина наблюдалась и при вычислении кумулятивного риска (рис. 4) с применением критерия Кокса.

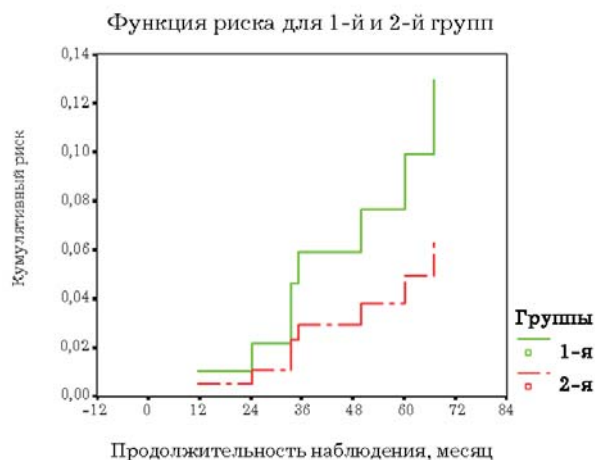


Рис. 4. Кумулятивный риск потери трансплантата для 1-й и 2-й групп

Математический анализ показал, что разница между группами статистически значима ($p = 0,020$). Следовательно, C4d отрицательно сказывается на выживаемости реципиентов и практически не влияет на частоту потери трансплантатов.

Обсуждение

Иммунологически обусловленная антидонорская воспалительная реакция в почечном аллотрансплантате в некоторых случаях приводит к развитию острого отторжения. При исследовании биоптатов, полученных на фоне возникновения антительного острого отторжения, выявляют следующую морфологическую картину: наличие нейтрофильного капиллярита, гломерулита, фибриноидный некроз артериол или клубочков. В нашем исследовании мы хотели выяснить, влияет ли наличие отложений C4d на характер морфологических изменений биоптатов аллопочек, а также на результаты операций по пересадке почки. Проведенное нами исследование показало, что отложения C4d в ПТК отрицательно сказываются на морфологической картине биоптатов аллопочек. Хотя количественное различие в частоте морфологии аллопочек между 1-й и 2-й группами статистически незначимо, тем не менее, факт налицо: биоптатов с заключением «норма»

и «ПИ» в 1-й группе значительно больше, чем во 2-й. Что касается биоптатов с заключением «О01-2» и «ХТН», то они чаще встречаются во 2-й группе.

Складывается впечатление, что C4d следует определять во всех биоптатах даже на фоне удовлетворительной функции пересаженной почки. Такая тактика поможет выявить пациентов с повышенным риском развития отторжения и своевременно принять соответствующие меры, направленные на предупреждение данного осложнения, – например, несколько интенсифицировать протокол иммунодепрессии.

Заключение

Проведенное нами исследование выявило, что отложения C4d в почечном аллотрансплантате отрицательно сказываются на выживаемости реципиентов и практически не влияют на процент потерь аллогенных почек.

