

Биомаркеры толерантности и иммунологический мониторинг при трансплантации печени

В.Е. Сюткин*, Н.В. Боровкова, М.С. Новрузбеков

ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,
129090, Россия, Москва, Большая Сухаревская площадь, д. 3

* Контактная информация: Владимир Евгеньевич Сюткин, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник
НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, e-mail: vladsyutkin@gmail.com

Введение. В обзоре обобщены имеющиеся в литературе сведения о клинических и лабораторных показателях, позволяющих прогнозировать развитие операционной толерантности у реципиентов печени после полной отмены иммуносупрессивной терапии.

Цель обзора – выявить возможные биомаркеры толерантности у реципиентов печени с успешной полной отменой иммуносупрессии для последующего внедрения в повседневную клиническую практику.

С позиций прогностической значимости оценены клеточные, гуморальные и молекулярные маркеры операционной толерантности реципиентов печени, которым была полностью отменена иммуносупрессивная терапия без развития дисфункции трансплантата. Обоснована необходимость проведения проспективных исследований для выявления биомаркеров, позволяющих до начала или в процессе снижения иммуносупрессии выявить реципиентов печени, у которых возможна полная ее отмена.

Ключевые слова: операционная толерантность, трансплантация печени, биомаркеры

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

ФИНАНСИРОВАНИЕ Исследование проводилось без спонсорской поддержки

Сюткин В.Е., Боровкова Н.В., Новрузбеков М.С. Биомаркеры толерантности и иммунологический мониторинг при трансплантации печени. *Трансплантология*. 2020;12(2):126–134. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2020-12-2-126-134>

Biomarkers of tolerance and immunological monitoring in liver transplantation

V.E. Syutkin*, N.V. Borovkova, M.S. Novruzbekov

N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,
3 Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow 129090 Russia

Correspondence to: Vladimir E. Syutkin, Dr. Med. Sci., Leading Research Associate,
N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, e-mail: vladsyutkin@gmail.com

Introduction. We reviewed the literature data on clinical and laboratory parameters that allow predicting the development of operational tolerance in liver transplant recipients after their complete weaning from immunosuppressive therapy.

The aim was to identify possible biomarkers of tolerance in liver transplant recipients with the successful complete weaning from immunosuppression for subsequent implementation in routine clinical practice.

The cellular, humoral, and molecular markers of the liver transplant recipients who were completely withdrawn from immunosuppressive therapy without the development of graft dysfunction were estimated. The authors underlined the necessity of clinical trials for identifying biomarkers of the operational tolerance development.

Keywords: operational tolerance, liver transplantation, biomarkers

CONFLICT OF INTERESTS Authors declare no conflict of interest

FINANCING The study was performed without external funding

Syutkin VE, Borovkova NV, Novruzbekov MS. Biomarkers of tolerance and immunological monitoring in liver transplantation. *Transplantology*. 2020;12(2):126–134. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2020-12-2-126-134>

ИС – иммуносупрессия
 МКПК – мононуклеарные клетки периферической крови
 ОКО – острое клеточное отторжение
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 T-reg – регуляторные T-клетки
 CMV – цитомегаловирус

EBV – вирус Эпштейна-Барр
 HCV – вирус гепатита С
 HLA – человеческий лейкоцитарный антиген
 NK-клетки – клетки натуральные киллеры
 Th17 – T-хелперные клетки

Введение

Успешная трансплантация органов стала возможной после внедрения в клиническую практику иммуносупрессоров, препятствующих развитию реакции отторжения и последующей утраты трансплантата. В то же время длительный постоянный прием иммуносупрессирующих препаратов ведет к развитию нежелательных эффектов, связанных со снижением надзора со стороны иммунной системы, наиболее уязвимыми из которых являются злокачественные новообразования. В этой связи важной задачей трансплантологов является подбор оптимальной и достаточной иммуносупрессивной терапии, снижающей риск нежелательных реакций, с одной стороны, и, обеспечивающей иммунологическую толерантность к пересаженному органу, с другой.

В 1993 г. T. Starzl et al. опубликовали наблюдение 6 реципиентов печени, которые не были достаточно привержены к иммуносупрессивной терапии и самостоятельно прекратили прием препаратов. У этих реципиентов в течение 5–13 лет наблюдения сохранялась нормальная функция трансплантата печени [1]. Такое состояние при отсутствии гистологических признаков прогрессирующего повреждения трансплантата и/или отторжения назвали операционной толерантностью. Толерантность представляет собой специфическую реакцию организма, при которой иммунная система не отвечает на чужеродные антигены развитием иммунного ответа. При отсутствии ответа на данный антиген сохраняется способность организма отвечать на любой другой. Наблюдения пациентов, у которых имеет место спонтанная операционная толерантность, не выявили повышенного риска инфекций или злокачественных новообразований, и их реакция на вакцинацию аналогична таковой у здорового населения.

