

*И.З. Усманова, С.Н. Куликова, Л.Р. Кальметьева, Р.М. Хайруллина*ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРЕСАДКИ ПОЧКИ У ДЕТЕЙ,
ФАКТОРЫ РИСКА И ИСХОДЫ В ДОЛГОСРОЧНОМ ПЕРИОДЕ*I.Z. Usmanova, S.N. Kulikova, L.R. Kalmetjeva, R.M. Khayrullina*IMMUNOGENETIC ASPECTS OF KIDNEY TRANSPLANTATION IN
CHILDREN, RISK FACTORS AND LONG-TERM OUTCOMES

Республиканская детская клиническая больница, г.Уфа, Башкортостан

РЕФЕРАТ

Цель – определение иммуногенетических особенностей у детей при пересадке почки и выявление факторов, определяющих длительность функционирования почечного трансплантата. Проанализированы результаты 47 трансплантаций почки, из них – 17 от живых родственных доноров, 30 – трупные трансплантаты, выполненные за период с 1996 по 2010 гг. Сроки наблюдения составили от 1 года до 13 лет. Возраст реципиентов от 9 до 19 лет. Установлено, что продолжительность функционирования почечного трансплантата увеличивается при наличии совпадений в парах донор – реципиент по HLA-A- и HLA-DR- локусам. Определены сочетания аллелей главного комплекса гистосовместимости, оказывающие благоприятное или отрицательное влияние на течение посттрансплантационного периода. В посттрансплантационном периоде в сроки от трех до четырех лет на фоне иммуносупрессивной терапии установлены активация клеточного и гуморального звеньев иммунитета и наиболее высокий уровень потери почечного трансплантата.

Ключевые слова: хроническая почечная недостаточность, гемодиализ, трансплантация почек.

ABSTRACT

Purpose is to define immunogenetic features among children with kidney transplants and factors that determine the duration of renal transplant functioning. Results of 47 renal allografts, made between 1996 and 2010 were analyzed, among them - 17 from living related donors, 30 - cadaveric allografts. Observation time duration is from 1 year to 13 years. Recipients' age from 9 to 19 years. It is found that the duration of transplant kidney functioning, transplanted in children, increases with the matches in pairs of donor - recipient at loci HLA-A and HLA-DR. There are determined combinations of major histocompatibility complex alleles, which have a beneficial or adverse effect on the course of post-transplant period. In post-transplantation period in time of three to four years during immunosuppressive therapy activation of cellular and humoral components of immune system and the highest level of renal graft loss are specified.

Key words: chronic kidney disease, hemodialysis, kidney transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно в России на 150 млн жителей регистрируются 45–210 детей с терминальной почечной недостаточностью (тХПН). В Республике Башкортостан на 1 млн жителей выявляются 150 больных взрослых и детей с хронической почечной недостаточностью, нуждающихся в программном гемодиализе и пересадке почки [1].

В трансплантации почки в России нуждаются около 10 тыс. больных, при этом из расчета на 1 млн населения пересадок выполняется в 10 раз меньше, чем в большинстве европейских стран [2].

Проблема лечения детей с тХПН в России не решена, одной из причин является отсутствие до-

статочного количества отделений, специализирующихся на трансплантации почки детям [3].

По данным Российского центра пересадки почки, функциональная пятилетняя выживаемость трансплантатов у детей ниже, чем у взрослых, и составляет 74%. Большинство исследователей сходятся во мнении, что такие результаты в первую очередь обусловлены биологическими особенностями детского организма. Иммунная система детей требует более дифференцированного, чем у взрослых, применения иммуносупрессивных средств [4, 5]. К факторам, определяющим продолжительность функционирования трансплантата, наряду с совершенствованием техники операции, относятся биологическая совместимость тканей донора и реципиента и предсуществующие антидонорские антитела, де-

Усманова И.З. 450105, г. Уфа, ул. Королева, д.26, кв.132. Республиканская детская клиническая больница, г. Уфа, отделение лабораторной диагностики, тел. 7-987-250-32-88

терминирующие выраженность специфического ответа на трансплантат [6].

