

ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИТЕЛ К I И II КЛАССУ HLA И MICA ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Хубутия М.Ш., Боровкова Н.В., Доронина Н.В., Пинчук А.В., Александрова И.В.

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, г. Москва

Целью настоящего исследования явилось исследование встречаемости антител к HLA и MICA среди пациентов из листа ожидания на трансплантацию почки и их влияние на течение посттрансплантационного периода. Определение антител к I и II классу HLA и MICA проводили на платформе Luminex (xMAP-технология) с помощью наборов LABScreen фирмы ONE LAMBDA (США). Обследовано 156 пациентов из листа ожидания на трансплантацию почки. Выявлено наличие антител к HLA и MICA в сыворотке крови 31,4% пациентов. У пациентов, ожидающих повторную трансплантацию почки, увеличенное содержание антител к антигенам системы HLA отмечалось в 88,2% случаев, в 47% случаев встречалось сочетание антител к I, II классам и MICA. У пациентов, ожидающих первичную трансплантацию почки, антитела к HLA и MICA определялись в 23,7% случаев. Наличие предрасположенных антител к HLA и MICA оказывает существенное влияние на течение посттрансплантационного периода. У пациентов с наличием антител к HLA и MICA в 50% случаев наблюдается отсроченная функция трансплантата и замедленное восстановление азотовыделительной функции. Сеансы плазмафереза позволяют снизить концентрацию антител к HLA и MICA в среднем на 61,1%.

Ключевые слова: антитела к HLA, антитела к MICA, трансплантация почки, посттрансплантационный период, плазмаферез.

IMPORTANCE OF RESEARCH HLA ANTIBODIES CLASS I AND II, AND MICA ANTIBODIES IN KIDNEY TRANSPLANTATION

Khubutia M.Sh., Borovkova N.V., Doronina N.V., Pinchuk A.V., Alexandrova I.V.

Sklifosovsky Clinical and Research Institute for Emergency Medicine, Moscow

The purpose of this study was to investigate the occurrence of HLA and MICA antibodies in patients from the waiting list for kidney transplantation and their influence on the course of post-transplant period. Determination of HLA antibodies class I and II, and MICA antibodies was performed on a platform of Luminex (xMAP-technology) using sets LABScreen ONE LAMBDA (U.S.). A total of 156 patients from the waiting list for kidney transplantation. Revealed the presence of HLA and MICA antibodies in the serum of 31.4% of patients. Re-grafted patients increased the content of antibodies to the antigens of HLA system was noted in 88.2% of cases, 47% met the combination of antibodies to the I, II classes and MICA. In patients awaiting first kidney transplantation, HLA and MICA antibodies were determined in 23.7% of cases. The presence of pretransplant HLA and MICA antibodies had a significant influence on the course of post-transplant period. Patients with the presence of HLA and MICA in 50% of cases delayed graft function. Sessions of plasmapheresis can reduce the concentration of HLA and MICA antibodies on average by 61.1%.

Key words: HLA antibodies, MICA antibodies, kidney transplantation, post-transplant period, plasmapheresis.

При трансплантации почки особое внимание уделяется пациентам, сенсibilизированным к антигенам системы HLA. Показано, что такие пациенты требуют более тщательного подбора донорских органов, а также применения активных мето-

дов десенсибилизации на этапах подготовки к операции и раннем послеоперационном периоде [1–3, 7]. По данным отечественных и зарубежных авторов, встречаемость антител к HLA у реципиентов из листа ожидания на трансплантацию почки состав-

Статья поступила в редакцию 04.07.11 г.

Контакты: Пинчук Алексей Валерьевич, к. м. н., зав. отделением пересадки почки и поджелудочной железы.

Тел. 8 903 960 78 53

ляет в среднем 30%. [5]. В настоящее время в ведущих медицинских центрах при постановке в лист ожидания определение уровня предрасполагающих HLA-антител является обязательным.

