

УРОВЕНЬ sCD30 ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ С ВРОЖДЕННЫМИ И НАСЛЕДСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ И ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Олефиренко Г.А., Пищулина М.Э.,
Цирульникова И.Е., Бугров А.В., Андрианова А.А., Готье С.В.

ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»
Минздравсоцразвития РФ, г. Москва

Растворимая форма CD30 (sCD30) является маркером активации T-лимфоцитов, а измерение его уровня в плазме крови используется для мониторинга острого отторжения после трансплантации сердца, легкого и почки. Изучено содержание sCD30 в плазме крови детей до и после родственной трансплантации фрагмента печени и связь его динамики с течением послеоперационного периода.

В исследование включено 72 ребенка с терминальной стадией заболеваний печени в возрасте 17 ± 11 (4–28) месяцев, 15 здоровых детей в возрасте $9,9 \pm 5,7$ (3–21) и 38 доноров фрагмента печени в возрасте 37 ± 19 (18–56) лет. Уровень sCD30 у детей до трансплантации ($84,9 \pm 43,8$ нг/мл) был значительно выше, чем у доноров и здоровых детей ($26,4 \pm 12,0$ и $32,6 \pm 6,9$ нг/мл соответственно, $p < 0,01$). Уровень sCD30 в плазме крови реципиентов с клиническими и биохимическими признаками дисфункции трансплантата, развившейся на 28–32-е сутки после трансплантации ($108,9 \pm 17,7$ нг/мл), был выше, чем у реципиентов без осложнений ($40,2 \pm 5,3$ нг/мл, $p < 0,01$). У всех реципиентов с дисфункцией трансплантата повышение уровня sCD30 обнаружено за 2–5 дней до появления роста активности ферментов печени. Измерение концентрации sCD30 у реципиентов печени целесообразно для мониторинга течения посттрансплантационного периода.

Ключевые слова: sCD30, трансплантация печени.

PLASMA LEVEL OF SOLUBLE CD30 IN PEDIATRIC LIVING-DONOR LIVER TRANSPLANT PATIENT

Shevchenko O.P., Tsirulnikova O.M., Olefirenko G.A., Pishchulina M.E.,
Tsirulnikova I.E., Bugrov A.V., Andrianova A.A., Gautier S.V.

Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

Soluble CD30 (sCD30) is a marker of T-lymphocytes activation and is used for monitoring rejection in patients after heart, lung and renal transplantation. The aim of the study was to evaluate plasma levels of sCD30 in children before and after living-donor liver transplantation (LDLT) and its relationship with the postoperative course. The study included 72 children with end-stage liver disease (ESLD), aged 17 ± 11 (4–28) months before and after LDLT, 15 healthy children aged 9.9 ± 5.7 (3–21) months and 38 adult living-related liver donors, aged 37 ± 19 (18–56) years.

In children with ESLD pre-transplant plasma level of sCD30 ($84,9 \pm 43,8$ ng/ml) was significantly higher than in healthy donors and healthy children (26.4 ± 12.0 and 32.6 ± 6.9 ng/ml, resp., $p < 0.01$). After LDLT plasma level of sCD30 was higher in children, who had graft dysfunction at days 28–32 (108.9 ± 17.7 ng/ml) after LDLT than in children who had no graft dysfunction (40.2 ± 5.3 ng/ml, $p < 0.01$). In patients with graft dysfunction elevation of sCD30 concentration was observed before 2–5 days increasing of liver enzyme activity. The measurement of sCD30 concentration may be useful for monitoring of the postoperative course.

Key word: sCD30, liver transplantation.

Статья поступила в редакцию 14.10.11 г.

Контакты: Олефиренко Галина Александровна, главный научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной биохимии, д. м. н.

Тел. 8 916 108 27 15 (моб.), 8 (499) 190 53 41 (сл.), e-mail: transplant2009@mail.ru

В настоящее время многочисленные исследования в клинической трансплантологии посвящены изучению возможности использования биохимических и иммунологических маркеров для неинвазивного контроля за течением посттрансплантационного периода. Одним из наиболее важных направлений является анализ маркеров активации иммунной системы, способных служить предикторами и индикаторами отторжения, инфекции и других послеоперационных осложнений. К числу таких биомаркеров относят неоптерин, CD154, растворимую форму CD30 (sCD30) и др. [3, 4].

