

Факторы риска и прогностическое значение микровазкулярного воспаления аллографта почки

В.А. Добронравов¹, М.С. Храброва¹, А.В. Набоков², А.В. Смирнов¹, Ф. Клим²

¹ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский ГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ,
Санкт-Петербург, Россия;

² Нефрологический центр Нижней Саксонии, Ганн. Мюнден, Германия

Контактная информация: Владимир Александрович Добронравов, д.м.н., профессор, заместитель директора
НИИ нефрологии по научной работе ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия,
e-mail: dobronravov@nephrolog.ru

Дата поступления статьи: 25.10.2016

Актуальность: прогностическое значение микровазкулярного воспаления (МВВ) в отсутствие донор-специфических антител (ДСА) при аллотрансплантации почки (АТП) не определено, а предикторы развития такого варианта иммунного конфликта неизвестны.

Целью исследования было определение прогностического значения МВВ и поиск ассоциированных с МВВ клинических факторов.

Материал и методы. В исследование вошли 284 реципиента аллографта почки (АП) в соответствии с критериями включения: совместимость реципиента и донора по группе крови, отрицательный цитотоксический кросс-матч тест, наличие одной или более биопсий АП. У 150 больных регистрировали МВВ, а 134 пациента без МВВ составили группу сравнения. Регистрировали следующие клинические показатели: пол и возраст реципиента, возраст и тип донора (трупная АТП/от живого донора), длительность тепловой/холодовой ишемии, продолжительность заместительной почечной терапии, последнее значение уровня креатинина в крови донора, наличие отсроченной функции (ОФ) АП, иммунологический риск (ИР) (предшествующие антитела, число HLA-антигенов, количество предшествующих АТП), значения креатинина и протеинурии на момент биопсии. Анализ выживаемости АП оценивали методом Каплана–Мейера. Исходом считали достижение комбинированной конечной точки: возврат на диализ или показатель расчетной скорости клубочковой фильтрации – 15 мл/мин/1,73 м² или менее. Для выявления независимых клинических факторов, ассоциированных с риском потери АП и развитием разных иммуноморфологических фенотипов МВВ, применяли мультивариантный регрессионный анализ Кокса.

Результаты. По фенотипам МВВ пациентов распределили на следующие группы: случаи МВВ+ДСА+ (n = 31), соответствовавшие критериям антительно-опосредованного отторжения (Banff, 2013); случаи с МВВ+ДСА- (n = 62) и случаи с неопределенными ДСА (Litinex) (МВВ+ДСА?; n = 57). В подгруппе с МВВ+ДСА- 34 случая протекали с сопутствующим Т-клеточным отторжением (TCMR), а остальные 28 – в виде изолированного МВВ. Выживаемость АП при любом варианте МВВ была ниже, чем в группе сравнения. Медианы периода наблюдения от АТП и от биопсии составили 52 (23; 85) и 39 (13; 77) месяцев соответственно. МВВ было независимо связано с риском потери АП ($\text{Exp}(\beta) = 4,2$ (ДИ 95% 2,3–7,7) наряду с ОФ АП ($\text{Exp}(\beta) = 1,9$ (ДИ 95% 1,1–3,4) и возрастом донора ($\text{Exp}(\beta) = 1,03$ (ДИ 95% 1,01–1,05) в регрессионной модели Кокса, скорректированной по другим клиническим факторам. С развитием МВВ+ДСА+ и МВВ+ДСА- были ассоциированы повышенный ИР и ОФ АП. Последняя являлась единственным предиктором развития TCMR и МВВ+ДСА?. Среди исследованных факторов ни один не был статистически значимо связан с развитием изолированного МВВ.

Выводы. МВВ, ассоциированное с повышенным предтрансплантационным ИР и ОФ АП, является отчетливым негативным предиктором прогноза АТП. Дальнейшие исследования механизмов развития, подходов к первичной/вторичной профилактике МВВ могут быть существенным шагом к повышению эффективности АТП.

Ключевые слова: микровазкулярное воспаление, гломерулит, перитубулярный капиллярит, иммунологический риск, антительно-опосредованное отторжение, выживаемость аллографта почки.

Risk factors and prognostic significance of microvascular inflammation in the kidney allograft

V.A. Dobronravov¹, M.S. Khrabrova¹, A.V. Nabokov², A.V. Smirnov¹, V. Kliem²

¹Academician I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University,
Saint Petersburg, Russia;

²Department of Nephrology, Nephrology Center of Lower Saxony, Hann. Muenden, Germany

Correspondence to: Vladimir A. Dobronravov, Dr.Med.Sci, Professor, Vice Director of the Research Institute of Nephrology of the Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia,
e-mail: dobronravov@nephrolog.ru

Received: 25 October 2016

Introduction: the prognostic significance of microvascular inflammation (MVI) in the absence of donor-specific antibodies (DSA) in kidney allotransplantation (KTx) is not well defined, and the predictors of such immune conflict type remain unclear.

The study was aimed to define the long-term prognosis of MVI and to identify clinical factors associated with MVI.

Material and methods. Two hundred eighty four kidney allograft (KA) recipients were enrolled into the study according to inclusion criteria (ABO-compatibility, negative cytotoxic crossmatch, and at least one KA biopsy in posttransplant period). One hundred fifty patients had MVI. The control group included 134 KTx recipients without MVI. The following clinical parameters were registered: the recipient's gender and age, donor age, cadaveric/alive donor, cold/warm ischemia time, renal replacement therapy duration, last donor creatinine level, a delayed graft function (DGF), an immunological risk (IR) (number of HLAm, panel-reactive antibodies, previous KTx), the level of creatinine and proteinuria at the time of biopsy. The long-term KA survival was estimated by Kaplan–Meier analysis. The combined end-point was determined as the return to dialysis or the estimated glomerular filtration rate 15 mL/min/1.73m² or less. Multivariate Cox regression analysis was used for the evaluation of independent risk factors associated with the presence of MVI and risk of KA loss.