В последние годы в зарубежной литературе стали появляться сообщения о роли антител к MICA в развитии нарушения функции почечного аллотрансплантата. Это заставило разработчиков реагентов для определения антител к HLA включить дополнительно реактивы для скринингового определения антител к MICA. Гены MIC [4] (MHC class I-related chain A and B) были открыты в 1994 году. Они располагаются в области HLA-B-генов I класса на 6-й хромосоме. На настоящий момент открыто 7 локусов. Наиболее исследованы MICA и MICB гены, кодирующие гликопротеиды. Известно более 60 аллельных вариантов MICA и 25 – MICB. Белки, кодируемые генами MICA и MICB, обеспечивают активацию естественных киллеров и Т-лимфоцитов. Эндотелиальные клетки, экспрессирующие на своей поверхности MICA, могут стать мишенью для развития как гуморального, так и клеточного иммунного ответа при отторжении трансплантата.

Целью настоящего исследования явился анализ встречаемости антител к HLA и MICA среди пациентов из «листа ожидания» на трансплантацию почки и их влияние на течение посттрансплантационного периода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение антител к I и II классам HLA и MICA проводили на платформе Luminex (xMAP-технология) с помощью наборов LABScreen фирмы ONE LAMBDA (США). Тестируемые сыворотки инкубировали с LABScreen-микросферами, покрытыми очищенными HLA- и MICA-антигенами. Антитела к HLA и MICA, присутствующие в тестируемых сыворотках, связывались с антигенами на поверхности микросфер. Не связавшиеся компоненты удалялись путем трехкратной промывки буфером. Затем комплексы «антиген – антитело» метили при помощи античеловеческих антител, связанных с R-фикоэритрином. Детекцию света, излучаемого фикоэритрином от каждой микросферы проводили на приборе Luminex. Реактивность каждой сыворотки оценивали по интенсивности флуоресцентного сигнала от каждой микросферы, после коррекции неспецифического связывания по микросфере с негативным контролем. Результаты исследования выражали в условных единицах (у. е.). В норме содержание антител к антигенам HLA и MICA варьирует до 1,6 у. е.

С целью определения встречаемости антител к HLA и MICA обследованы сыворотки 156 пациентов, находящихся в листе ожидания трансплантации

почки. В зависимости от наличия трансплантации почки в анамнезе пациенты разделены на 2 группы. 1-ю группу составили 139 пациентов, ожидающих первичную трансплантацию почки. 17 пациентов 2-й группы находились в «листе ожидания» на повторную трансплантацию почки. Для оценки влияния наличия предрасполагающих антител на течение посттрансплантационного периода обследовано 70 пациентов (40 мужчин и 30 женщин в возрасте от 28 до 63 лет), которым трансплантация почки выполнена в НИИ СП им Н.В. Склифосовского в период с октября 2009-го по ноябрь 2010 гг. В зависимости от наличия предрасполагающих антител выделены две группы: основная группа – пациенты, сенсibilизированные к антигенам системы HLA (24 пациентов); группа сравнения – пациенты, у которых предрасполагающие антитела не выявлены (46 пациентов).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование антител к HLA проведено у 156 пациентов, ожидающих трансплантацию почки в НИИ скорой помощи им Н.В. Склифосовского. Выявлено, что предрасполагающие антитела к HLA и MICA определялись в сыворотке крови 31,4% пациентов. При анализе данных также отмечено, что наиболее сенсibilизированными оказались пациенты, имеющие A (II) и AB (IV) группы крови: антитела к HLA и MICA у них были выявлены в 38,3 и 42,8% случаев соответственно (табл. 1).

Таблица 1
Выявляемость антител к HLA и MICA у пациентов из листа ожидания на трансплантацию почки в зависимости от группы крови

Группа крови	Всего обследовано пациентов	Выявлены антитела	
		У пациентов	%
0 (I)	56	13	23,2
A (II)	60	23	38,3
B (III)	33	10	30,3
AB (IV)	7	3	42,8
Итого	156	49	31,4

Известно, что сенсibilизация к системе HLA происходит вследствие переливания донорской крови, беременности, трансплантации органов и тканей. С целью выявить влияние трансплантации органов и тканей на наличие антител к системе HLA и MICA проведены дополнительные исследования. Всех пациентов из листа ожидания разделили на две группы в зависимости от наличия операции по трансплантации органов и тканей в анамнезе. 1-ю группу составили 139 пациентов, ожидающих первичную трансплантацию почки. Во 2-й группу

вошли 17 пациентов, ожидающих повторную трансплантацию. Среди пациентов 1-й и 2-й групп провели сравнительный анализ встречаемости различных вариантов антител к I и II классам HLA и MICA (табл. 2).