CD30 представляет собой трансмембранный гликопротеин, экспрессирующийся преимущественно на поверхности Т-лимфоцитов человека (CD4+ и CD8+), CD45RO(+) Т-клетках памяти, секретирующих цитокины, характерные для иммунного ответа по Th2-типу. Растворимая форма CD30 образуется после активации Т-клеток [10].

Установлено, что измерение концентрации sCD30 в плазме крови реципиентов может быть использовано для раннего выявления отторжения почки, легкого, сердца, оценки риска развития посттрансплантационной инфекции, а также коррекции иммуносупрессивной терапии [1, 15, 16, 20]. У реципиентов почки уровень sCD30 коррелирует со степенью выраженности морфологических признаков отторжения трансплантата [11].

Цель данного исследования – определить диагностическое значение sCD30 в отношении оценки течения раннего посттрансплантационного периода после трансплантации печени детям раннего возраста с врожденными и наследственными заболеваниями печени и желчевыводящих путей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 72 ребенка в возрасте от 6 до 28 (17 ± 11) месяцев, 33 мальчика и 39 девочек. Основными заболеваниями, которые привели к циррозу печени, были атрезия желчевыводящих путей – 50 пациентов, болезнь Байлера – 9, синдром Алажиля – 7, болезнь Кароли – 6 детей. Всем пациентам была выполнена ортотопическая трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора. После трансплантации пациентам назначалась двух-трехкомпонентная иммуносупрессивная терапия, включающая такролимус или циклоспорин А.

В группу сравнения вошли 15 детей, 13 мальчиков и 2 девочки, в возрасте от 3 до 21 (9,9 ± 5,7) месяца, у которых не было признаков заболеваний печени и инфекционно-воспалительных заболеваний. Все дети проходили плановое диспансерное обследование после перенесенного дисбактериоза. Также было обследовано 38 родственных доноров фраг-

мента печени (22 мужчины и 16 женщин) в возрасте от 18 до 56 (37 ± 19) лет.

В качестве материала для исследования была использована плазма крови, которую получали до трансплантации на 5–7-е, 12–15-е и 21–24-е, 24–32-е сутки, а также спустя 1 год после трансплантации фрагмента печени.

Плановое клинико-лабораторное обследование включало общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, определение активности ферментов печени, анализ коагулограммы, измерение концентрации такролимуса и циклоспорина, вирусологическое и бактериологическое исследования. Помимо рутинных биохимических исследований, в плазме крови пациентов с помощью иммуноферментного метода измеряли концентрацию sCD30 («BenderMedSystems», Австрия), неоптерина и гепсидина («IBL», Германия). Анализ концентрации С-реактивного белка проводили методом иммунотурбидиметрии в микропланшетном формате («Orion», Финляндия).

Статистическая обработка результатов исследования производилась с использованием пакета прикладных программ для научно-технических расчетов SPSS 11.5 (LEAD Technologies Inc., США). Достоверность различий количественных параметров в двух группах определялась по t-критерию Стьюдента (для признаков с нормальным распределением). Для оценки связи количественных и качественных признаков рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У детей с циррозом, развившимся вследствие врожденных и наследственных заболеваний печени и желчевыводящих путей, средний уровень sCD30 до трансплантации печени составил 84,9 ± 43,8 нг/мл и был достоверно выше, чем у доноров фрагмента печени (26,4 ± 12,0 нг/мл) и детей, вошедших в группу сравнения (32,6 ± 6,9 нг/мл) (рис. 1). У 67% включенных в исследование детей содержание sCD30 было выше 66,7 нг/мл, что принято за верхнюю границу референтных значений для взрослых, тогда как ни у одного из здоровых взрослых – родственных доноров печени – или детей группы сравнения уровень sCD30 не превысил этого значения. Концентрация sCD30 не зависела от возраста пациентов ($r = 0,19$, $p < 0,05$), а средний уровень sCD30 достоверно не отличался у мальчиков и девочек (85,6 ± 40,2 и 84,4 ± 47,50 нг/мл, соответственно, $p > 0,05$). Не было выявлено корреляции уровня sCD30 с уровнями общего билирубина и креатинина, активностью ферментов печени: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатамино-трансферазы (АСТ) и гамма-глутамилтрансферазы