Results. According to MVI phenotypes, the patients were distributed into the following groups: MVI+DSA+ cases (n=31) that met criteria for antibody-mediated rejection (Banff 2013); MVI+DSA- (n=62); and MVI+DSA? cases (n=57) with undetermined DSA. In MVI+DSA- group, 28 recipients had an isolated MVI, while MVI was accompanied with T-cell mediated rejection (TCMR) in 34 cases. The median follow-up was 52 (23; 85) months from KTx and 39 (13; 77) months from the biopsy. KA survival in all MVI groups was significantly lower compared with controls. In the adjusted multivariable Cox regression model, MVI was associated with the relative risk of KA loss ($\text{Exp}(\beta)=4.2$ (CI 95% 2.3–7.7), along with DGF ($\text{Exp}(\beta)=1.9$ (CI 95% 1.1–3.4), and donor age ($\text{Exp}(\beta)=1.03$ (CI 95% 1.01–1.05). A higher estimated IR and the DGF were independent predictors for MVI+DSA+ and MVI+DSA-. DGF was the only predictor for TCMR and MVI+DSA?. No clinical factors associated with the isolated MVI were identified.

Conclusion. MVI is associated with a higher IR and a DGF and strongly predicts an unfavourable KTx outcome. Further investigations of MVI mechanisms and treatment approaches could be important steps toward an improvement of KTx efficacy.

Keywords: microvascular rejection, glomerulitis, peritubular capillaritis, immunological risk, antibody-mediated rejection, kidney allograft survival.

Введение

Эффективность АТП ограничена развитием той или иной выраженности реакций иммунного конфликта, обусловленного полиморфизмом генов системы HLA [1, 2]. Выделяют два основных типа отторжения: Т-клеточное (T-cell mediated rejection – TCMR) и антительно-опосредованное отторжение (antibody-mediated rejection – AMR), опосредованное активацией В-лимфоцитов.

Известно, что возникновение последнего приводит к существенному снижению выживаемости трансплантатов [3, 4]. Диагностическим критерием AMR является наличие MBV в виде моноцитарно-макрофагальной реакции в перитубулярных капиллярах (перитубулярный капиллярит – ПТК) и (или) клубочках (гломерулит – Г) в сочетании с ДСА [5]. Вместе с тем признаки MBV нередко наблюдаются в АП в отсутствие ДСА и могут рассматриваться как

особый вариант иммунного конфликта при АТП. Прогностическое значение МВВ, протекающего без ДСА (МВВ+ДСА-), остается предметом дискуссий [6–11], а предикторы развития этого варианта иммунного конфликта не изучены. Целью представляемого исследования были определение прогностического значения МВВ и поиск ассоциированных с ним факторов.

Материал и методы

Обследуемая группа, критерии включения/исключения

В ретроспективное обсервационное исследование, выполненное на базе двух трансплантационных центров, вошли 150 случаев с морфологическими признаками МВВ (Г и/или ПТК), отобранных из 1270 реципиентов АП, получивших трансплантат в 2000–2013 гг. Среди всех реципиентов АП (n = 1270) методом «случай-контроль» с учетом возраста донора и реципиента, пола, типа (родственная/трупная) и года АТП были отобраны 134 случая, составившие группу сравнения. Последняя включала реципиентов АП, у которых регистрировали TCMR (n = 44), и случаи без какого-либо варианта иммунного конфликта (no rejection – NR; n = 90). Все реципиенты АП, вошедшие в исследование (n = 284), соответствовали критериям включения: совместимость реципиента и донора по группе крови, отрицательный цитотоксический кросс-матч тест, наличие одной или более биопсий АП с 7 клубочками или более согласно критериям адекватности Banff [12]. В исследование не включали реципиентов с морфологическими признаками возврата первичной почечной патологии в АП, полиомавирусной инфекции (подтвержденной иммуногистохимически), рецидивирующей инфекции АП и при потере трансплантата в раннем послеоперационном периоде в связи с хирургическими осложнениями.

У всех пациентов были изучены пред- и перитрансплантационные клинико-демографические показатели, представленные в табл. 1.

Кроме того, регистрировали следующие клинические показатели: наличие ОФ АП, ИР (предсуществующие антитела – ПРА, число HLAmm, количество предшествующих АТП), значения креатинина в крови и протеинурии на момент биопсии. Под ОФ АП понимали необходимость выполнения хотя бы одного сеанса гемодиализа после АТП.

Таблица 1. Демографические и клинические характеристики групп на момент аллотрансплантации

	Все пациенты (n = 284)	МВВ (n = 150)	Группа сравнения (n = 134)	P
Мужской пол, %	58,8	56	62	0,18
АП от живого донора, %	16,5	18,7	14,2	0,2
Возраст пациента, годы, M ± SD	48 ± 13	47 ± 13	49 ± 13	0,14
Продолжительность ЗПТ, месяцы, m (25–75%)	73 (34; 102)	77 (32; 115)	69 (36; 91)	0,27
Длительность холодовой ишемии, мин, M ± SD	713 ± 362	727 ± 391	699 ± 328	0,69
Длительность тепловой ишемии, мин, M ± SD	40 ± 16	41 ± 18	40 ± 15	0,49
Последнее значение креатинина в крови донора, ммоль/л, M ± SD	0,09 ± 0,05	0,09 ± 0,05	0,09 ± 0,06	0,9
Возраст донора, годы, M ± SD	52 ± 15	50 ± 15	53 ± 16	0,08

Примечание: ЗПТ – заместительная почечная терапия; M ± SD – среднее и стандартное отклонения; m (25–75%) – медиана и интерквартильный размах (25; 75 процентиль).

Морфологический анализ

ОФ АП, повышение уровня сывороточного креатинина до 25% и более от исходного, появление протеинурии в анализе суточной мочи или ее нарастание на 50% и более являлись стандартными показаниями для проведения индикационной биопсии АП. Протокольные морфологические исследования согласно программе посттрансплантационного наблюдения, принятой в центрах, были выполнены у 26% больных.

