

УДК 616.61-089.843-097

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИММУНОЛОГИЧЕСКОМ ОБЕСПЕЧЕНИИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

А.В. Колсанов, д. м. н., профессор, руководитель¹, Л.В. Лимарева, к. б. н., доцент²,
О.П. Данильченко², С.И. Попова¹, Е.В. Кошечкина³

¹Центр трансплантации органов и тканей клиник СамГМУ,

²ЦНИЛ СамГМУ, ³Клинико-диагностическая лаборатория клиник СамГМУ, г. Самара

Трансплантация почки является одной из самых передовых медицинских технологий, позволяющих продлить жизнь больным хронической почечной недостаточностью, улучшить качество их жизни, обеспечить социальную реабилитацию (Шумаков В.И. и соавт., 2006). При этом полноценное функционирование трансплантата зависит не только от его исходного качества и успешного проведения операции, но и от сложного комплекса мероприятий дооперационного и послеоперационного ведения пациентов. Важную роль в этом играет иммунологическое обеспечение трансплантации почки.

В Самарском центре трансплантации органов и тканей на базе Центральной клинико-диагностической лаборатории Клиник СамГМУ была создана лаборатория трансплантационной иммунологии, сотрудники которой имеют специальную подготовку в области лабораторной иммунологии, что позволяет эффективно проводить иммунологические исследования, корректно интерпретировать полученные результаты, совместно с хирургами и терапевтами подбирать индивидуальный комплекс обследования и иммунокорректирующей терапии. Для иммунологического обеспечения программы по трансплантации почки используется современное высокотехнологическое оборудование: проточный цитофлюориметр (иммунофенотипирование лейкоцитов, выявление предсуществующих антител), автоматический иммунохемилюминесцентный анализатор (определение содержания иммуноглобулинов основных классов, белков острой фазы и др.), автоматический анализатор для иммуноферментного анализа на микрочастицах (выявление вирусных инфекций методом МИФА) и флюоресцентного поляризационного иммуноанализа (определение концентрации циклоспорина А), автоматические гематологические анализаторы, оборудование для полимеразной цепной реакции (ПЦР). HLA-типирование для подбора пар «донор-реципиент» проводится серологическими и молекулярно-диагностическими методами исследований.

Внедрение в практику лаборатории методов анализа, основанных на современных технологиях, позволило разработать алгоритм обследования пар «донор-реципиент», при котором один врач клинико-лабораторной диагностики в течение 4,5–5 часов проводит обследование потенциального донора на наличие инфекций, осуществляет HLA-типирование и предварительную реакцию cross-match.

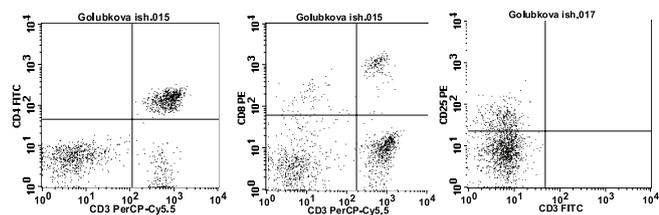
Одним из важных моментов иммунологического обеспечения трансплантации почки является выявление цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ). Данная инфекция наиболее часто обнаруживается у реципиентов с почечным трансплантатом, по тяжести течения варьирует от бессимптомной до крайне тяжелой с вовлечением многих органов вплоть до смертельного исхода (Бернард М. Кубак и соавт., 2001). В Самарском центре трансплантации органов и тканей каждый пациент из листа ожидания на дооперационном и послеоперационном этапах обследуется на наличие ЦМВ-инфекции высокоспецифичными методами иммуноферментного анализа на микрочастицах (МИФА) и методом полимеразной цепной реакции. Анализ динамического наблюдения 210 пациентов из листа ожидания и 41 пациента после трансплантации почки показал, что практически у всех обследованных больных выявляются IgG к ЦМВ в достаточно высоких титрах. Послеоперационное обследование реципиентов выявило, что в ряде случаев нарастание клинических признаков манифестации инфекции не сопровождается увеличением в плазме крови количества соответствующих иммуноглобулинов класса G (особенно при их высоких исходных уровнях) и появлением IgM к ЦМВ. Нами было дополнительно проведено параллельное исследование 103 образцов крови на наличие антител к ЦМВ методом МИФА и ДНК ЦМВ методом полимеразной цепной реакции (таблица).

Исследование показало, что результаты, полученные с помощью названных методов, совпали в 61,9% случаев, позитивные результаты совпали почти в половине наблюдений, а отрицательные – в 14,3% случаев. В 14,3% наблюдений при отсутствии IgM в крови была выявлена ДНК вируса. Сомнительные результаты в МИФА сопровождалась как отрицательными, так и положительными результатами выявления ДНК ЦМВ. Необходимо отметить, что в 9,5% случаев МИФА выявлял наличие IgM, а в полимеразной цепной реакции ДНК вируса не обнаруживалась. Проведённое исследование позволило выработать оптимальную, на наш взгляд, схему обследования реципиентов на ЦМВ-инфекцию. Вначале проводятся исследования на выявление IgM методом ИФА и только в случае попадания результатов в пограничную зону или зону отрицательных результатов при определённых изменениях клинического статуса и иммунного статуса кровь отправляется в ПЦР-лабораторию. Несмотря на интенсивные исследования в