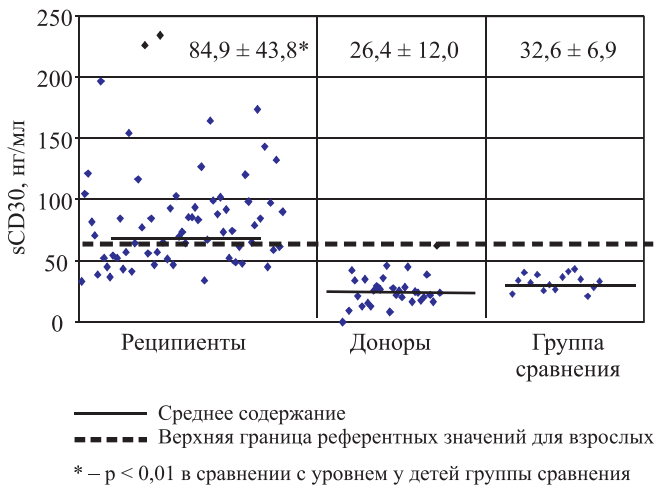


Рис. 1. Уровни sCD30 до трансплантации у детей, страдающих врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы, и здоровых лиц

(ГГТ), а также концентрацией С-реактивного белка и гепсидина, с уровнем неоптерина обнаружена слабая положительная корреляция ($r = 0,44, p = 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительный анализ уровня sCD30 в плазме крови детей с врожденными и наследственными заболеваниями печени с другими биохимическими параметрами

Параметры	Коэффициент корреляции, r	Достоверность, p
Общий билирубин, мкмоль/л	0,03	0,091
Креатинин, ммоль/л	0,1	0,089
АЛТ, ед/л	0,18	0,087
АСТ, ед/л	0,15	0,086
ГГТ, ед/л	0,12	0,092
ЩФ, ед/л	0,15	0,154
СРБ, мг/л	0,17	0,085
Гепсидин, нг/мл	0,09	0,085
Неоптерин	0,44	0,05

После трансплантации печени уровень sCD30 постепенно снижается, и к 21-му дню его среднее содержание в плазме крови реципиентов ($64,3 \pm 29,0$ нг/мл) достоверно ниже, чем до операции ($84,9 \pm 43,8$ нг/мл, $p < 0,01$). У доноров в течение первого месяца после резекции доли печени изменения содержания sCD30 незначительны (рис. 2).

У 16 из включенных в исследование реципиентов печени на 26–32-е сутки после операции была диагностирована дисфункция трансплантата, биохимическими признаками которой было повышение активности ферментов печени, которая была купирована после коррекции иммуносупрессивной терапии. До трансплантации среднее содержание sCD30 в плазме крови детей с врожденными и наследствен-



Рис. 2. Динамика уровня sCD30 в плазме крови реципиентов после трансплантации печени

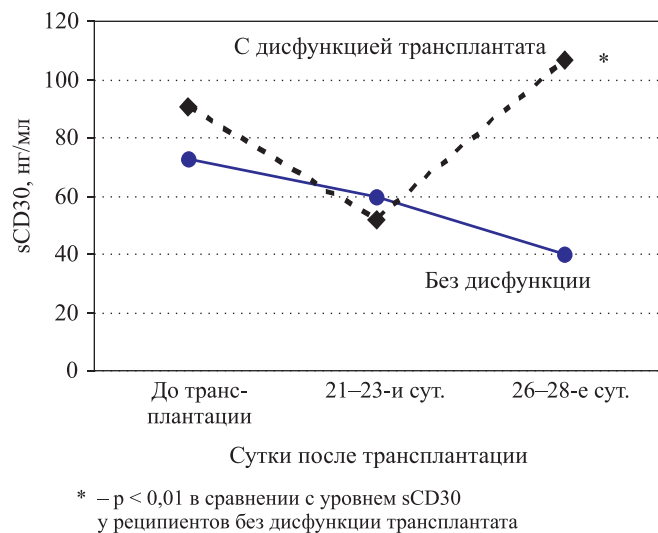


Рис. 3. Динамика уровня sCD30 в плазме крови детей с различным течением посттрансплантационного периода

ными заболеваниями печени не различалось у пациентов с развитием дисфункции трансплантата в послеоперационном периоде и без таковой: $88,4 \pm 23,7$ и $79,9 \pm 21,9$ нг/мл соответственно. После трансплантации динамика уровня sCD30 у реципиентов с дисфункцией трансплантата отличалась от таковой у остальных реципиентов. Среднее содержание sCD30 у всех реципиентов постепенно снижалось, тогда как в группе реципиентов с дисфункцией трансплантата к концу первого месяца происходило значительное повышение уровня sCD30 (рис. 3).