В задачи настоящего исследования входило обобщение опыта работы отделения трансплантации Республиканской детской клинической больницы, которая в течение 16 лет является единственным детским центром по пересадке почки в регионе. Также определение иммуногенетических особенностей трансплантации почки у детей, изучение влияния на выживаемость трансплантата иммунных факторов, определяющих прогностическую значимость в раннем и отдаленном посттрансплантационном периодах.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены результаты 47 трансплантаций почки, выполненных за период с 1996 по 2010 годы (табл. 1), из них – 17 от живых родственных доноров, 30 – трупные трансплантаты. Сроки наблюдения составили от 1 года до 13 лет. Возраст реципиентов от 9 до 19 лет, возраст доноров от 20 до 55 лет.

Таблица 1

Распределение больных в зависимости от основного заболевания, вызвавшего терминальную стадию хронической почечной недостаточности

Причины терминальной стадии хронической почечной недостаточности	Количество больных (47)
Хронический гломерулонефрит	13
Хронический пиелонефрит	5
Наследственный нефрит	2
Системная красная волчанка	1
Хронический тубулоинтерстициальный нефрит	2
Дисплазия	6
Гипоплазия	4
Мультикистоз	1
Поликистоз	5
Пузырно-мочеточниковый рефлюкс	2
Двусторонний рефлюксный мегауретер	6

Клинико-лабораторные обследования пациентов проводили на 1-, 3-, 7-е сутки, 1-, 3-, 6-й месяцы и затем 1 раз в год после операции. Все больные до трансплантации почки получали заместительную почечную терапию в виде гемодиализа или перитонеального диализа, после операции индивидуальную медикаментозную и иммуносупрессивную терапию. Вне зависимости от типа донора селекция пар донор – реципиент осуществлялась по подбору системы АВ0, результатам прямой перекрестной пробы (cross-match) и тканевого типирования по системе HLA (A, B, DR). Степень HLA-совместимости оценивали по числу

антигенов HLA-донора, совпадающих с антигенами HLA-реципиента. Трансплантат считался утраченным в случае трансплантатэктомии или смерти реципиента, в том числе с функционирующим трансплантатом.

Иммунологическое обследование пациентов проводили с использованием комплекса стандартизированных тестов, включающих оценку: клеточного звена системы иммунитета и определением относительного содержания основных популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD25⁺, HLA-DR); концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G, определяемых методом радиальной иммунодиффузии в геле; уровня циркулирующих иммунных комплексов осаждением полиэтиленгликолем. HLA-ДНК-типирование осуществлялось методом полимеразной цепной реакции с аллельспецифическими праймерами (PSR-SSP) фирм «Protrans» (Германия) и «Invitrogen» (Великобритания).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с формированием базы данных и использованием пакета компьютерных программ «Statistica 6.0.». Отдаленные результаты трансплантации в группах больных оценивали путем анализа кривых актуальной выживаемости трансплантатов, построенных по методике Каплана–Мейера (Kaplan E., Meier P., 1958). Для статистических показателей, имеющих нормальное распределение признака, вычисляли среднее арифметическое значение (M) и стандартную ошибку среднего значения (m). Достоверность различий количественных параметров в двух группах определяли по критерию Манна–Уитни. Корреляционный анализ выполнялся по методу Спирмена с определением коэффициента ранговой корреляции (K). В качестве уровня статистической значимости принимали значение $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнительном анализе показателей выживаемости почечных трансплантатов (n=47 первые 6 лет наблюдения) между различными группами органного донорства было отмечено, что в группе от живых родственных доноров (n=17) эффективность трансплантации намного выше – 94,1%, в то время как у реципиентов с кадаверными донорами (n=30) она составила лишь 53,3% ($p=0,0039$).

Установлена зависимость выживаемости трансплантата от числа совпадений по HLA-антигенам донора и реципиента: при несовпадении по 1–3 антигенам потеря трансплантата регистрируется в 4,2%, при несовпадении по 4 и более антигенам – в 25% случаев (табл. 2).