Описанные T. Starzl et al. наблюдения убедительно показали возможность развития стойкой толерантности у реципиентов печени, но при этом возникла необходимость в надежных диагностических маркерах, которые могли бы послужить достаточным основанием для отказа от дальнейшего проведения иммуносупрессивной терапии.

Цель данного обзора – на основании данных литературы выявить возможные биомаркеры толерантности у реципиентов печени с успешной полной отменой иммуносупрессии (ИС).

Клинические маркеры толерантности

После первого сообщения T. Starzl et al. (1993) было опубликовано несколько ретроспективных исследований, подтверждающих предположение о том, что в ряде случаев полная отмена ИС у реципиентов печени не приводит к развитию отторжения [2–6]. Частота эпизодов острого клеточного отторжения (ОКО) в этих исследованиях составляла 12–76%. Но сами эпизоды ОКО в большинстве случаев протекали легко и часто разрешались путем возврата к исходной ИС без введения стероидных болюсов. Случаи развития хронического отторжения наблюдались крайне редко (0–6%), а потеря трансплантата носила казуистический характер [2, 4]. Эти исследования продемонстрировали возможность прекращения ИС у стабильных реципиентов печени, но небольшие размеры выборки и/или отсутствие однородных хорошо стандартизированных протоколов отбора пациентов, отмены лекарств и наблюдения пациентов не позволяют качественно обобщить информацию. Считается, что возможность достижения операционной толерантности при трансплантации печени составляет около 20% [4, 7, 8].

Результаты первых двух проспективных, многоцентровых и независимо контролируемых клинических испытаний отмены ИС [9, 10] не имели ограничений предыдущих исследований. В одном из этих исследований ИС была отменена у 20 тщательно отобранных детей – реципиентов печени [10]. Нормальная функция трансплантата, по крайней мере, в течение года после полной отмены ИС сохранялась у 12 детей. При гистологическом исследовании ткани печени через 2 года после полной отмены ИС не было выявлено существенных изменений по сравнению с исходными данными. Наиболее значимым клиническим фактором, связанным с успешной отменой ИС, был временной интервал между трансплантацией и началом отмены ИС (101 мес в подгруппе детей с операционной толерантностью по сравнению с 73 мес в подгруппе детей, у которых достичь

толерантности не получилось; $p = 0,03$). Ни у одного ребенка не наблюдалось необратимого повреждения трансплантата.

Другое исследование, проведенное группой А. Sanchez-Fueyo, включало 102 взрослых реципиента печени из Барселоны, Рима и Брюсселя, обследованных не менее чем через 3 года после трансплантации [9]. В 41 случае удалось успешно отменить ИС; стабильная функция трансплантата сохранялась в течение, по меньшей мере, 12 мес после отмены препарата. При гистологическом исследовании образцов ткани печени, полученных через 12 и 36 мес после отмены ИС, признаки отторжения отсутствовали. Успешная отмена ИС была ассоциирована со временем, прошедшим с момента трансплантации, старшим возрастом реципиентов во время трансплантации и мужским полом. У реципиентов, у которых с момента трансплантации прошло более 10 лет, успешная отмена ИС оказалась возможна в 79% случаев, в то время как в подгруппе больных, у которых с момента трансплантации прошло менее 6 лет, операционную толерантность удалось получить менее чем в 15% случаев, что подтверждает результаты педиатрического исследования. Недавно опубликованы окончательные результаты исследования A-WISH, в котором начало отмены ИС было ранним и приходилось на второй год после трансплантации [11]. Достичь операционной толерантности (полностью отменить ИС при поддержании нормальной функции трансплантата не менее года после отмены ИС) удалось только у 10 реципиентов (13%) из 77. В значительном числе случаев наблюдались серьезные нежелательные явления. Результаты этого исследования подтверждают важную роль времени, прошедшего после трансплантации в возможности достижения операционной толерантности.

Результаты этих исследований позволяют предположить, что при тщательном отборе реципиентов печени в соответствии с клиническими и гистологическими критериями (такими как время после трансплантации более 3 лет; отсутствие недавних эпизодов отторжения, аутоиммунных заболеваний и воспалительных изменений в ткани печени), а также при тщательном соблюдении протокола отмены ИС, толерантность может наблюдаться у 40–50% реципиентов.