У всех реципиентов с дисфункцией трансплантата повышение уровня sCD30 обнаружено за 2–5 дней до того, как было выявлен рост активности ферментов печени.

Ниже приводятся выписки из историй болезни реципиентов печени с различным течением послеоперационного периода. В первом случае у ребенка в течение первого месяца после трансплантации фрагмента печени не было выявлено признаков дисфункции трансплантата и инфекционных осложнений.

Ребенок Ч., 5 мес. Диагноз при поступлении: цирроз печени в исходе атрезии желчевыводящих путей, синдром портальной гипертензии (гепато-спленомегалия), холестаза, печеночно-клеточная недостаточность. Состояние после операции по Касаи.

Анамнез: ребенок от 2-й беременности, 2 родов. Беременность протекала с токсикозом в первом триместре, роды в срок. Вес при рождении 3300 г, рост 52 см, оценка по шкале Апгар 9–9 баллов. Выписан с физиологической желтухой под наблюдение педиатра. В возрасте 2,5 мес. диагностирована атрезия желчевыводящих путей. В 4 мес. проведена операция по Касаи без положительного эффекта. Состояние ребенка ухудшалось, нарастала желтуха, увеличивался объем живота. Госпитализирован в ФГУ ФНЦТИО по программе трансплантации фрагмента печени от живого родственного донора. Донор – тетя. Cross-match отрицательный, по HLA-системе совпадение по 3 антигенам.

При поступлении (по данным УЗИ и КТ органов брюшной полости): гепато-, спленомегалия, признаки портальной гипертензии, асцит. По результатам биохимического анализа крови – признаки холестаза, печеночно-клеточной недостаточности. В пятимесячном возрасте выполнена ортотопическая родственная трансплантация левого латерального сектора печени. Послеоперационное течение без осложнений.

Результаты биохимического анализа крови

Параметры \ Период	АЛТ, ед/л	АСТ, ед/л	ГГТ, ед/л	ЩФ, ед/л	Билирубин общий, мкмоль/л	sCD30, нг/мл
До операции	169	335	536	2177	336,9	88,1
7-е сутки п/о	255	154	128,8	517	35,7	92,3
14-е сутки п/о	86,5	42,4	110,9	366	17,3	67,2
21-е сутки п/о	47,2	32	79,7	308	17,1	34,5

В приведенном примере у ребенка наблюдалась постепенная нормализация биохимических показателей, отражающих функциональное состояние печени. Концентрация sCD30 постепенно снижалась, достигая к 21-м суткам значения, характерного для детей группы сравнения. Подобные результаты наблюдались у всех реципиентов фрагмента

печени с неосложненным течением послеоперационного периода.

Далее представлена выписка из истории болезни реципиента фрагмента печени с дисфункцией трансплантата, развившейся на 26-е сутки.

Реципиент А., 14 мес. Диагноз: цирроз печени в исходе атрезии желчевыводящих путей, синдром портальной гипертензии (гепато-, спленомегалия), холестаза, печеночно-клеточная недостаточность.

Анамнез: ребенок от 2-й беременности, протекавшей с угрозой прерывания в 1-м и 2-м триместрах. Желтуха с рождения. В 2,5 мес. выполнена операция по Касаи с временным положительным эффектом. В дальнейшем – постепенное ухудшение состояния, неоднократные госпитализации. Дополнительно получал гормональную терапию. В возрасте 11 мес. госпитализирован в ФГУ ФНЦТИО по программе трансплантации фрагмента печени от живого родственного донора.

При поступлении: гепато-, спленомегалия, признаки портальной гипертензии, асцит. По результатам биохимического исследования крови признаки холестаза, печеночно-клеточной недостаточности. Донор – отец. Cross-match отрицательный, по HLA-системе совпадение по 3 антигенам.

В возрасте 14 месяцев ребенку выполнена ортотопическая родственная трансплантация левого латерального сектора печени. Течение послеоперационного периода осложнилось развитием рецидивирующего кровотечения из варикозно-расширенных вен пищевода на 2-е сутки после трансплантации. На 26-е сутки диагностирована дисфункция трансплантата на фоне дефицита иммуносупрессии, в связи с чем была проведена коррекция иммуносупрессивной терапии.