Таблица 2

Встречаемость различных вариантов антител к I и II классам HLA и MICA у пациентов, ожидающих первичную (1-я группа) или повторную (2-я группа) трансплантацию почки

Варианты выявления антител	1-я группа пациентов (n = 139)	2-я группа пациентов (n = 17)
К I классу	12 (8,6%)	0
Ко II классу	9 (6,5%)	1 (5,9%)
К MICA	2 (1,4%)	1 (5,9%)
К I и II классам	6 (4,3%)	5 (29,4%)
К I классу и MICA	1 (0,7%)	0
К I, II классам и MICA	3 (2,2%)	8 (47%)
Не выявлены антитела	106 (76,3%)	2 (11,8%)

Выявлено, что у пациентов 2-й группы, ожидающих повторную трансплантацию почки, в 88,2% случаев отмечалось увеличенное содержание антител к антигенам системы HLA. Чаще всего встречалось сочетание антител к I, II классам и MICA (47%), в 29,4% повышенными были антитела к I и II классам. У пациентов, ожидающих первичную трансплантацию почки (1-я группа), как правило, регистрировали антитела только к I классу (8,6%) или только ко II классу (6,5%). Частота встречаемости антител к HLA у пациентов 1-й группы составила 23,7%. Сочетание антител ко II классу HLA и MICA у пациентов 1-й и 2-й группы не выявлено.

С целью оценить влияние предсуществующих антител к HLA на течение посттрансплантационного периода проанализированы результаты лечения 70 пациентов после пересадки почки. У 24 пациентов (основная группа) при постановке в лист ожидания было зарегистрировано повышенное содержание антител к I, II классам антигенов системы HLA, к MICA (10,0 у. е. и более при норме до 1,6 у. е.). У пациентов группы сравнения (46 человек) концентрация антител к HLA не превышала показатели физиологической нормы. В посттрансплантационном периоде у пациентов группы сравнения первичная функция почечного трансплантата отмечалась в 80,4% случаев, тогда как в основной группе у пациентов с наличием предсуществующих антител к HLA и MICA лишь в 50% наблюдений (табл. 3). Также выявлено, что у пациентов с предсуществующими антителами к HLA и MICA наблюдается более медленное восстановление азотвыделительной функции трансплантата. Так, нормализация креатинина и мочевины в период до 21 суток

после трансплантации наблюдалась лишь у 65% пациентов основной группы против 77,5% пациентов группы сравнения. Отсутствие нормализации показателей азотистого обмена до выписки из стационара у пациентов основной группы составило 26,6%, среди пациентов группы сравнения всего 7,5%.

Таблица 3

Особенности течения послеоперационного периода обследуемых больных

Группы	Основная группа (HLA-антитела)	Группа сравнения (без HLA-антител)
Первичная функция трансплантата	12 (50%)	37 (80,4%)
Развитие острого криза отторжения	4 (16,7%)	6 (13%)

На частоту развития реакции отторжения, наличие предсуществующих донор-неспецифических антител к HLA заметного влияния не оказывало. Так, острый криз отторжения зарегистрирован у 4 пациентов из 24 (16,7%) больных основной группы и у 6 пациентов из 46 в группе сравнения (13%). Это может быть связано с применением поликлональных антител в качестве индукционной иммуносупрессивной терапии и экстракорпоральных методов детоксикации у пациентов с предсуществующими антителами в послеоперационном периоде. Сверхострое отторжение, подтвержденное морфологически, диагностировано как в основной, так и в группе сравнения.