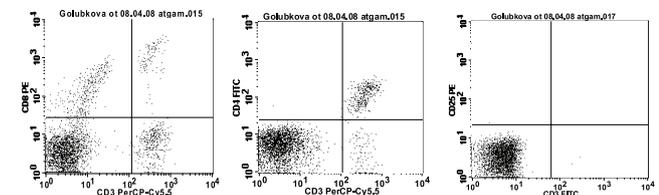
области трансплантационной иммунологии, до сих пор остаётся проблематичной своевременная диагностика возникновения кризов отторжения, их точное распознавание и дифференциация от хирургических, инфекционных и других посттрансплантационных осложнений, для адекватных изменений в схеме иммуносупрессии (Мойсюк Я.Г. и соавт., 2005). Для оценки адекватности проведения иммуносупрессивной терапии проводится определение уровня циклоsporина А методом флуоресцентного поляризационного иммуноанализа, а также комплексная оценка иммунного статуса, включающая иммунофенотипирование лейкоцитов крови, определение уровня экспрессии антигенов дифференцировки и анализ изменений морфометрических параметров клеток.

Таблица. Сопоставление результатов выявления IgM к ЦМВ методом МИФА и ДНК ЦМВ методом ПЦР в крови пациентов с почечным трансплантатом

Результаты анализа	МИФА + ПЦР+	МИФА - ПЦР -	МИФА - ПЦР +	МИФА + ПЦР	МИФА сомнит. - ПЦР+	МИФА сомнит. ПЦР -
Процент от общего числа наблюдений	47,6	14,3	14,3	9,5	4,8	9,5



A) CD3+4+ - 42%
CD3+ - 54%
CD3+8+ - 17%
CD3+ - 53%
CD3- CD16+56+ - 24%
CD25+ - 20%



B) CD3+4+ - 18%
CD3+ - 15%
CD3+8+ - 7%
CD3+ - 15%
CD3- CD16+56+ - 22%
CD25+ - 0,05%

Рис. Индивидуальная иммунограмма пациентки Г., 50 лет. Ускоренное отторжение аллогенного почечного трансплантата на фоне применения симулекта (20 мг в/в) и майфортика (720 мг), купированное введением атгама (в/в 250 мг)

A – непосредственно перед трансплантацией трупной почки,

B – 2-е сутки после введения атгама.

Нами была проведена оценка иммунного статуса 41 реципиента трупной почки и 3 пациентов с пересаженной родственной почкой, прооперированных и наблюдающихся в Самарском центре трансплантации органов и тканей в 2006–2008 гг. Иммунофенотипирование лейкоцитов крови проводили непосредственно до операции и через 1, 3, 7, 10, 21, 30, 60 и 90 суток после трансплантации, а также в случаях возникновения клинических признаков реакции острого отторжения. Выявление антигенов дифференцировки осуществляли на проточном цитофлуориметре Becton Dickinson FACS Calibur с использованием тест-систем TriTEST, Simultest и дополнительных комбинаций моноклональных антител CD3-FITC, CD25-PE, CD95-PE, HLA-DR-PE.

Проведённое исследование с использованием методов проточной иммуноцитофлуориметрии позволило выявить определённые изменения, характерные для манифестации инфекционно-воспалительных процессов или для реакций острого отторжения трансплантата, а также дополнительно оценить адекватность иммуносупрессивной терапии. Так, например, в случаях возникновения инфекционно-воспалительных осложнений отмечалось повышение содержания CD3+ CD4+, CD3+ CD 8+, CD3⁻CD16+/56+ лимфоцитов, а также CD3⁻CD4+ и CD3⁻CD16+/56+ моноцитов и гранулоцитов. Обследование реципиентов непосредственно перед трансплантацией позволило выявлять пациентов из группы риска, требующих проведения более жесткой иммуносупрессии. На рисунке представлены индивидуальные иммунограммы, характерные для реципиентов с высокой степенью риска возникновения реакций отторжения трансплантата.

Таким образом, применение высокотехнологических методов исследования в иммунологическом обеспечении трансплантации почек позволяет оптимизировать обследование пар «донор-реципиент», выявлять изменения, характерные для манифестации инфекционно-воспалительных процессов или для реакций острого отторжения трансплантата, ускорять время предоперационного обследования реципиента, а также дополнительно оценивать эффективность иммуносупрессивной терапии.



ЛИТЕРАТУРА

1. Бернард М. Кубак, Дэвид А. Педжес, Кэртис Д. Холт. Инфекционные осложнения трансплантации почки и их лечение. В кн: Руководство по трансплантации почки / Редактор Габриель М. Данович / Пер. с англ. Под ред. Я.Г. Мойсюка. - Третье издание. - Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2004. - С. 255-294.
2. Мойсюк Я., Беляев А. Трансплантация почки в России: проблемы и перспективы // Врач. - 2005. - № 6. - С. 5-7.
3. Шумаков В.И. Трансплантология. 2-е изд., испр. и доп. Изд-во МИА. - 2006. - 504 С.