Таблица 2

Оценка функции выживаемости почечных трансплантатов в зависимости от типа донора

Тип донора, %	Период наблюдения детей с почечным трансплантантом (в годах)					
	1	2	3	4	5	6
Родственные доноры	100	100	94,2	94,2	94,2	94,1
Кадаверные доноры	93,3	90,0	80,0	66,7	63,4	53,3

Таблица 3

Выживаемость почечного трансплантата в зависимости от числа несовпадений HLA-антигенов в паре донор – реципиент

HLA частота несовместимости в паре донор – реципиент	Время наблюдения (в годах)					
	1	2	3	4	5	6
Несовместимость по 1 антигену HLA (живые родственники доноры)	100% (n=2)	100% (n=2)	100% (n=2)	100% (n=2)	100% (n=2)	100% (n=1)
Несовместимость по 2 антигенам HLA	100% (n=6)	100% (n=6)	75% (n=4)	75% (n=3)	–	–
Несовместимость по 3 антигенам HLA	94% (n=19)	93,3% (n=15)	92,8% (n=14)	83% (n=12)	82% (n=11)	77% (n=9)
Несовместимость по 4 антигенам HLA	100% (n=13)	100% (n=12)	83,3% (n=12)	58% (n=12)	50% (n=12)	33% (n=3)
Несовместимость по 5 антигенам HLA	100% (n=4)	75% (n=4)	33,3% (n=3)	33,3% (n=3)	33,3% (n=3)	0% (n=1)

По результатам исследования более высокая выживаемость выявлена в парах донор – реципиент при совпадениях по локусам HLA-A ($p=0,001$) и HLA-DR ($p=0,028$). Различия в парах донор–реципиент для локуса HLAB не оказывают какого-либо значительного, статистически достоверного влияния при проведении селекции на результаты почечной трансплантации.

В ходе исследования для характеристики ассоциаций HLA-аллелей с выживаемостью трансплантата пациенты разделены на две группы: группа с утратой трансплантата ($n=15$) и группа с сохранением функции трансплантата ($n=32$) в течение наблюдаемого периода (от 1 до 13 лет). По результатам анализа частоты встречаемости аллелей в данных группах значимыми для первой группы были HLA A2, для второй – HLA A10, A19 (рис. 1).

Кумулятивная доля выживших (метод Kaplan E., Meier P., 1958) составила для родственных пере-

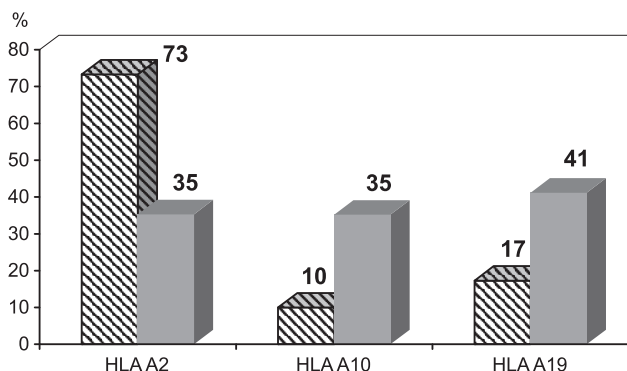


Рис. 1. Распределение HLA-аллелей среди пациентов в группах с различным исходом трансплантации.

садок почки – 0,7 и для пересадок от кадаверных доноров – 0,09 на момент окончания периода наблюдения после трансплантации.

Иммунологический контроль у реципиентов при пересадке почки проведен до трансплантации и после нее.

До трансплантации в группе исследуемых детей с хронической почечной недостаточностью ($n=47$) выявлены особенности иммунологической реактивности в виде недостаточности Т-клеточного звена системы иммунитета ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$), естественных киллерных клеток, В-лимфопении.

Результаты исследования в раннем послеоперационном периоде характеризовались подавлением всех звеньев системы иммунитета.