Таким образом, антитела к HLA и MICA определяются в сыворотке крови 31,4% пациентов из листа ожидания на трансплантацию почки, что соответствует данным литературы [5]. При этом у пациентов ожидающих повторную трансплантацию почки, повышенный титр антител к антигенам главного комплекса гистосовместимости регистрируется в 88,2% случаев. Наиболее часто встречается сочетание увеличенного содержания антител к I, II классам HLA и MICA (47%). Наличие предсуществующих антител к HLA и MICA оказывает существенное влияние на течение посттрансплантационного периода. У пациентов с повышенным уровнем антител к главному комплексу гистосовместимости в 50% случаев наблюдается отсроченная функция трансплантата и замедленное восстановление азотвыделительной функции. Пациенты с антителами к HLA и MICA требуют более тщательного подбора донорских органов. Также, по данным литературы [1, 6], с целью улучшения результатов трансплантации почки необходимо проведение десенсибилизирующей терапии с применением плазмафереза.



Рис. 1. Динамика уровня антител к I классу HLA у больного Ч. ПА – процедура плазмафереза (то же на рис. 2)

С целью оценить эффективность плазмафереза для удаления антител к HLA и MICA обследовано 8 пациентов, из них у 3 плазмаферез проводился в предтрансплантационном периоде и у 5 – после трансплантации почки. Плазмаферез пациентам проводили на аппарате «Prisma, комплект-TPE 2000» фирмы «Gambro-Hospal» Швеция. Для предотвращения экстракорпорального свертывания при проведении процедуры применяли непрерывное введение гепарина в дозе 30–50 ед/кг/ч. Объем удаленной плазмы за одну процедуру составил 0,6–0,8 объема циркулирующей плазмы (ОЦП). Замещение осуществляли свежемороженой донорской плазмой на 80–100%, 5% раствором альбумина на 10% и кристаллоидными растворами на 10%. У всех обследованных пациентов после проведения сеансов плазмафереза отмечали снижение антител к HLA и MICA на $61,1 \pm 5,9\%$. Положительный эффект от процедуры сохранялся в течение 1–2 недель.

В качестве примера приведем динамику содержания HLA-антител у больного Ч., плазмаферез которому проведен перед и после операции по повторной трансплантации почки (рис. 1). При постановке в лист ожидания уровень HLA-антител соответствовал физиологической норме. На 2-е сутки посттрансплантационного периода отмечено незначительное увеличение концентрации антител к I-му классу главного комплекса гистосовместимости (3,6 у. е.). На 3-и сутки концентрация HLA-антител нормализовалась, при этом у пациента функция трансплантата отсутствовала, отмечались признаки криза отторжения. На фоне острого гуморального отторжения произошел разрыв трансплантата, в связи с чем он был удален на 4-е сутки. После отмены иммуносупрессии к 7-м суткам посттрансплантационного периода и на 3-и сутки после удаления трансплантата отмечалось резкое увеличение уровня антител к HLA до 80,0 у. е. После 3 сеансов плаз-

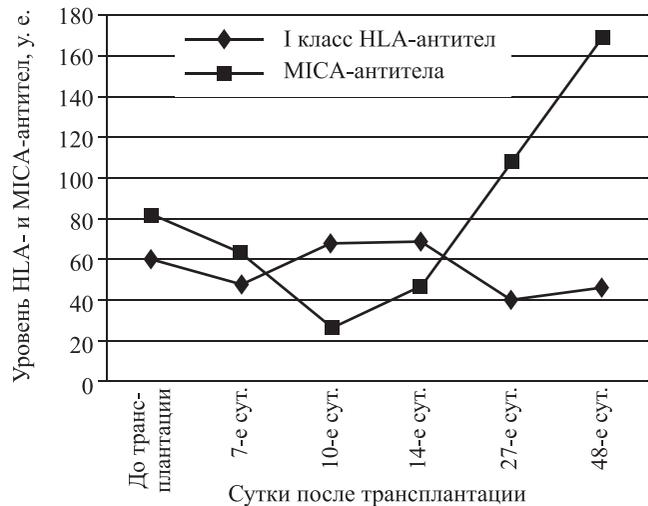


Рис. 2. Динамика уровня антител к I классу HLA и MICA у больного Р.