В связи с рисками, связанными с отторжением трансплантата, существует необходимость в точном проспективном выявлении лиц, которые стали оперативно толерантными к своей

трансплантированной печени. Это позволило бы обеспечить персонализированный подход путем безопасной отмены ИС у отдельных реципиентов, а также изучить механизмы, определяющие формирование толерантности, тем самым способствуя преднамеренной индукции толерантности у тех, кто не развивает ее спонтанно.

Клеточные маркеры толерантности

Первые попытки выявления биомаркеров толерантности у реципиентов печени с успешной полной отменой ИС были направлены на выявление специфичных циркулирующих клеток методом иммунофенотипирования на проточном цитометре. Так, в Японии при трансплантации печени от живого донора у детей, у которых развивалась операционная толерантность, в периферической крови выявлена более высокая концентрация регуляторных Т-клеток (Т-рег) ($CD4^+CD25^{high}FOXP3^+$) по сравнению с пациентами, которым иммуносупрессивная терапия не могла быть отменена. Также у реципиентов с толерантностью в крови отмечено повышенное соотношение $Vdelta1/Vdelta2$ гамма-дельта Т-клеток по сравнению с нормой [12]. В другом исследовании было показано, что увеличение соотношения $Vdelta1/Vdelta2$ гамма-дельта Т-клеток, ранее выявленное в периферической крови, отмечается также в ткани трансплантата [13]: в ткани трансплантатов печени толерантных реципиентов выявлено значительное накопление Т-рег по сравнению с нетолерантными [14].

Сходные результаты были получены при анализе взрослых толерантных реципиентов, которые проспективно наблюдались на фоне постепенной отмены ИС [15]. Обнаружено, что инфильтрация трансплантата Т-рег носит преходящий характер, и число этих клеток возвращается к исходному уровню к третьему году после отмены ИС и не коррелирует с параллельными изменениями в периферической крови.

Были и другие ретроспективные исследования, в которых проводили количественный анализ полимеразной цепной реакции (ПЦР) транскриптов FOXP3 [16]. Различий в количестве транскриптов в мононуклеарах периферической крови до отмены ИС между толерантными и нетолерантными пациентами не выявлялось. Однако по мере отмены ИС у толерантных пациентов наблюдалось увеличение транскриптов FOXP3, в то время как у пациентов с отсутствием толерантности этого не происходило. В другом исследовании было показано, что уровни FOXP3 в ну-

три трансплантата были выше в образцах печени, полученных от толерантных пациентов. Это соответствовало увеличению количества Т-рег внутри трансплантата у пациентов с толерантностью по сравнению с больными с нормальной функцией печени [14].

Важными участниками в развитии операционной толерантности ряд исследователей считают клетки натуральные киллеры (НК-клетки). Накопление НК-клеток в печени при операционной толерантности позволяет предположить их участие в развитии и поддержании этого клинического состояния. Печеночный компартмент НК-клеток уникален. Если в периферической крови содержание НК-клеток составляет 5–15% от всей популяции лимфоцитов, то в ткани печени их 30–50% [17]. Вероятно, микроокружение в печени влияет на взаимодействие дендритных и НК-клеток, что сопровождается обогащением печеночной популяции Т-рег [18]. Подробный обзор клеток-участников иммунных реакций в развитии отторжения и толерантности был недавно опубликован [19].

Часто развитию операционной толерантности предшествуют вирусные инфекции, наиболее распространенными из которых являются EBV у детей и HCV у взрослых. НК-клетки функционируют на стыке адаптивного и врожденного иммунитета. В процессе ускользания от врожденного иммунитета вирусные инфекции, такие как EBV, CMV и HCV, негативно влияют на развитие антиген-специфичного приспособительного ответа, что приводит к увеличению популяции Т-рег в ткани трансплантата [20]. Описана связь между развитием посттрансплантационной инфекции HCV в течение 5 лет с маркерами Т-рег и Т-рег-ассоциированными цитокинами, такими как трансформирующий фактор роста бета и интерлейкин 10 [21]. Таким образом, не исключено, что ключевая роль НК-клеток во врожденном иммунитете может быть также необходима для запуска и поддержания аллоспецифической толерантности.