Результаты биохимического анализа крови

Параметры \ Период	АЛТ, ед/л	АСТ, ед/л	ГГТ, ед/л	ЩФ, ед/л	Билирубин общий, мкмоль/л	sCD30, нг/мл
До операции	24,9	72	101,4	754	775	47,9
7-е сутки п/о	33,9	21	66	364	332,6	88,1
14-е сутки п/о	8,9	16,9	25,6	335	56,7	64,3
21-е сутки п/о	28,1	87,1	47,7	544	59,6	99,5

В описанном примере у ребенка после постепенного снижения активности ферментов печени и уровня sCD30 на 21-е сутки после операции зафиксировано повышение концентрации sCD30. На 26-е сутки после трансплантации у этого реципиента обнаружено повышение активности ферментов печени, свидетельствующее о дисфункции трансплантата.

Сходная динамика sCD30 выявлена и у других реципиентов с дисфункцией трансплантата.

Повышение уровня sCD30 служит показателем активации Т-лимфоцитов и описано при заболеваниях, связанных с активацией иммунной системы: системных ревматических, вирусных и некоторых опухолях. Доказано, что уровень sCD30 в сыворотке крови коррелирует с клинической фазой заболевания и отражает активность процесса [7, 8]. У обследованных нами детей с врожденными и наследственными заболеваниями желчевыводящих путей среднее содержание sCD30 было выше, чем у доноров печени и здоровых детей.

Растворимую форму CD30 предложено использовать в качестве маркера отторжения у реципиентов почки, легкого, сердца [1, 2, 12]. Результаты исследований у пациентов до и после пересадки печени неоднозначны. Так, Faberga E. и соавт., Kim K.N. и соавт. показали, что измерение уровня sCD30 может быть полезным для ранней диагностики острого отторжения пересаженной печени, поскольку повышение уровня растворимой формы CD30 у пациентов в раннем периоде после трансплантации печени связано с развитием эпизодов отторжения трансплантата [11, 13]. Truong и соавт. измеряли уровень sCD30 у реципиентов печени. Было обнаружено, что в группе реципиентов, у которых развилось острое отторжение в течение первого месяца после трансплантации, уровень sCD30 на 7-е сутки после трансплантации повышен в сравнении с уровнем до операции, а также в сравнении с реципиентами с нормальной функцией трансплантата (20). Однако другие исследователи, изучавшие возможность использования sCD30 в качестве предиктора отторжения пересаженной печени, не обнаружили его связи с отторжением трансплантата [14].

В нашем исследовании у реципиентов фрагмента печени в течение первого месяца после операции при развитии дисфункции трансплантата содержание sCD30 было достоверно выше, чем у детей с неосложненным течением послеоперационного периода. Полученные данные указывают на участие иммунных механизмов в развитии наблюдаемой у реципиентов дисфункции трансплантата, диагностированной на основании биохимических признаков. Диагностическая чувствительность повышенного уровня sCD30 (>60,5 нг/мл) у реципиентов с дисфункцией трансплантата составила 88%, диагностическая специфичность – 73%. Более того, у обследованных нами реципиентов повышение уровня указанного маркера было зафиксировано за 2–5 дней до изменений активности ферментов печени, что может иметь важное прогностическое значение.

Результаты настоящего исследования позволяют сделать следующие заключения.

У детей с врожденными и наследственными заболеваниями печени и желчевыводящих путей содержание sCD30 в плазме крови выше, чем у здоровых детей того же возраста и здоровых взрослых.

Динамика уровня sCD30 различается у реципиентов с различным течением посттрансплантационного периода. У реципиентов с неосложненным течением уровень sCD30 достоверно снижается к концу первого месяца после трансплантации. У реципиентов с дисфункцией трансплантата концентрация sCD30 в плазме крови достоверно выше, чем у реципиентов без осложнений. Повышение уровня sCD30 в плазме крови реципиентов печени происходит за 2–5 дней до повышения активности ферментов печени.