Методы морфологического и иммунологического анализов подробно описаны ранее [13]. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) на C4d выполняли на парафиновых срезах после депарафинизации и обезвоживания по стандартной методике. Реакцию на C4d считали положительной при диффузном линейном отложении в перитубулярных капиллярах [14]. Для исключения рецидива первичной гломерулярной патологии и полиомавирусной инфекции АП рутинно

выполняли ИГХ на IgA, IgG, IgM, C1q, C3 и SV40. Все изменения трансплантата, включая проявления МВВ (Г и ПТК), были оценены морфологами по классификации Banff, 1993–2013 [5, 13, 14].

HLA-типирование и определение антител

Генотипирование образцов крови донора и реципиента по системе HLA, локусы A, B, C, DR, DQ, DP и MICA-антигенам проводили методиками Sequence Specific Primers и Sequence-based Typing, а наличие ДСА определяли следующими методами: иммуноферментным анализом (ИФА), с помощью мультиплексного проточного анализатора Luminex и методом Single-antigen bead (детально описано ранее [15]). Позитивными считались ДСА при средней интенсивности флуоресценции, равной или превышающей 1000. В группах сравнения ДСА были негативными во всех случаях.

Стратификация больных по иммунологическому риску

По предтрансплантационному ИР больных стратифицировали согласно подходу, разработанному ранее [13] на основе трех факторов ИР: ПРА более 0%, HLAmm, равное или превышающее 2, и наличие предшествующей АТП. В группу с низким ИР (НР) относили реципиентов АП с 1 фактором или менее (НР; n = 195), а в группу с повышенным ИР (ПР) – с 2 факторами ИР и более (ПР; n = 89).

Период наблюдения и исходы

Медиана периода наблюдения от биопсии составила 39 (13; 77) месяцев, а от АТП – 52 (23; 85) месяца. Регистрировали достижение комбинированной конечной точки, объединявшей два варианта исхода АТП: полную потерю АП с возвратом на диализ или показатель расчетной скорости клубочковой фильтрации по формуле MDRD [16] менее 15 мл/мин/1,73 м². Учитывали случаи и даты смерти больных с функционирующим АП.

Иммуносупрессивная терапия

Все пациенты в качестве индукционной терапии внутривенно получили глюкокортикостероиды (ГКС) с переходом на пероральный прием в дозе 1 мг/кг и постепенным снижением

до поддерживающей дозы. При ПР к индукции добавляли базиликсимаб или антитимоцитарный иммуноглобулин (АТГ). С целью профилактики AMR у высоко сенсibilизированных пациентов выполняли плазмообмен (ПО) и (или) инфузии внутривенного иммуноглобулина (ВВИГ), а также вводили анти-CD20-антитела (ритуксимаб) в дозе 375 мг/м². Базисная иммуносупрессия включала, помимо ГКС, ингибиторы кальциневрина (циклоспорин А или такролимус) и микофенолата мофетил. В терапию AMR входили сеансы ПО, введение ВВИГ, а при персистенции – ритуксимаба и (или) бортезомиба. При лечении МВВ, протекающего без ДСА, применяли пульсовое введение ГКС с переходом на пероральный прием в дозе 0,5–1 мг/кг/сут со снижением до поддерживающей дозы в течение месяца, при приеме циклоспорина А на момент диагностики МВВ выполняли его конверсию на такролимус, а при персистенции морфологических изменений вводили АТГ и (или) ритуксимаб.

Статистический анализ

Статистический анализ полученных данных был выполнен с использованием лицензионного статистического пакета прикладных статистических программ SPSS for Windows 14.0 (Chicago, IL, USA). Для сравнения групп применяли следующие тесты: t-критерий Стьюдента для парных и непарных сравнений, тест Манна–Уитни, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), точный критерий Фишера и критерий χ^2 . Анализ выживаемости АП оценивали с помощью метода Каплана–Мейера. Селекцию изучаемых клинико-демографических показателей как потенциальных предикторов прогноза проводили унивариантным анализом Кокса. В мультивариантный регрессионный анализ включали только те из изучаемых клинических параметров, которые имели связь с риском потери АП в унивариантном анализе Кокса при значении $p < 0,1$. При анализе выживаемости дату смертельного исхода, наступившего при наличии функционирующего АП, учитывали как конец наблюдения, а такой случай как цензурированный. Межгрупповые различия и регрессионные коэффициенты считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$), среднего и доверительного интервала – M (95% ДИ) и в виде медианы и интерквартильного интервала – m (25–75%).

Результаты

У 55% реципиентов АП имели место оба компонента MBV (Г+ПТК+; $n = 83$); в 29% случаев регистрировали только Г (Г+; $n = 44$), а в 15% – только ПТК (ПТК+; $n = 23$). В группе с MBV ОФ АП выявляли чаще, чем в группе сравнения (61,3% vs 44,8%; $p = 0,003$), выполняли биопсии по показаниям (82% vs 65%; $p = 0,001$) и регистрировали более высокие значения креатинина на момент биопсии (m (25–75%) 0,4 (0,18; 0,6) vs 0,26 (0,13; 0,3) ммоль/л; $p < 0,001$) и суточной протеинурии (m (25–75%) 0,36 (0,18; 0,75) vs 0,19 (0,11; 0,34) г/сут; $p < 0,001$). Медиана от АТП до диагностической биопсии в группе с MBV составила 30 (10; 224) суток и была закономерно меньше, чем в группе сравнения (74 (19; 249) суток; $p = 0,035$). Предтрансплантационные факторы ИР чаще регистрировали в группе с MBV (табл. 2).

Таблица 2. Предтрансплантационные иммунологические факторы риска в обследуемых группах

Предтрансплантационные иммунологические факторы риска	Все пациенты ($n = 284$)	MBV ($n = 150$)	Группа сравнения ($n = 134$)	P
ПРА, М (95% ДИ)	18 (14; 22)	25 (19; 31)	10 (5; 15)	0,005
ПРА > 0%, %	31,7	40	22,4	0,001
Повторные АТП, %	19,7	26,7	11,9	0,001
HLAmm, m (25–75%)	3 (1,5; 3)	3 (2; 3)	2 (1; 3)	0,034

Примечание: HLAmm – количество несовпадений по системе генов HLA; М (95% ДИ) – среднее и доверительный интервал.