Критическую роль в прогнозе возможной отмены ИС могут играть CD4⁺интерлейкин 17⁺Т-хелперные клетки (Th17). В исследовании, проведенном на крысах, было показано, что клетки Th17 вызывают отторжение аллотрансплантата печени [22]. Также сообщалось об увеличении числа Th17 у реципиентов печени во время ОКО по сравнению с реципиентами без отторжения [23]. Более того, дифференцировка Th17 в периферической крови коррелировала с

гистологическими признаками отторжения [24]. Проспективный серийный мониторинг иммунологических биомаркеров, проведенный исследователями из Южной Кореи, выявил, что отношения Т-рег/Th17, Th1/Th17 и CD8/Th17 увеличивались значительно сильнее у пациентов с толерантностью, чем у пациентов без толерантности на фоне снижения дозы иммуносупрессивных препаратов. Более того, у пациентов с толерантностью отношение Т-рег/Th17 оставалось повышенным в течение 60-месячного периода наблюдения [25]. Еще одна группа исследователей подчеркнула важность предшественников плазмоцитоидных дендритных клеток в качестве биомаркеров толерантности к трансплантату [26].

Обсуждается роль иммуносупрессивных препаратов, которые получает реципиент, в развитии операционной толерантности. Ингибиторы кальциневрина остаются основными препаратами для поддерживающей ИС после трансплантации печени в течение нескольких десятилетий. Ингибиторы кальциневрина могут препятствовать развитию толерантности, уменьшая количество и функцию Т-рег. Альтернативные иммуносупрессоры, такие как ингибиторы пролиферативного сигнала (mTOR), подавляют эффекторные Т-клетки, но сохраняют популяцию Т-рег и могут способствовать успешной отмене иммуносупрессивной терапии [27]. Было показано, что число Т-рег в периферической крови было меньше у реципиентов печени, получающих такролимус, по сравнению с больными, получающими моно-супрессию сиролимусом. Популяция Т-рег увеличивалась так же, как и популяция регуляторных дендритных клеток, после замены такролимуса на сиролимус [28, 29]. Французские исследователи сравнили число и функциональное состояние Т-рег на фоне конверсии ИС с такролимуса на сиролимус (n=5) или эверолимус (n=10). У пациентов обеих групп наблюдалось устойчивое повышение уровней Т-рег после конверсии на ингибиторы mTOR уже через 3 мес в среднем в 2 раза от исходного уровня. В противоположность этому в контрольной группе реципиентов, которые продолжали получать такролимус, существенных изменений в популяции Т-рег не наблюдалось. Т-рег сохранили свою функциональную способность подавлять активированные Т-клетки [30].

Таким образом, одними из кандидатов на роль биомаркера развития толерантности после трансплантации печени могут быть Т-рег (CD4⁺CD25^{high+}FOXP3⁺), концентрация которых достоверно увеличивается как в ткани печени,

так и в крови после отмены иммуносупрессивной терапии у толерантных пациентов. В то же время увеличение Т-рег не является постоянным, что ставит под сомнение надежность этого показателя.

Гуморальные маркеры толерантности

Известно, что наличие у реципиента антител против человеческих лейкоцитарных антигенов донора органа (донор-специфические антитела) является фактором риска развития отторжения трансплантата. Гуморальное отторжение, связанное с продукцией донор-специфических антител особенно важное значение имеет при трансплантации почки. Отмечено влияние антител к HLA (человеческий лейкоцитарный антиген) на исход трансплантации сердца и легких. При трансплантации печени донор-специфические антитела не имеют такого важного значения, что связано, прежде всего, с особенностями метаболизма иммуноглобулинов. Но в то же время при отмене ИС мониторинг донор-специфических антител у реципиентов печени может иметь критическое значение для своевременного выявления риска отторжения [31].

Недавно была опубликована работа исследователей из США, в которой продемонстрировано, что появление *de novo* донор-специфических антител у реципиентов трупной печени, которым проводят снижение дозы иммуносупрессивной терапии, ассоциировано с развитием отторжения. При этом независимо от проводимой ИС, большинство *de novo* сформированных донор-специфических антител было направлено против HLA II класса, а именно против HLA-DQ (78,7%), включая DQB1 (57,4%) и DQA1 (21,3%). В то же время появление *de novo* образованных донор-специфических антител против антигенов HLA-A и HLA-B наблюдается только при полной отмене иммуносупрессирующей терапии [32].