В более поздний период, а именно, от трех до четырех лет после операции, состояние иммунологической реактивности на фоне проводимой иммуносупрессивной терапии характеризовалось: повышением количества лейкоцитов крови, уровня циркулирующих иммунных комплексов, уровня иммуноглобулинов классов М и G, процентного содержания популяции Т-лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$), уровня естественных киллерных клеток ($CD16^+$), содержания клеток с маркерами активации ($CD25^+$), снижением числа HLA-DR-позитивных лимфоцитов по мере увеличения срока после аллотрансплантации.

При анализе результатов потерь трансплантата установлено, что наибольшее количество пересаженных органов было утрачено в период от трех до четырех лет (рис. 2).

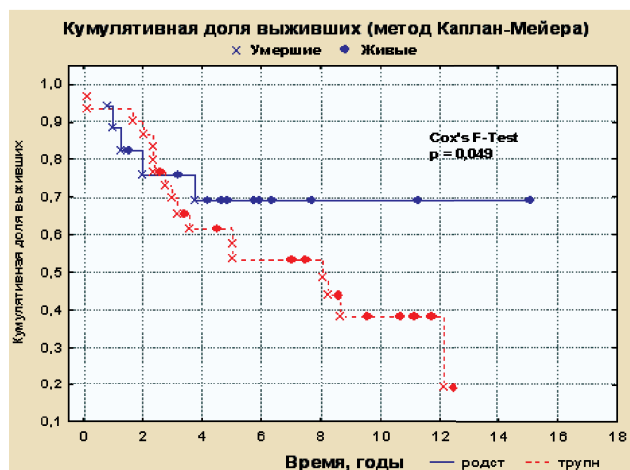


Рис. 2. Анализ выживаемости почечного трансплантата у детей в зависимости от типа донора.

ОБСУЖДЕНИЕ

Риск потери трансплантата повышается по мере нарастания различий реципиента и донора пересаженного органа по антигенам HLA [7]. В нашем исследовании по результатам анализа продолжительности функционирования трансплантата в зависимости от числа несовпадений антигенов гистосовместимости в паре донор – реципиент установлено, что выживаемость трансплантата увеличивается пропорционально степени совместимости донора и реципиента по антигенам системы HLA. Наилучшие результаты получены у реципиентов, которым удалось подобрать доноров, несовместимых по 1 антигену HLA. При этом в течение 6 лет наблюдения выживаемость трансплантатов составила 100%. Мы установили, что показатели выживаемости трансплантата достоверно меньше у пациентов с числом несовпадений от трех и выше на 27%.

По мнению большинства исследователей, наиболее благоприятным является прогноз выживаемости трансплантата по совместимостям локусов HLA B и HLA DR [8]. По результатам нашего исследования более высокие результаты по выживаемости в парах «донор–реципиент» отмечались при совпадениях по локусам HLA A и HLA DR. Подтверждением тому являются данные корреляционного анализа, в ходе которого была выявлена сопряженность сочетаний HLA A и HLA DR локусов с продолжительностью функционирования трансплантата и обратная зависимость с утратой пересаженной почки.

В последние годы в Республике Башкортостан [1], как и на всей территории Российской Федерации [2] остро стоит проблема нехватки донорских органов.

Учитывая актуальность проблемы, проведена оценка выживаемости трансплантата у детей в группах с различными органами донорами (живые родственные и кадаверные доноры) с различной степенью совместимости HLA-антигенов. В нашей клинике доля трансплантации от живых родственных доноров за последние 6 лет составляет 75% от общего количества выполняемых в отделении операций.

Эффективность выживаемости трансплантатов у детей от родственных доноров составила 94,1%, от кадаверных доноров – 53,3%. Таким образом, успех трансплантации почки от живого родственного донора в большей степени связан с генетическим сходством донора и реципиента. [9]. Также это обеспечивается коротким периодом ишемии, наличием высокого индекса гистосовместимости и возможностью проведения операции на додиализном этапе или в течение первых месяцев лечения.

Существуют современные исследования, где отслеживается связь между несовпадением HLA-фенотипа и выживаемостью трансплантата [10]. Как известно, частота встречаемости антигенов различна для регионов проживания, и в связи с этим одной из задач нашей работы являлось выявление прогностической значимости HLA-аллелей при трансплантации почки у детей в нашем центре.