В зависимости от наличия ДСА (Luminex) группа MBV была представлена: 1) MBV+ДСА+ ($n = 31$), что соответствует критериям AMR по Banff, 2013 [5]; 2) MBV+ДСА- ($n = 62$); 3) к случаям с неопределенными ДСА – MBV+ДСА? ($n = 57$) относили пациентов, у которых при отрицательных результатах ДСА, полученных методом ИФА, мультиплексный анализ (Luminex) выполнен не был. В группе MBV+ДСА- 34 случая протекали с сопутствующим TCMR, а остальные 28 – в виде изолированного MBV. Больные этих подгрупп (MBV+ДСА-) не различались по основным клинико-демографическим характеристикам и предтрансплантационным факторам ИР (данные не представлены). Депозиция C4d в перитубулярных капиллярах была выявлена в 38% случаев MBV+ДСА+, в 12% – MBV+ДСА- и в 14% – MBV+ДСА?.

Выживаемость аллогraftов почки при разных фенотипах микроваскулярного воспаления

Наиболее низкую выживаемость АП выявили в группе гуморального отторжения (MBV+ДСА+). Выживаемость АП при MBV+ДСА- была выше таковой при MBV+ДСА+ ($p_{\log\text{-rank}} = 0,04$), но статистически значимо ниже, чем в группе сравнения (MBV-) ($p_{\log\text{-rank}} < 0,001$). Выживаемость АП не различалась в группах MBV+ДСА- и MBV+ДСА? ($p_{\log\text{-rank}} = 0,43$) (рис. 1). При MBV+ДСА- выживаемость АП не различалась в подгруппах с изолированным MBV (MBV+ДСА-TCMR-) и MBV в сочетании с TCMR ($p_{\log\text{-rank}} = 0,54$) и в группах сравнения (MBV-TCMR- vs MBV-TCMR+; $p_{\log\text{-rank}} = 0,13$). Выживаемость АП в группе с TCMR без MBV была выше, чем при MBV+ДСА-TCMR+ ($p_{\log\text{-rank}} = 0,05$) (рис. 2).

При множественном регрессионном анализе при коррекции модели по ДСА, ПР, продолжительности ЗПТ, длительности холодовой ишемии MBV являлось независимым предиктором потери АП ($\text{Exp}(\beta) = 4,2$ (ДИ 95% 2,3–7,7) наряду с ОФ АП ($\text{Exp}(\beta) = 1,9$ (ДИ 95% 1,1–3,4) и возрастом донора ($\text{Exp}(\beta) = 1,03$ (ДИ 95% 1,01–1,05).

Частота развития микроваскулярного воспаления и предтрансплантационный иммунологический риск

Г и ПТК чаще выявляли у больных с ПР, чем с НР (60,7% vs 37,4%; $p = 0,005$) и (51,7% vs 30,8%; $p < 0,001$) соответственно. Полный фенотип гуморального отторжения также чаще регистрировали у пациентов с ПР (21,3% vs 2,7%; $p < 0,001$). Частота MBV+ДСА? в группах с ПР и НР статистически значимо не различалась (7,9% vs 13,8%; $p = 0,15$), как и частота изолированного MBV (11,2% vs 9,2%; $p = 0,6$). TCMR регистрировали при ПР и НР в примерно равных пропорциях (17,9% vs 25,1%; $p = 0,26$). Случаи сочетания Т-клеточного отторжения с MBV+ДСА- чаще выявляли при ПР, чем при НР (19,1% vs 8,7%; $p = 0,012$).

Факторы, ассоциированные с развитием микроваскулярного воспаления

При унивариантном регрессионном анализе оценивали связь с развитием различных фенотипов MBV предтрансплантационных факторов риска: возраста донора, пола и возраста реципиента, типа донора (от живого донора vs трупная

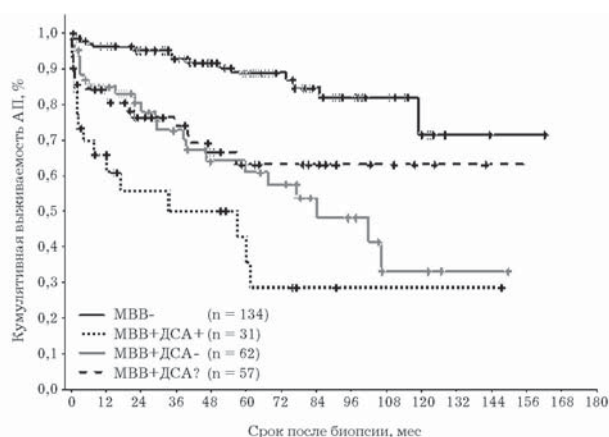


Рис. 1. Выживаемость аллогraftа почки при разных фенотипах MBV

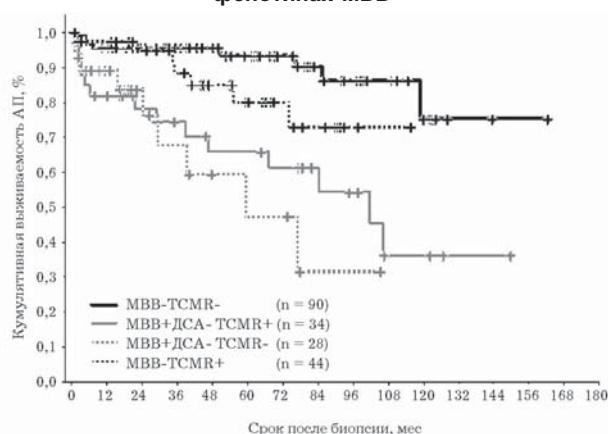


Рис. 2. Выживаемость аллогraftа почки в подгруппах MBV+ДСА- и TCMR

Примечание: MBV+ДСА+ – случаи микроваскулярного воспаления с позитивными донор-специфическими антителами; MBV+ДСА- – случаи микроваскулярного воспаления с негативными донор-специфическими антителами; MBV+ДСА? – случаи микроваскулярного воспаления с неопределенными донор-специфическими антителами; MBV+ДСА-TCMR+ – случаи микроваскулярного воспаления с негативными донор-специфическими антителами в сочетании с Т-клеточным отторжением; MBV+ДСА-TCMR- – случаи изолированного MBV; MBV-TCMR- – случаи без микроваскулярного воспаления и Т-клеточного отторжения; MBV-TCMR+ – случаи Т-клеточного отторжения без микроваскулярного воспаления.