Молекулярные маркеры толерантности

Исследования группы А. Sanchez-Fueyo из Барселоны (Испания) показывают, что операционную толерантность печени можно прогнозировать с использованием молекулярных биомаркеров. Профиль экспрессируемых генов, указывающих на толерантность, впервые идентифицирован в крови функционально толерантных реципиентов и соответствующего контроля. Преимущественно это были гены, кодирующие гамма-дельта-клетки и НК-клетки [33]. Результаты данного исследования были подтверждены на образцах, собран-

ных до начала отмены ИС в испытании RISE Consortium [34]. Испанские ученые были первыми (2008), кто использовал технологию микрочипирования для определения профиля экспрессии генов мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) у реципиентов, достигших операционной толерантности [34]. В ретроспективном одномоментном исследовании авторы сравнили 16 толерантных реципиентов с 16 реципиентами, у которых не получилось отменить ИС из-за развития отторжения. Было выявлено 462 положительно и 166 отрицательно регулирующих генов. Эксперименты с использованием микрочиповой технологии и ПЦР в режиме реального времени подтвердили избыточную представленность транскриптов, преимущественно экспрессируемых гамма-дельта клетками и НК-клетками, у толерантных пациентов. К сожалению, определение профиля антигенов МКПК не воспроизводилось во всех трех участвующих в исследовании клинических центрах и не могло надежно предсказать исход отмены ИС.

Интерпретация профиля генов, полученных из МКПК, была также затруднена в связи с ретроспективным дизайном исследования и отсутствием одновременного молекулярного анализа ткани трансплантата. Впоследствии оба препятствия были преодолены тем же исследовательским коллективом в проспективном многоцентровом исследовании при отмене ИС у реципиентов печени [35]. Из 75 реципиентов, завершивших исследование, у 33 иммуносупрессивная терапия была успешно отменена. Анализ генов МКПК вновь подтвердил обогащение транскриптами естественных киллеров и гамма-дельта Т-клеток, особый интерес представляли параллельные сравнения, показывающие, что полученный из ткани печени профиль генов является более надежным, точным и воспроизводимым биомаркером толерантности. При этом профиль экспрессии генов, полученных из трансплантата, не совпадал с генами, идентифицированными в МКПК.

Анализ ткани печени с помощью микрочипов с последующей проверкой экспрессии генов с помощью ПЦР в реальном времени выявил группу из 10 генов (TFRC, PEBP1, MIF, CDHR2, SOCS1, IFNG, HAMP, SLC5A12, DAB2 и HMOX1), дифференциальная экспрессия которых была достоверно связана с толерантностью. Неожиданным наблюдением было чрезмерное представление генов, участвующих в метаболизме железа (например, рецептор трансферрина 1

(TFRC), гепцидин (НАМР) и фактор ингибирования макрофагов (MIF)). Более того, эта «железная подпись» точно предсказывала исход отмены ИС независимо от каких-либо клинических параметров. Также, по сравнению с реципиентами, не обладающими толерантностью, у реципиентов с операционной толерантностью наблюдались более высокие сывороточные уровни гепцидина и ферритина и повышенное отложение железа в гепатоцитах [35]. Эти результаты указывают на критическую роль метаболизма железа в регуляции аллоиммунных реакций в трансплантате и предоставляют набор биомаркеров для проведения клинических испытаний, связанных с попыткой отмены ИС при трансплантации печени.

Комбинация, включающая 5 генов из 10 указанных, измеренных до отмены ИС, позволяла точно отделить тех реципиентов печени, которым возможна успешная отмена иммуносупрессивной терапии от тех, у которых ее отмена сопровождалась нарушением функции трансплантата. Этот прогностический профиль включал следующие 5 генов: SOCS1, TFRC, PEVP1, MIF, CDHR2 и предсказывал исход отмены ИС с чувствительностью – 89%, специфичностью – 86%, положительной предсказательной силой 80% и отрицательной – 92%. Профиль генов отличался от полученного ранее при исследовании мононуклеаров крови или цельной крови и воспроизводился во всех трех участвующих в исследовании клинических центрах. Данный набор генов был первоначально идентифицирован у 48 реципиентов печени из Барселоны и подтвержден в независимой когорте из 21 реципиента в Брюсселе и Риме [35].

Путем объединения данных из многих Центров, педиатрических и взрослых, умерших и живых субъектов анализа группа из Стэнфорда во главе с M. Sarwal разработала 13-генный профиль толерантности, полученный при анализе периферической крови с очень хорошей точностью прогнозирования (чувствительность 100%, специфичность 83%). Эта степень предсказатель-

ной способности будет, по-видимому, достаточной, чтобы устранить необходимость в получении генных подписей из биоптата, которые, как ранее полагали, имеют преимущество как биомаркеры толерантности [36]. Комбинация трех наиболее значимых генов в НК-клетках позволила построить модель логистической регрессии с объединенным AUC 0,988. Индивидуальные AUC для каждого гена составляли 0,70 для ERBB2; 0,83 для SENP6 и 0,87 для FEM1C. Используя эту трехгенную модель методом Q-PCR, все 13 образцов толерантных пациентов и 12 образцов нетолерантных больных из 13 были идентифицированы правильно с частотой ошибок 3,84%.