Литература

1. Calvin, R.B. Renal transplant pathology / R.B. Calvin // *Heptinstalls pathology of the kidney* / J.C. Jenette [et al.]. – 5th ed. – Philadelphia, Lippincott-Raven, 1988. – P. 1409–1540.
2. Анализ выживания почечного аллотрансплантата по данным регистра Российского диализного общества и возможные пути улучшения отдаленных результатов / М.М. Каабак, В.А. Сандриков, А.А. Рагимов [и др.] // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2006. – № 4. – С. 31–36.
3. Горяйнов, В.А. Плазмаферез для лечения реперфузионной травмы при пересадке почки. Влияние на ближайший и отдаленный результаты / В.А. Горяйнов, М.М. Каабак, Е.А. Молчанова // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2002. – № 5. – С. 43–45.
4. Десятилетний опыт применения раннего плазмафереза после пересадки почки / М.М. Каабак, В.А. Горяйнов, А.К. Зокоев [и др.] // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 28–33.
5. Аллотрансплантация родственных почек у детей / В.А. Горяйнов, М.М. Каабак, Н.Н. Бабенко [и др.] // *Хирургия*. – 2008. – № 6. – С. 58–62.
6. Alemtuzumab induction in pediatric kidney transplantation / М.М. Каабак, N.N. Babenko, D.V. Samsonov [et al.] // *Pediatric Transplantation*. – 2013. – Vol. 17, N. 2. – P. 168–178.
7. Acute renal allograft rejection: diagnostic significance of focal peritubular capillary C4d / L.K. Kayler, L. Kis, V. Sharma [et al.] // *Transplantation*. – 2008. – Vol. 85, N. 6. – P. 813–820.
8. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology / L.C. Racusen, K. Solek, R. Colwin [et al.] // *Kidney Int*. – 1999. – Vol. 55, N. 2. – P. 713–723.
9. Pathologic features of renal allograft rejection associated with donor-specific antibody. Analysis using the Banff grading schema / K. Trpkov, P. Campbell, F. Pazderka [et al.] // *Transplantation*. – 1996. – Vol. 61, N. 11. – P. 1586–1592.
10. Baldwin, W.M. Clinical syndromes associated with antibody in allo-graft / W.M. Baldwin, P.F. Halloran // *Kidney transplant rejection* / L. Racusen [et al.]. – eds. 3rd ed. – New York, Marcel Dekker, 1998. – P. 127–147.
11. The significance of the anti-class 1 antibody response / P.F. Halloran, A. Wadgymar, S. Ritchie [et al.] // *Transplantation*. – 1990. – Vol. 49, № 1. – P. 85–91.

References

1. Calvin R.B. Renal transplant pathology. In: Jenette J.C., et al. *Heptinstalls pathology of the kidney*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1988. 1409–1540.
2. Kaabak M.M., Sandrikov V.A., Ragimov A.A., et al. Analiz vyzhivaniya pochechnogo allotransplantata po dan-nym registra Rossiyskogo dializnogo obshchestva i vozmozhnye puti uluchsheniya otdalennykh rezul'tatov [Survival analysis of renal allograft according to the register of the Russian society of dialysis and possible ways to improve the long-term results]. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2006; 4: 31–36. (In Russian).
3. Goryaynov V.A., Kaabak M.M., Molchanova E.A. Plazmaferез dlya lecheniya reperfuzionnoy travmy pri peresadke pochki. Vliyanie na blizhayshie i otdalennyy rezul'tat [Plasmapheresis in the treatment of reperfusion injury in kidney transplantation. The influence on the immediate and long-term outcome]. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2002; 5: 43–45. (In Russian).
4. Kaabak M.M., Goryaynov V.A., Zokoev A.K., et al. Desyatiletniy opyt primeneniya rannego plazmaferезa posle peresadki pochki [Ten-year experience with plasmapheresis early after kidney transplantation]. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2009; 11 (1): 28–33. (In Russian).
5. Goryaynov V.A., Kaabak M.M., Babenko N.N., et al. Allotransplantatsiya rodstvennykh pochek u detey [Related kidney allografts in children]. *Khirurgiya*. 2008; 6: 58–62. (In Russian).
6. Kaabak M.M., Babenko N.N., Samsonov D.V., et al. Alemtuzumab induction in pediatric kidney transplantation. *Pediatric Transplantation*. 2013; 17 (2): 168–178.
7. Kayler L.K., Kis L., Sharma V., et al. Acute renal allograft rejection: diagnostic significance of focal peritubular capillary C4d. *Transplantation*. 2008; 85 (6): 813–820.
8. Racusen L.C., Solek K., Colwin R., et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int*. 1999; 55 (2): 713–723.
9. Trpkov K., Campbell P., Pazderka F., et al. Pathologic features of renal allograft rejection associated with donor-specific antibody. Analysis using the Banff grading schema. *Transplantation*. 1996; 61 (11): 1586–1592.
10. Baldwin W.M., Halloran P.F. Clinical syndromes associated with antibody in allograft. In: Racusen L., et al., eds. *Kidney transplant rejection*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1998. 127–147.
11. Halloran P.F., Wadgymar A., Ritchie S., et al. The significance of the anti-class 1 antibody response. *Transplantation*. 1990; 49 (1): 85–91.