АТП), последнего уровня креатинина в крови донора, длительности холодовой и тепловой ишемии, продолжительности ЗПТ, ОФ АП и ИР. ПР и ОФ АП являлись предикторами развития всех вариантов иммунного конфликта за исключением изолированного MBV (табл. 3). При мультивариантном регрессионном анализе независимыми предикторами, связанными с развитием MBV в целом, его компонентов (Г и ПТК) и фенотипов MBV+ДСА- и MBV+ДСА+, были ПР и ОФ АП (см. табл. 3). Фактором риска развития MBV в составе гуморального отторжения также являлся возраст реципиента. Предиктором TCMR была

только ОФ АП, как и для MBV+ДСА?. Ни один из изученных факторов не был ассоциирован с развитием изолированного варианта MBV (см. табл. 3).

Обсуждение

MBV традиционно рассматривается как проявление антительно-опосредованного механизма активации иммунной системы [8, 9, 17] и служит критерием AMR [5]. Среди обследуемой группы реципиентов АП с MBV только 21% полностью удовлетворял критериям гуморального отторжения, в то время как значительная доля случаев MBV (41%) протекала при отсутствии ДСА. В 38% наблюдений MBV оставались подозрительными в отношении AMR, которое не могло быть исключено без проведения мультиплексного анализа (Luminex) – самого чувствительного из известных методов детекции ДСА. Наиболее низкая выживаемость АП зарегистрирована в группе с MBV+ДСА+, что подтверждает представления о неблагоприятном прогностическом значении MBV при АТП в рамках AMR [7–10, 18–20]. Очевидно, что резкое увеличение риска потери АП при AMR обусловлено склонностью этого вида иммунного конфликта к персистированию, несмотря на проводимое лечение, что ведет к развитию гломерулопатии, как это продемонстрировано при серийных морфологических исследованиях [21, 22]. Оценки связи MBV без ДСА с выживаемостью АП оставались неоднозначными [6–11]. Представленные нами данные определенно указывают на неблагоприятный прогноз АТП при любом варианте MBV, в том числе при отсутствии ДСА. Ранее проведенные исследования указывают на то, что из двух компонентов MBV – Г и ПТК – первый может иметь более существенное прогностическое значение [8, 15]. Выживаемость АП в группе с MBV с неопределенными антителами, не отличавшаяся от группы с MBV+ДСА-, позволяет предполагать, что основная доля этих случаев не имела циркулирующих антител, а следовательно, гуморального отторжения. Негативное влияние MBV на прогноз АП, на наш взгляд, может объясняться механизмами развития и прогрессирования фибропластических изменений в различных компартментах органа, индуцируемыми не только взаимодействием макрофагов с резидентными клетками в стенке микрососудов, но также и очаговой ишемией и нарушением трафика макромолекул.

Таблица 3. Результаты регрессионного анализа связи предтрансплантационных факторов с развитием разных вариантов иммунного конфликта аллографта почки (приведены только статистически значимые значения $\text{Exp}(\beta)$ при $p < 0,05$)

Предикторы	Повышенный ИР (vs низкий ИР)	Возраст реципиента (1 год)	Отсроченная функция АП (vs немедленная функция)	Продолжительность ЗПТ (1 месяц)
Унивариантный регрессионный анализ				
Варианты иммунного конфликта				
MBV	1,9 (1,4–2,7)	—	2,2 (1,6–3,1)	1,003 (1,001–1,005)
MBV+ДСА+	4,8 (2,6–10,0)	0,97 (0,95–0,99)	2,6 (1,2–5,6)	1,006 (1,002–1,010)
MBV+ДСА-	2,6 (1,4–3,7)	—	2,1 (1,2–3,5)	1,003 (1,000–1,006)
MBV+ДСА?	—	—	2,2 (1,3–3,9)	—
Изолированное MBV	—	—	—	—
MBV+ДСА-TCMR+	2,6 (1,3–5,1)	—	3,4 (1,6–7,3)	—
TCMR без MBV	—	—	1,7 (1,1–4,2)	—
TCMR, все случаи	—	—	2,2 (1,4–3,6)	—
Г+	2,1 (1,4–2,9)	—	2,6 (1,8–3,7)	1,003 (1,001–1,005)
ПТК+	2,1 (1,4–3,1)	—	2,2 (1,5–3,3)	1,004 (1,001–1,006)
Мультивариантный регрессионный анализ				
MBV	1,9 (1,4–2,7)	—	2,2 (1,6–3,1)	—
MBV+ДСА+	5,4 (2,5–11,6)	0,96 (0,93–0,99)	2,7 (1,2–5,8)	—
MBV+ДСА-	2,2 (1,3–3,6)	—	2,1 (1,2–3,5)	—
MBV+ДСА?	—	—	—	—
Изолированное MBV	—	—	—	—
MBV+ДСА-TCMR+	2,5 (1,3–4,9)	—	3,4 (1,5–7,4)	—
TCMR без MBV	—	—	1,7 (1,1–4,2)	—
TCMR, все случаи	—	—	2,2 (1,4–3,6)	—
Г+	2,1 (1,4–2,9)	—	2,6 (1,8–3,7)	—
ПТК+	2,1 (1,4–3,1)	—	2,2 (1,5–3,3)	—

Примечание: «—» обозначает отсутствие статистически значимой связи.