Заключение

Итак, существенной проблемой поиска биомаркеров толерантности при трансплантации печени является, прежде всего, ретроспективный характер большинства исследований, в которых проводят сравнение параметров у больных, эмпирически достигших операционной толерантности с теми, у кого иммуносупрессия не может быть отменена в силу рецидивов отторжения трансплантата. Имеется крайне мало сведений относительно биомаркеров операционной толерантности до начала снижения или полной отмены иммуносупрессии.

В этой области по-прежнему не хватает проспективных клинических испытаний, в которых отмена иммуносупрессии начинается на основании результатов биомаркеров и лучшего понимания иммунологических и локальных процессов в трансплантированном органе, которые индуцируются или действуют при отмене иммуносупрессии до достижения стабильного состояния стадии толерантности. В 2014 г. было начато исследование LIFT, в котором отбор реципиентов печени с попыткой отмены иммуносупрессии проводится на основе биомаркеров. Публикация предварительных результатов ожидается в 2020 г.

Литература / References

1. Starzl TE. Cell migration and chimerism--a unifying concept in transplantation--with particular reference to HLA matching and tolerance induction. *Transplant Proc.* 1993;25(1 Pt 1):8–12. PMID: 8438487
2. Londoño MC, Londoño MC, Rimola A, O'Grady J, Sanchez-Fueyo A. Immunosuppression minimization vs. complete drug withdrawal in liver transplantation. *J Hepatol.* 2013;59(4):872–879. PMID: 23578883 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.04.003>
3. Feng S. Spontaneous and induced tolerance for liver transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant.* 2016;21(1):53–8. PMID: 26709575 <https://doi.org/10.1097/mot.0000000000000268>
4. Lerut J, Sanchez-Fueyo A. An appraisal of tolerance in liver transplantation. *Am J Transplant.* 2006;6(8):1774–1780. PMID: 16889539 <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2006.01396.x>
5. Mazariegos GV, Reyes J, Marino IR, Demetris AJ, Flynn B, Irish W, et al. Weaning of immunosuppression in liver transplant recipients. *Transplantation.* 1997;63(2):243–249. PMID: 9020325 <https://doi.org/10.1097/00007890-199701270-00012>
6. Takatsuki M, Uemoto S, Inomata Y, Egawa H, Kiuchi T, Fujita S, et al. Weaning of immunosuppression in living donor liver transplant recipients. *Transplantation.* 2001;72(3):449–454. PMID: 11502975 <https://doi.org/10.1097/00007890-200108150-00016>
7. Sawitzki B, Pascher A, Babel N, Reinke P, Volk HD. Can we use biomarkers and functional assays to implement personalized therapies in transplantation? *Transplantation.* 2009;87(11):1595–1601. PMID: 19502949 <https://doi.org/10.1097/tp.0b013e3181a6b2cf>
8. Heidt S, Wood KJ. Biomarkers of Operational Tolerance in Solid Organ Transplantation. *Expert Opin Med Diagn.* 2012;6(4):281–293. PMID: 22988481 <https://doi.org/10.1517/17530059.2012.680019>
9. Benitez C, Londoño MC, Miquel R, Manzia TM, Abalde JG, Lozano JJ, et al. Prospective multicenter clinical trial of immunosuppressive drug withdrawal in stable adult liver transplant recipients. *Hepatology.* 2013;58(5):1824–1835. PMID: 23532679 <https://doi.org/10.1002/hep.26426>
10. Feng S, Ekong UD, Lobritto SJ, Demetris AJ, Roberts JP, Rosenthal P, et al. Complete immunosuppression withdrawal and subsequent allograft function among pediatric recipients of parental living donor liver transplants. *JAMA.* 2012;307(3):283–293. PMID: 22253395 <https://doi.org/10.1001/jama.2011.2014>
11. Shaked A, DesMarais MR, Kopetskie H, Feng S, Punch JD, Levitsky J, et al. Outcomes of immunosuppression minimization and withdrawal early after liver transplantation. *Am J Transplant.* 2019;19(5):1397–1409. PMID: 30506630 <https://doi.org/10.1111/ajt.15205>