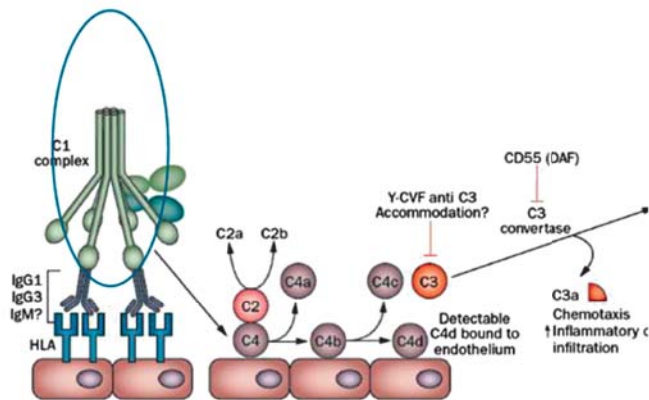
МОНИТОРИНГ ОБРАЗОВАННЫХ *DE NOVO* HLA-АНТИТЕЛ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КАК РАННИЙ МАРКЕР ОТТОРЖЕНИЯ



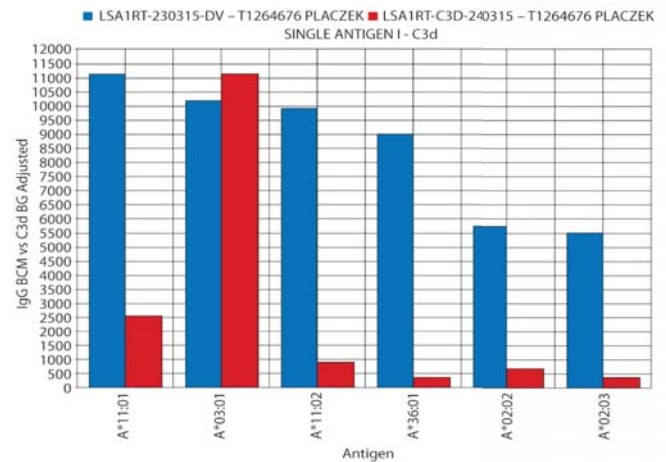
Биопсия, как правило, показывает отсроченную картину отторжения, когда уже наступила клеточная гибель и можно видеть отложения комплемента в тканях. Лабораторный тест, подтверждающий наличие антидонорских HLA-антител дает возможность предсказать развитие этой реакции на самом раннем этапе, когда иммунная система только готовится к атаке, а повреждающее воздействие антител еще не реализовалось в комплемент-зависимую цитотоксичность. Это дает возможность заранее предпринять меры, направленные на удаление повреждающих антител из циркуляции.

В процессе активации каскада комплемента образуется свободный C3d-компонент, который можно обнаружить с помощью меченых моноклональных анти-C3d антител.

Обнаружить пул комплемент-фиксирующих HLA-антител среди всех HLA-антител данной специфичности позволяет специальный лабораторный тест, выполняемый на платформе Люминекс к C3d-компоненту комплемента. Появление этого теста в последние годы сделало возможным прогнозировать и предотвращать развитие гуморального отторжения на качественно новом уровне.



Механизм действия донор-специфических антител через активацию системы комплемента.



Пример результата анализа HLA-антител, когда у реципиента были обнаружены общие анти-HLA антитела класса IgG (синие столбики) и комплемент-фиксирующие анти-HLA антитела (красные столбики).



Информация для заказа

Каталожный номер	НАИМЕНОВАНИЕ НАБОРА	Количество тестов
265100	Набор для идентификации HLA-антител 1 класса с рекомбинантными антигенами Lifecodes Single Antigen (LSA I)	24 теста
265200	Набор для идентификации HLA-антител 2 класса с рекомбинантными антигенами Lifecodes Single Antigen (LSA II)	24 теста
265400R	Набор для определения компонента комплемента C3d Lifecodes C3d Detection	24 теста



ЗАО БиоХимМак

119192, г. Москва, Ломоносовский проспект д. 29, корп. 1

телефон (495) 647-27-40 факс (495) 647-2763

e-mail: hla@biochemmack.ru www.biochemmack.ru