В группу с MBV+ДСА- и в группу сравнения без MBV входили случаи с TCMR, роль которого в прогнозе остается предметом дискуссий [3, 8, 23]. Полученные данные позволяют считать, что сопутствующее TCMR не оказывает существенного влияния на выживаемость АП ни при отсутствии, ни при наличии воспаления микрососудов. Отсутствие существенной связи TCMR с выживаемостью АП объясняется рутинным подходом к ранней морфологической диагностике и морфологическому контролю эффективности лечения, принятым в обоих трансплантационных центрах. Кроме того, случаи TCMR в основном были представлены более благоприятными для терапии пограничными формами или типами I A и B [24, 25].

Механизмы ДСА-опосредованного MBV заключаются в индукции молекул адгезии MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1), MIP-1 β (macrophage inflammatory protein 1 β) и других в эндотелии с последующим привлечением моноцитов и макрофагов [26–28]. Такие механизмы могут быть комплемент-зависимыми или комплемент-независимыми, что косвенно подтверждается выявлением депозитов C4d лишь в трети анализируемых случаев MBV, включая явное гуморальное отторжение. Этиопатогенез MBV без ДСА, опосредованного развитием моноцитарно-макрофагальной реакции в капиллярах АП, изучен недостаточно. Для части таких случаев нельзя исключить гуморальный механизм даже без явного присутствия анти-HLA/

анти-MICA-антител в циркуляции, поскольку известно, что ДСА могут образовываться и к другим антигенам донора [29, 30]. В этом исследовании, как и в рутинной практике, мы не проводили скрининг не анти-HLA/анти-MICA-антител, а следовательно, не можем полностью исключить иные антительные механизмы в развитии MBV+ДСА- у некоторых реципиентов. Также представляется вероятной возможность формирования антител в небольшом количестве, когда после взаимодействия с антигенами-мишенями на эндотелии АП они перестают регистрироваться в сыворотке крови [31, 32]. Не исключено, что к таким случаям может относиться небольшая часть реципиентов АП с MBV и признаками локальной активации комплемента (депозицией C4d в перитубулярных капиллярах). С другой стороны, MBV может быть независимым от активации В-клеточного звена иммунной системы и образования ДСА, поскольку известно, что воспалительная реакция в капиллярах АП может индуцироваться представлением антигенов Т-лимфоцитам непосредственно эндотелием [27, 33]. Кроме того, к формированию моноцитарно-макрофагального воспаления микрососудов АП, опосредованного экспрессией MCP-1 и MIP-1 β , в посттрансплантационном периоде могут приводить и другие разнообразные неиммунные стимулы, приводящие к повреждению эндотелия [25, 26].

Независимыми факторами, ассоциированными с риском развития большинства изученных иммуноморфологических вариантов MBV, были ПР и ОФ АП. С практической точки зрения, эти факторы могут быть использованы для оценки

риска развития при настороженности в отношении MBV наряду с планированием диагностических мероприятий – морфологических исследований и мониторинга ДСА. С другой стороны, выявленные предикторы в общем отражают вероятные механизмы формирования моноцитарно-макрофагальной реакции. Связь развития MBV в посттрансплантационном периоде с ПР отражает более выраженную склонность к активации В-клеточных механизмов у таких реципиентов и может быть поводом для обсуждения соответствующих лечебно-профилактических мероприятий. Ассоциация ОФ АП с развитием MBV предполагает участие других механизмов в формировании моноцитарной реакции в капиллярах трансплантата, индуцированных ишемическим/реперфузионным повреждением [34–36], как это показано в отношении формирования ТСМР [1]. Вместе с тем ни один из анализируемых факторов не был связан с развитием изолированного MBV, что требует продолжения их дальнейшего поиска наряду с изучением причин и механизмов возникновения этого неблагоприятного типа иммунной реакции АП.

Заключение

MBV, ассоциированное с повышенным предтрансплантационным иммунологическим риском и отсроченной функцией АП, является отчетливым негативным предиктором прогноза. Дальнейшие исследования механизмов развития, подходов к первичной/вторичной профилактике MBV могут явиться существенным шагом к повышению эффективности АТП.