12. Li Y, Koshiba T, Yoshizawa A, Yonekawa Y, Masuda K, Ito A, et al. Analyses of peripheral blood mononuclear cells in operational tolerance after pediatric living donor liver transplantation. *Am J Transplant.* 2004;4(12):2118–2125. PMID: 15575917 <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2004.00611.x>
13. Zhao X, Li Y, Ohe H, Nafady-Hego H, Uemoto S, Bishop GA, et al. Intra-graft Vdelta1 gammadelta T cells with a unique T-cell receptor are closely associated with pediatric semiallogeneic liver transplant tolerance. *Transplantation.* 2013;95(1):192–202. PMID: 23222896 <https://doi.org/10.1097/tp.0b013e3182782f9f>
14. Li Y, Zhao X, Cheng D, Haga H, Tsuryama T, Wood K, et al. The presence of Foxp3 expressing T cells within grafts of tolerant human liver transplant recipients. *Transplantation.* 2008;86(12):1837–1843. PMID: 19104431 <https://doi.org/10.1097/tp.0b013e31818f8eb4>
15. Taubert R, Danger R, Londoño MC, Christakoudi S, Martinez-Picola M, Rimola A, et al. Hepatic infiltrates in operational tolerant patients after liver transplantation show enrichment of regulatory T cells before proinflammatory genes are downregulated. *Am J Transplant.* 2016;16(4):1285–1293. PMID: 26603835 <https://doi.org/10.1111/ajt.13617>
16. Pons JA, Revilla-Nuin B, Baroja-Mazo A, Ramírez P, Martínez-Alarcón L, Sánchez-Bueno F, et al. FoxP3 in peripheral blood is associated with operational tolerance in liver transplant patients during immunosuppression withdrawal. *Transplantation.* 2008;86(10):1370–1378. PMID: 19034005 <https://doi.org/10.1097/tp.0b013e318188d3e6>
17. Stegmann KA, Björkström NK, Veber H, Ciesek S, Riese P, Wiegand J, et al. Interferon-alpha-induced TRAIL on natural killer cells is associated with control of hepatitis C virus infection. *Gastroenterology.* 2010;138(5):1885–1897. PMID: 20334827 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.01.051>
18. Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, Yamaguchi S, Sakamori R, Hiramatsu N, et al. Natural killer cell and hepatic cell interaction via NKG2A leads to dendritic cell-mediated induction of CD4 CD25 T cells with PD-1-dependent regulatory activities. *Immunology.* 2007;120(1):73–82. PMID: 17052247 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02479.x>
19. Хубутия М.Ш., Гуляев В.А., Хватов В.В., Леменёв В.Л., Кабанова С.А., Новрузбеков М.С. и др. Иммунологическая толерантность при трансплантации органов. *Трансплантология.* 2017;9(3):211–225. Khubutiya MSh, Gulyaev VA, Khvatov VB, Lemenev VL, Kabanova SA, Novruzbekov MS, et al. Immunological tolerance in organ transplantation. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation.* 2017;9(3):211–225. (In Russ.) <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2017-9-3-211-225>
20. Ciuffreda D, Codarri L, Buhler L, Vallotton L, Giostra E, Mentha G, et al. Hepatitis C virus infection after liver transplantation is associated with lower levels of activated CD4(+)CD25(+) CD45RO(+)IL-7alpha(high) T cells. *Liver Transpl.* 2010;16(1):49–55. PMID: 19866484 <https://doi.org/10.1002/lt.21959>
21. Carpentier A, Conti F, Stenard F, Aoudjehane L, Miroux C, Podevin P, et al. Increased expression of regulatory Tr1 cells in recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Am J Transplant.* 2009;9(9):2102–2112. PMID: 19624566 <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2009.02743.x>
22. Xie XJ, Ye YF, Zhou L, Xie HY, Jiang GP, Feng XW, et al. Th17 promotes acute rejection following liver transplantation in rats. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2010;11(11):819–827. PMID: 21043049 <https://doi.org/10.1631/jzus.b1000030>
23. Fan H, Li LX, Han DD, Kou JT, Li P, He Q, et al. Increase of peripheral Th17 lymphocytes during acute cellular rejection in liver transplant recipients. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2012;11(6):606–611. PMID: 23232631 <https://doi.org/10.1007/s12089-012-0300-0>