В ходе исследования достоверно установлено, что благоприятное течение посттрансплантационного периода наблюдается при наличии HLA-аллелей A2. Развитие криза отторжения с последующей потерей трансплантата связано с HLA- аллелями A10, A19.

Одной из важнейших задач обследования реципиентов до пересадки почки является оценка иммунной реактивности для прогнозирования силы иммунного ответа на трансплантат и возможности планирования уровня иммуносупрессивной терапии [11].

Для решения этой задачи проведено иммунологическое обследование реципиентов до трансплантации почки, основную группу которых составляли больные в терминальной стадии хронической почечной недостаточности. Комплексное лечение, направленное на поддержание жизни пациента в ожидании трансплантации и оптимизацию его физического состояния к моменту выполнения операции, включало базовую гормональную терапию.

По результатам сравнительного анализа иммунологических показателей основной группы с показателями практически здоровых детей [12] установлены особенности иммунологической реактивности в виде недостаточности Т-клеточного

звена системы иммунитета ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$), естественных киллерных клеток, В-лимфоцитии .

Низкий уровень индукторных Т-лимфоцитов $CD4^+$ сопровождался снижением экспрессии маркера активации $CD25^+$. Наряду с перечисленными выше нарушениями клеточных механизмов защиты, отмечалась дисиммуноглобулинемия и достоверно, по сравнению с группой контроля, превышение уровня ЦИК.

Результаты анализа иммунологического мониторинга после трансплантации показали, что ранний послеоперационный период характеризовался подавлением всех звеньев иммунитета, что является следствием интенсивной иммуносупрессивной терапии и способствует нормальному функционированию трансплантата.

В более поздний период, а именно, в 3–4 года после операции на фоне иммуносупрессивной терапии выявлена некоторая иммунологическая реактивность, которая проявилась в увеличении уровня лейкоцитов к 3–4 годам после трансплантации. Значительное нарастание показателей гуморального звена иммунитета – IgM в 3 года в 1,8 раза, IgG – 1,75 раза. Особенности реактивности гуморального звена в посттрансплантационном периоде, по нашему мнению, могут быть охарактеризованы как иммуноглобулиновый профиль реципиента, что свидетельствует о вовлечении гуморального звена иммунной системы и начала выработки цитотоксических антител против чужеродной ткани. Показатели клеточного иммунитета на 3-м и 4-м году наблюдения характеризовались увеличением количества субпопуляции Т-лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$), нарастанием уровня маркера ранней активации ($CD25^+$), повышенным содержанием, по сравнению с ранним периодом после операции, цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD8^+$), пиком возрастания в 3 года естественных киллерных клеток ($CD16^+$). Наблюдалось снижение HLA DR-клеток по мере увеличения срока после трансплантации почки. Перечисленные особенности отражают активацию иммунных процессов, возможно, являются следствием снижения эффективности иммуносупрессивной терапии.

Кроме того, именно в этот период отмечено наибольшее количество потери трансплантата: в 2 раза по сравнению с 1-м годом наблюдения и в 3 раза по сравнению с 2-, 5-, 6-, 8 годами наблюдения.

Таким образом, выявление у реципиента HLA-антигенов A10, A19 и совпадение менее 3 антигенов HLA в паре донор – реципиент следует рассматривать как факторы риска высокой вероятности отторжения трансплантата. После трансплантации

почки у детей третий и четвертый годы являются критическими, что подтверждается увеличением числа потерь трансплантата, а по данным мониторинга – повышением иммунологической реактивности.