Литература

1. Davis, C.L. Transplant: immunology and treatment of rejection / C.L. Davis, D.E. Hricik // *Am. J. Kidney Dis.* – 2004. – Vol. 43, N. 6. – P. 1116–1137.
2. Wood, K. J. Mechanisms of rejection: current perspectives / K.J. Wood, R. Goto // *Transplantation.* – 2012. – Vol. 93, N. 1. – P. 1–10.
3. Antibody mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study / C. Lefaucheur, A. Loupy, D. Vernerey [et al.] // *Lancet.* – 2013. – Vol. 381, N. 9863. – P. 313–319.
4. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence / J. Sellarés, D.G. de Freitas, M. Mengel [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2012. – Vol. 12, N. 2. – P. 388–399.
5. Banff 2013 Meeting Report: Inclusion of C4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions / M. Haas, B. Sis, L.C. Racusen [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2014. – Vol. 14, N. 2. – P. 272–283.
6. Three-year outcome of isolated glomerulitis on 3-month protocol biopsies of donor HLA antibody negative patients / D. Buob, P. Grimbert, F. Glowacki [et al.] // *Transpl. Int.* – 2012. – Vol. 25, N. 6. – P. 663–670.
7. Significance and implications of capillaritis during acute rejection of kidney allografts / F.G. Cosio, D.J. Lager, E.C. Lorenz [et al.] // *Transplantation.* – 2010. – Vol. 89, N. 9. – P. 1088–1094.
8. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure / G. Einecke, B. Sis, J. Reeve [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2009. – Vol. 9, N. 11. – P. 2520–2531.
9. Microcirculation inflammation associates with outcome in renal transplant patients with de novo donor-specific antibodies / H. de Kort, M. Willicombe, P. Brookes [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2013. – Vol. 13, N. 2. – P. 485–492.
10. The diffuse extent of peritubular capillaritis in renal allograft rejection is an independent risk factor for graft loss / N. Kozakowski, H. Herkner, G. Böhmig [et al.] // *Kidney Int.* – 2015. – Vol. 88, N. 2. – P. 332–340.
11. A critical appraisal of methods to grade transplant glomerulitis in renal allograft biopsies / I. Batal, J.G. Lunz, N. Aggarwal [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2010. – Vol. 10, N. 11. – P. 2442–2452.
12. Banff 97 working classification of renal allograft pathology / L.C. Racusen, K. Solez, R.B. Colvin [et al.] // *Kidney Int.* – 1999. – Vol. 55, N. 2. – P. 713–723.
13. Прогноз выживаемости почечного трансплантата: иммунологический риск и тип отторжения / М.С. Храброва, В.А. Добронравов, А.В. Набоков [и др.] // *Нефрология.* – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 41–50.
14. 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. – Vol. 8, N. 4. – P. 753–760.
15. Long-term kidney allograft survival in patients with transplant glomerulitis / A. Nabokow, V.A. Dobronravov, M.S. Khrabrova [et al.] // *Transplantation.* – 2015. – Vol. 99, N. 2. – P. 331–339.
16. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group / A.S. Levey, J.P. Bosch, J.B. Lewis [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 1999. – Vol. 130, N. 6. – P. 461–470.
17. Filippone, E.J. The specificity of acute and chronic microvascular alterations in renal allografts / E.J. Filippone, J.L. Farber // *Clin. Transplant.* – 2013. – Vol. 27, N. 6. – P. 790–798.
18. A new diagnostic algorithm for antibody-mediated microcirculation inflammation in kidney transplants / B. Sis, G.S. Jhangri, J. Riopel [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2012. – Vol. 12, N. 5. – P. 1168–1179.
19. Peritubular capillaritis in renal allografts: prevalence, scoring system, reproducibility and clinicopathological correlates / I.W. Gibson, W. Gwinner, V. Bröcker [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2008. – Vol. 8, N. 4. – P. 819–825.
20. Quantifying renal allograft loss following early antibody-mediated rejection / B.J. Orandi, E.H. Chow, A. Hsu [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2015. – Vol. 15, N. 2. – P. 489–498.
21. Добронравов, В.А. Частота выявления и прогноз антительно-опосредованного отторжения при аллотрансплантации почки / В.А. Добронравов, М.С. Храброва, А.О. Мухаметдинова и др. // *Нефрология.* – 2016. – Т. 20, № 6 – С. 83–91.
22. Морфологические особенности позднего отторжения трансплантированной почки и их прогностическое значение / Е.С. Столяревич, Л.Ю. Аптихина, И.Г. Ким [и др.] // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 30–38.
23. The histology of kidney transplant failure: a long-term follow-up study / M. Naesens, D.R. Kuypers, K. De Vusser [et al.] // *Transplantation.* – 2014. – Vol. 98, N. 4. – P. 427–435.
24. Acute cellular rejection: impact of donor-specific antibodies and C4d / M. Willicombe, C. Roufosse, P. Brookes [et al.] // *Transplantation.* – 2014. – Vol. 97, N. 4. – P. 433–439.
25. Designation of T-cell-mediated rejection type Ib and IIa reflects the type of rejection rather than the severity in the Banff classification / K. Wu, K. Budde, D. Schmidt [et al.] // *Exp. Clin. Transplant.* – 2014. – Vol. 12, N. 5. – P. 415–423.
26. Drachenberg, C.B. Endothelial injury in renal antibody-mediated allograft rejection: a schematic view based on pathogenesis / C.B. Drachenberg, J.C. Papadimitriou // *Transplantation.* – 2013. – Vol. 95, N. 9. – P. 1073–1083.
27. Vascular endothelium as a target of immune response in renal transplant rejection [Электронный ресурс] / G. Piotti, A. Palmisano, U. Maggiore [et al.] // *Front. Immunol.* – 2014. – Режим доступа: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00505/full>
28. CXC and CC chemokines in human renal epithelial cells by inflammatory cytokines / E. Thorburn, L. Kolesar, E. Brabcova [et al.] // *APMIS.* – 2009. Vol. 117, N. 7. – P. 477–487.
29. Non-HLA antibodies: angiotensin II type 1 receptor (anti-AT1R) and endothelin-1 type A receptor (anti-ETAR) are associated with renal allograft injury and graft loss / M. Banasik, M. Boratyńska, K. Kościelska-Kasprzak [et al.] // *Transplant. Proc.* – 2014. – Vol. 46, N. 8. – P. 2618–2621.
30. Anti-perlecan antibodies are novel accelerators of immune-mediated vascular injury / H. Cardinal, M. Dieude, N. Brassard [et al.] // *Am. J. Transplant.* – 2013. – Vol. 13, N. 4. – P. 861–874.
31. Serum analysis after transplant nephrectomy reveals restricted antibody specificity patterns against structurally defined HLA class I mismatches / O.A. Adeyi, A.L. Girnita, J. Howe [et al.] // *Transplant. Immunol.* – 2005. – Vol. 14, N. 1. – P. 53–62.
32. Donor-specific antibodies after ceas-

ing immunosuppressive therapy, with or without an allograft nephrectomy / A. Del Bello, N. Congy-Jovilet, F. Salustio [et al.] // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2012. – Vol.7, N. 8. – P. 1310–1319.

33. Magil, A.B. Infiltrating cell types in transplant glomerulitis: relationship to peritubular capillary C4d deposition / A.B. Magil // Am. J. Kidney Dis. –

2005. – Vol. 45, N. 6. – P. 1084–1089.

34. Prognostic factors for kidney allograft survival in the Eurotransplant Senior Program / R. Bahde, T. Vowinkel, J. Unser [et al.] // Ann. Transplant. – 2014. – Vol. 19. – P. 201–209.

35. Incidence, risk factors, and outcomes of delayed graft function in deceased donor kidney transplantation in a Bra-

zilian center / M.S. Helfer, A.R. Vicari, F. Spuldaro [et al.] // Transplant. Proc. – 2014. – Vol. 46, N. 6. – P. 1727–1729.

36. Delayed graft function and the risk of acute rejection in the modern era of kidney transplantation / W.K. Wu, O. Famure, Y. Li, S. Kim // Kidney Int. – 2015. – Vol.88, N.4. – P.851–858.