org/10.1016/s1499-3872(12)60231-8

24. Germani G, Rodriguez-Castro K, Russo FP, Senzolo M, Zanetto A, Ferrarese A, et al. Markers of acute rejection and graft acceptance in liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2015;21(4):1061–1068. PMID: 25632178 <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i4.1061>
25. Jhun J, Lee SH, Lee SK, Kim HY, Jung ES, Kim DG, et al. Serial monitoring of immune markers being represented regulatory T cell/T helper 17 cell ratio: indicating tolerance for tapering immunosuppression after liver transplantation. *Front Immunol*. 2018;9:352. PMID: 29545795 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00352>
26. Mazariegos GV, Zahorchak AF, Reyes J, Chapman H, Zeevi A, Thomson AW, et al. Dendritic cell subset ratio in tolerant, weaning and non-tolerant liver recipients is not affected by extent of immunosuppression. *Am J Transplant*. 2005;5(2): 314–322. PMID: 15643991 <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2004.00672.x>
27. Battaglia M, Battaglia M, Stabellini A, Migliavacca B, Horejs-Hoeck J, Kaupper T, et al. Rapamycin promotes expansion of functional CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells of both healthy subjects and type 1 diabetic patients. *J Immunol*. 2006;177(12): 8338–8347. PMID: 17142730 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.12.8338>
28. Levitsky J, Mathew JM, Abecassis M, Tambur A, Leventhal J, Chandrasekaran D, et al. Systemic immunoregulatory and proteogenomic effects of tacrolimus to sirolimus conversion in liver transplant recipients. *Hepatology*. 2013;57(1):239–248. PMID: 22234876 <https://doi.org/10.1002/hep.25579>
29. Levitsky J, Miller J, Wang E, Rosen A, Flaa C, Abecassis M, et al. Immunoregulatory profiles in liver transplant recipients on different immunosuppressive agents. *Hum immunol*. 2009;70(3):146–150. PMID: 19141306 <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2008.12.008>
30. Ghazal K, Stenard F, Dahlqvist G, Barjon C, Aoudjehane L, Scatton O, et al. Treatment with mTOR inhibitors after liver transplantation enables a sustained increase in regulatory T-cells while preserving their suppressive capacity. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2018;42(3):237–244. PMID: 29175009 <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2017.10.001>
31. Cuadrado A, San Segundo D, López-Hoyos M, Crespo J, Fábrega E, et al. Clinical significance of donor-specific human leukocyte antigen antibodies in liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2015;21(39):11016–11026. PMID: 26494958 <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i39.11016>
32. Jucaud V, Shaked A, DesMarais M, Sayre P, Feng S, Levitsky J, et al. Prevalence and impact of de novo donor-specific antibodies during a multicenter immunosuppression withdrawal trial in adult liver transplant recipients. *Hepatology*. 2019;69(3):1273–1286. PMID: 30229989 <https://doi.org/10.1002/hep.30281>
33. Martinez-Llordella M, Puig-Pey I, Orlando G, Ramoni M, Tisone G, Rimola A, et al. Multiparameter immune profiling of operational tolerance in liver transplantation. *Am J Transplant*. 2007;7(2):309–319. PMID: 17241111 <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2006.01621.x>
34. Martinez-Llordella M, Lozano JJ, Puig-Pey I, Orlando G, Tisone G, Lerut J, et al. Using transcriptional profiling to develop a diagnostic test of operational tolerance in liver transplant recipients. *J Clin Invest*. 2008;118(8):2845–2857. PMID: 18654667 <https://doi.org/10.1172/jci35342>
35. Bohne F, Martínez-Llordella M, Lozano JJ, Miquel R, Benítez C, Londoño MC, et al. Intra-graft expression of genes involved in iron homeostasis predicts the development of operational tolerance in human liver transplantation. *J Clin Invest*. 2012;122(1):368–382. PMID: 22156196 <https://doi.org/10.1172/jci59411>
36. Li L, Wozniak LJ, Rodder S, Heish S, Talisetti A, Wang Q, et al. A common peripheral blood gene set for diagnosis of operational tolerance in pediatric and adult liver transplantation. *Am J Transplant*. 2012;12(5):1218–1228. PMID: 22300520 <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03928.x>

Информация об авторах

| | |
|-------------------------------------|--|
| Владимир Евгеньевич Сюткин | д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», https://orcid.org/0000-0001-8391-5211 |
| Наталья Валерьевна Боровкова | д-р мед. наук, заведующая научным отделением биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», https://orcid.org/0000-0002-8897-7523 |
| Мурад Сафтарович Новрузбеков | д-р мед. наук, заведующий научным отделением трансплантации печени ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», https://orcid.org/0000-0002-6362-7914 |

Information about authors

| | |
|-----------------------------|--|
| Vladimir E. Syutkin | Dr. Med. Sci., Leading Research Associate, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0001-8391-5211 |
| Natalya V. Borovkova | Dr. Med. Sci., Head of the Scientific Department of Biotechnology and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0002-8897-7523 |
| Murad S. Novruzbekov | Dr. Med. Sci., Head of the Scientific Department for Liver Transplantation, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, https://orcid.org/0000-0002-6362-7914 |

Статья поступила: 8.02.2020

Статья принята в печать: 5.03.2020

Received: February 8, 2020

Accepted for publication: March 5, 2020