мафереза концентрация антител к HLA снизилась до 46,0 у. е. Повторная трансплантация аллогенной трупной почки на 50-е сутки. На 2-е сутки отмечалось резкое увеличение антител к HLA до 73,0 у. е. Начиная со 2-х суток проведено 3 сеанса плазмафереза, в результате уровень антител к HLA уже к 7-м суткам снизился до 24,0 у. е. Послеоперационный период протекал без осложнений, отмечалась первичная функция трансплантата, показатели азотистого обмена восстановились на 12-е сутки. Концентрация антител к HLA при выписке составила 14,0 у. е.

Больной Р., диагноз: хронический гломерулонефрит, состояние после аллотрансплантации трупной почки слева от 2002 г., хроническое отторжение трансплантата. Еще при постановке в «лист ожидания» у пациента отмечен высокий уровень антител (рис. 2): 61,4 у. е. к I классу, 112,0 у. е. ко II классу HLA и 82,6 у. е. к MICA. Со 2-х суток посттрансплантационного периода пациенту проводились сеансы плазмафереза, что способствовало снижению уровня HLA-антител к I классу и к MICA. У пациента отмечена первичная функция трансплантата, нормализация азотовыделительной функции к 16-м суткам. К 27-м суткам у пациента отмечено резкое увеличение титра антител к MICA (до 108 у. е.). На 35-е сутки после трансплантации в связи с нарастанием азотемии (креатинин 280 мкмоль/л, мочевина 18 ммоль/л) проведена пульс-терапия преднизолоном (1,875 г). Пациенту проведена конверсия с такролимуса на циклоспорин А в связи с высокой нефротоксичностью прографа, с селлсепта на майфортин, а далее – на азатиоприн в связи с тяжелыми кишечными осложнениями (выраженная неконтролируемая диарея). На фоне проводимой терапии состояние больного улучшилось, функция нефротранспланта-

та нормализовалась. Диурез 2000–2500 мл/сут. Однако уровень антител к HLA и MICA оставался высоким, без тенденции к снижению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у 31,4% реципиентов из «листа ожидания» на трансплантацию почки определяется повышенный уровень предсуществующих антител к HLA и MICA. Среди пациентов, ожидающих повторную трансплантацию, высокие концентрации антител к HLA и MICA отмечаются в 88,2% случаев. Эти пациенты требуют более тщательного подбора донорских органов, проведения предоперационной подготовки, включающей методы экстракорпоральной гемокоррекции. Наличие антител к HLA и MICA влияет на течение посттрансплантационного периода и выживаемость трансплантата, и этот вопрос требует дальнейшего всестороннего изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Akalin E., Dinavahi R., Friedlander R. et al. Addition of Plasmapheresis Decreases the Incidence of Acute Antibody-Mediated Rejection in Sensitized Patients with Strong Donor-Specific Antibodies // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2008. Vol. 3. №. 4. P. 1160–1167.
2. Rebellato L.M. et al. Clinical and anti-HLA antibody profile of nine renal transplant recipients with failed grafts: donor specific and non-donor-specific antibody development // Clinical transplants. 2006. P. 241–254.
3. Mizutani K., Shibata L., Ozawa M. et al. Detection of HLA and MICA antibodies before kidney graft failure / Clinical transplants. 2006. P. 255–264.
4. Morales-Buenrostro L.-E., Rodriguez-Romo R., de Leo C. et al. HLA and MICA antibodies: further evidence of their impact on graft loss two years after their detection // Clinical transplants. 2006. P. 207–218.
5. Lachmann N. Donor-specific HLA antibodies in chronic renal allograft rejection: a prospective trial with a four-year follow-up / N. Lachmann, P.I. Terasaki, C. Schone-mann // Clinical transplants. 2006. P. 171–200.
6. Lefaucheur C., Loupy A., Hill G.S. et al. Preexisting Donor-Specific HLA Antibodies Predict Outcome in Kidney Transplantation // Journal of American Society of Nephrology. 2010. Vol. 21. №. 8. P. 1398–1406.
7. Terasaki P.I., Ozawa M. Predicting Kidney Graft Failure by HLA Antibodies: A Prospective Trial // American Journal of Transplantation. 2004. Vol. 4. №. 3. P. 438–443.