Измерение концентрации sCD30 у реципиентов после трансплантации печени может быть полезным для наблюдения за течением послеоперационного периода и прогнозирования развития дисфункции трансплантата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арзуманов С.В., Ватазин А.В., Москалец О.В. и соавт. Иммунологический мониторинг и роль sCD30 в диагностике острого отторжения трансплантационной почки // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2008. 4 (42). С. 11–14.
2. Бугров А.В., Казаков Э.Н., Кормер А.Я. и соавт. Роль растворимого CD30 (sCD30) при трансплантации сердца // Материалы III Конгресса московских хирургов «Неотложная и специализированная хирургическая помощь». Москва. 2009. С. 136–137.
3. Готье С.В., Константинов Б.А., Цирульникова О.М. Трансплантация печени // М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 296 с
4. Готье С.В., Шевченко О.П. Новые лабораторные тесты – новое в клинической трансплантологии // Лабораторная медицина в свете концепции развития здравоохранения России до 2020 года. 2009. С. 82–94.
5. Шевченко О.П., Орлова О.В., Бугров А.В., Долгов В.В. Уровень растворимого CD30 (sCD30) в плазме крови больных сердечной недостаточностью связан с отдаленным прогнозом после трансплантации сердца (ТС) // Вестник трансплантологии и искусственных органов: Материалы IV Всероссийского съезда трансплантологов. 2008. С. 34–35.
6. Ayed K., Abdallah T.B., Bardi R. Plasma levels of soluble CD30 in kidney graft recipients as predictors of acute allograft rejection // Transplant Proc. 2006. Vol. 38. P. 2300–2302.
7. Bharat A., Narayanan K., Golocheikine A. et al. Elevated soluble CD30 characterizes patients with hepatitis C virus-induced liver allograft cirrhosis // Transplantation. 2007. Vol. 84 (12). P. 1704–1707.
8. Castillo F.M., Romero T.A., Estevez J. Concentrations of Cytokines, Soluble Interleukin-2 Receptor, and Soluble CD30 in Sera of Patients with Hepatitis B Virus Infection during Acute and Convalescent Phases // Clinical

- and diagnostic laboratory immunology. 2002. P. 1372–1375.
9. *Cinti P., Pretagostini R., Arpino A. et al.* Evaluation of pretransplant immunologic status in kidney-transplant recipients by panel reactive antibody and soluble CD30 determinations // *Transplantation*. 2005. Vol. 79. P. 1154–1156.
 10. *Del Prete G., De Carli M., Almerigogna F. et al.* Preferential expression of CD30 by human CD 4+ T cells producing Th2-type cytokines // *FASEB J.* 1995. Vol. 9. P. 81–86.
 11. *Fabrega E., Unzueta M.G., Cobo M.* Value of soluble CD30 in liver transplantation // *Transp. Proc.* 2007. Vol. 39 (7). P. 2295–2296.
 12. *Golocheikine A.S., Saini D., Ramachandran S. et al.* Soluble CD30 levels as a diagnostic marker for bronchiolitis obliterans syndrome following human lung transplantation // *Transplant. Immunol.* 2008. Vol. 18. P. 260–263.
 13. *Kim K.H., Oh E.J., Jung E.S. et al.* Evaluation of pre- and posttransplantation serum interferon-gamma and soluble CD30 for predicting liver allograft rejection // *Transp. Proc.* 2006. Vol. 38 (5). P. 1429–1431.
 14. *Matinlauri I. et al.* High serum soluble CD30 does not predict acute rejection in liver transplant patients // *Transp. Proc.* 2006. Vol. 38. P. 3601–3604.
 15. *Nikaein A., Spiridon C., Hunt J. et al.* Pre-transplant level of soluble CD30 is associated with infection after heart transplantation // *Clin. Transplant.* 2007. Vol. 21. P. 744–747.
 16. *Pelzl S., Opelz G., Weisel M. et al.* Soluble CD30 as a predictor of kidney graft outcome // *Transplantation*. 2002. Vol. 73. P. 3–6.
 17. *Rajakariar R., Jivanji N., Varagunam L. et al.* High pre-transplant soluble CD30 levels are predictive of the grade of rejection // *Am. J. Transpl.* 2005. Vol. 5. P. 1922–1925.
 18. *Shevchenko O.P., Pitshulina M.E., Gichkun O.E. et al.* Plasma levels of soluble CD30 and neopterin in pediatric living donors liver transplantation // 2010, Vancouver, Canada.
 19. *Shevchenko O.P., Tsirulnikova O.M., Gichkun O.E. et al.* Plasma levels of soluble CD30 and CD40L in pediatric patients after liver transplantation // 21st International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 15–19 May, 2011, Berlin, Germany.
 20. *Truong D.Q., Darwish A.A., Gras J.* Immunological monitoring after organ transplantation: potential role of soluble CD30 blood level measurement // *Transpl. Immunol.* 2007. Vol. 17. P. 283–287.