Для своевременного выявления изменений в системе иммунитета у детей на фоне иммуносупрессивной терапии после трансплантации почки необходимо проведение иммунологического мониторинга в раннем и отдаленном периоде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования показали [13–18], что увеличение продолжительности функционирования почечного трансплантата у детей во многом определяется тщательностью иммуногенетического подбора пары донор – реципиент: совпадением по локусам, антигенам HLA, количества совпадений, типа органного донорства. Иммуногенетические маркеры, определенные в ходе исследований, являются основанием для проведения терапии, способствующей оптимизации функционирования трансплантата и предупреждения кризов отторжения. Максимальное внимание следует уделять в период 3–4 года после трансплантации, так как выявленные особенности иммунной системы являются дополнительными факторами, прогнозирующими развитие отторжения почечного трансплантата у детей после трансплантации почки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Курбангулов ИР. Обоснование программы трансплантологии в Республике Башкортостан. *Здравоохранение и социальное развитие Башкортостана*. 2011; 3:48-50
2. Готье СВ, Мойсюк ЯГ, Хомяков СМ и др. Развитие органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2010 годах. Сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2011; 1:26
3. Каабак ММ. Отчёт о работе отделения трансплантации почки. *Хирург* 2010; 4:36
4. Каабак ММ. Оценка эффективности и безопасности отмены циклоспорина у детей в отдаленные сроки после трансплантации почки. *Тер арх* 2009; 81 (8):62-64
5. Молчанова ЕА, Валов АЛ, Каабак ММ. Первые результаты формирования Российского регистра хронической почечной недостаточности у детей. *Нефрология и диализ* 2003; 5:64-68
6. Абрамов ВЮ. Современный потенциал тканевой совместимости при клинической трансплантации почки. *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 2006; 3:37-41
7. Абрамов ВЮ. Иммуногенетика и индивидуализация иммуносупрессии. Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов. М., 2011; 404-408
8. Томила НА, Ким ИГ. Факторы риска позднего прекращения функции трансплантата. *Нефрология и диализ* 2000; 2:260-271
9. Шаршаткин АВ, Азаренкова ОВ, Мойсюк ЯГ. Анализ отдаленных результатов трансплантации почки от живого

родственного донора. Медицинский альманах. Спец выпуск: Высокие технологии в медицине. 2008; 34-36

10. Столяр АГ, Бердюгина ОВ, Борецкая ЕИ. Иммунологический подбор при трансплантации почки – сохраняющаяся актуальность проблемы. Вестн трансплантологии и искусственных органов 2010; Приложение:70-71

11. Готье СВ, Цирульникова ОМ. Клиническая трансплантология: задачи, возможности, принципы. *Очерки клинической трансплантологии 2009*: 23-24

12. Кальметьева ЛР, Ахметшин РЗ, Макарова ГУ. Диагностическое HLA-типирование в педиатрической практике. *Омега-Л*, М., 2010; 100

13. Усманова ИЗ, Еличева ЗМ, Куликова СН. Значение совместимости HLA-антигенов при трансплантации почек у детей в Республике Башкортостан. *Вестник Уральской медицинской академической науки* 2011; 2:119

14. Куликова СН, Усманова ИЗ, Еличева ЗМ. Иммуногенетические особенности хронической почечной недостаточности у детей. Материалы конгресса детских врачей Союзного государства. М., 2011; 169-170

15. Усманова ИЗ, Еличева ЗМ, Куликова СН и др. Трансплантация почки у детей в Республике Башкортостан. Влияние HLA-совместимости и органного донорства на результаты выживаемости почечного трансплантата. *Здравоохранение и социальное развитие Башкортостана*. 2011; 3: 206–208

16. Усманова ИЗ, Еличева ЗМ, Куликова СН и др. Иммуногенетические аспекты трансплантации почки у детей Республики Башкортостан. Материалы II съезда детских урологов-андрологов. М., 2011; 84–88

17. Куликова СН, Усманова ИЗ, Еличева ЗМ. Распределение генов HLA A-, B-, DR1-локусов у детей с хронической почечной недостаточностью. *Здравоохранение и социальное развитие Башкортостана*, 2011; 3:151.

18. Хасанов РШ, Гумеров АА, Ахметшин РЗ и др. Вопросы организации работы отделения пересадки почки в Республиканской детской клинической больнице Республики Башкортостан. *Детская больница*, 2005; 4:46–47

Поступила в редакцию 08.04.2013 г.

Принята в печать 05.06.2013 г.