References

1. Davis C.L., Hricik D.E. Transplant: immunology and treatment of rejection. *Am J Kidney Dis.* 2004;43(6):1116–1137.

2. Wood K.J., Goto R. Mechanisms of rejection: current perspectives. *Transplantation.* 2012;93(1):1–10.

3. Lefaucheur C., Loupy A., Vernerey D., et al. Antibody mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet.* 2013;381(9863):313–319.

4. Sellarés 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. *Am J Transplant.* 2012;12(2):388–399.

5. Haas M., Sis B., Racusen L.C., et al. Banff 2013 Meeting Report: Inclusion of C4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant.* 2014;14(2):272–283.

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

7. Cosio F.G., Lager D.J., Lorenz E.C., et al. Significance and implications of capillaritis during acute rejection of kidney allografts. *Transplantation.* 2010;89(9):1088–1094.

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

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

10. Kozakowski N., Herkner H., Böhmig

G., et al. The diffuse extent of peritubular capillaritis in renal allograft rejection is an independent risk factor for graft loss. *Kidney Int.* 2015;88(2):332–340.

11. Batal I., Lunz J.G., Aggarwal N., et al. A critical appraisal of methods to grade transplant glomerulitis in renal allograft biopsies. *Am J Transplant.* 2010;10(11):2442–2452.

12. Racusen L.C., Solez K., Colvin R.B., et al. Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 1999;55(2):713–723.

13. Khrabrova M.S., Dobronravov V.A., Nabokow A.V., et al. Prediction of survival of renal transplant: immunological risk and type of rejection. *Nefrologiya.* 2015;19(4):41–50. (In Russian).

14. Solez K., Colvin R.B., Racusen L.C., et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant.* 2008;8(4):753–760.

15. Nabokow A., Dobronravov V.A., Khrabrova M.S., et al. Long-term kidney allograft survival in patients with transplant glomerulitis. *Transplantation.* 2015;99(2):P331–339.

16. Levey A.S., Bosch J.P., Lewis J.B., et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999;130(6):461–470.

17. Filippone E.J., Farber J.L. The specificity of acute and chronic microvascular alterations in renal allografts. *Clin Transplant.* 2013;27(6):790–798.

18. Sis B., Jhangri G.S., Riopel J., et al. A new diagnostic algorithm for antibody-mediated microcirculation inflammation in kidney transplants. *Am J Transplant.* 2012;12(5):1168–1179.

19. Gibson I.W., Gwinner W., Bröcker V., et al. Peritubular capillaritis in renal

allografts: prevalence, scoring system, reproducibility and clinicopathological correlates. *Am J Transplant.* 2008;8(4):819–825.

20. Orandi B.J., Chow E.H., Hsu A., et al. Quantifying renal allograft loss following early antibody-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2015;15(2):489–498.

21. Dobronravov V.A., Khrabrova M.S., Mukhametdinova A.O., et al. The frequency of detection and prognosis of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Nefrologiya.* 2016;20(6):83–91. (In Russian).

22. Stolyarevich E.S., Artyukhina L.Yu., Kim I.G., et al. Morphological features of late rejection of transplanted kidneys and their prognostic value. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2014;16(2):30–38. (In Russian).

23. Naesens M., Kuypers D.R., De Vusser K., et al. The histology of kidney transplant failure: a long-term follow-up study. *Transplantation.* 2014;98(4):427–435.

24. Willicombe M., Roufosse C., Brookes P., et al. Acute cellular rejection: impact of donor-specific antibodies and C4d. *Transplantation.* 2014;97(4):433–439.

25. Wu K., Budde K., Schmidt D., et al. Designation of T-cell-mediated rejection type Ib and IIa reflects the type of rejection rather than the severity in the Banff classification. *Exp Clin Transplant.* 2014;12(5):415–423.

26. Drachenberg C.B., Papadimitriou J.C. Endothelial injury in renal antibody-mediated allograft rejection: a schematic view based on pathogenesis. *Transplantation.* 2013;95(9):1073–1083.

27. Piotti G., Palmisano A., Maggiore U., et al. Vascular endothelium as a target of immune response in renal transplant rejection. *Front Immunol.* 2014. Available at: <http://journal.frontiersin.org/>

- article/10.3389/fimmu.2014.00505/full
28. Thorburn E., Kolesar L., Brabcova E., et al. CXC and CC chemokines in human renal epithelial cells by inflammatory cytokines. *APMIS*. 2009;117(7):477–487.
29. Banasik M., Boratyńska M., Kościelska-Kasprzak K., et al. Non-HLA antibodies: angiotensin II type 1 receptor (anti-AT1R) and endothelin-1 type A receptor (anti-ETAR) are associated with renal allograft injury and graft loss. *Transplant Proc.* 2014;46(8):2618–2621.
30. Cardinal H., Dieude M., Brassard N., et al. Anti-perlecan antibodies are novel accelerators of immune-mediated vascular injury. *Am J Transplant.* 2013;13(4):861–874.
31. Adeyi O.A., Girnita A.L., Howe J., et al. Serum analysis after transplant nephrectomy reveals restricted antibody specificity patterns against structurally defined HLA class I mismatches. *Transplant Immunol.* 2005;14(1):53–62.
32. Del Bello A., Congy-Jovilet N., Salusto F., et al. Donor-specific antibodies after ceasing immunosuppressive therapy, with or without an allograft nephrectomy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(8):1310–1319.
33. Magil A.B. Infiltrating cell types in transplant glomerulitis: relationship to peritubular capillary C4d deposition. *Am J Kidney Dis.* 2005;45(6):1084–1089.
34. Bahde R., Vowinkel T., Unser J., et al. Prognostic factors for kidney allograft survival in the Eurotransplant Senior Program. *Ann Transplant.* 2014;19:201–209.
35. Helfer M.S., Vicari A.R., Spuldaro F., et al. Incidence, risk factors, and outcomes of delayed graft function in deceased donor kidney transplantation in a Brazilian center. *Transplant Proc.* 2014;46(6):1727–1729.
36. Wu W.K., Famure O., Li Y., Kim S. Delayed graft function and the risk of acute rejection in the modern era of kidney transplantation. *Kidney Int.* 2015;88(4):851–858.