

**С.В. ЗЫБЛЕВА, С.Л. ЗЫБЛЕВ**

## **ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ**



практическое пособие для врачей



РНПЦ  
**РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ**  
И  
ЭКОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

2020 г.

УДК 616.61-089.843:612.0171(078:8)

Рекомендовано Ученым советом ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» в качестве  
практического руководства для врачей протокол №16 от 28.12.2020

Составители:

ученый секретарь ГУ «Республиканский научно-практический центр  
радиационной медицины и экологии человека», к.м.н. С.В. Зыблева;  
Врач-хирург хирургического отделения (трансплантации, реконструктивной  
и эндокринной хирургии) ГУ «Республиканский научно-практический центр  
радиационной медицины и экологии человека», к.м.н., доцент С.Л. Зыблев;

Р е ц е н з е н т ы:

Врач-нефролог ГУ «Республиканский научно-практический центр  
радиационной медицины и экологии человека» Свистунова Е.А.  
Врач лабораторной диагностики отделения трансфузиологии учреждения  
«Гомельская областная клиническая больница», к.м.н., доцент Т.В. Петренко  
Доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и  
ПК ВГМУ, к.м.н., доцент И.Н. Щурок

Зыблева, С.В. Иммунологический мониторинг при трансплантации почки  
(практическое руководство для врачей) / С.В.Зыблева, С.Л. Зыблев – Гомель.:  
ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2020. – 22 с.

В практическом руководстве осяцены вопросы иммунологической  
диагностики при трансплантации почки. Описаны особенности НЛА-  
типирования, определение аллоантител, освещены вопросы совместимости  
донор-реципиент.

Практическое пособие предназначено для врачей-иммунологов, врачей-  
трансплантологов, врачей лабораторной диагностики. Может быть  
использовано при реализации образовательных программ повышения  
квалификации руководящих работников и специалистов.

УДК 616.61-089.843:612.0171(078:8)

© Составители: Зыблева С.В., Зыблев С.Л., 2020

© Оформление. ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1. АНТИГЕНЫ СИСТЕМЫ HLA	5
2. ОТТОРЖЕНИЕ ТРАНСПЛАНТАТА	7
3. ВИДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	9
4. HLA-ТИПИРОВАНИЕ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ	9
4.1 Серологическое HLA-типирование	10
4.2 Молекулярное HLA-типирование	11
4.3 Современная HLA-номенклатура	12
5. Исследования НА HLA-антитела	12
5.1 Анализ антител и их идентификация	12
5.2 Специфическая идентификация антител	13
6. Оценка перекрестной совместимости для трансплантации солидного органа	14
6.1 Стандартный тест перекрестной совместимости по комплементзависимой цитотоксичности (cross-match)	15
6.2 Оценка перекрестной совместимости с помощью проточной цитометрии	16
6.3 Оценка перекрестной совместимости с помощью Lumineх	16
6.4 Интерпретация результатов пробы перекрестной совместимости (cross-match)	17
6.5 Аутосовместимость	18
7. Посттрансплантационный мониторинг	19
8. Список литературы	20

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

CD – кластер дифференцировки лимфоцитов

ХПН – хроническая почечная недостаточность

PRR – pattern-recognition receptor

TLR - TOLL-like рецепторы

НК – натуральные киллеры

ИЛ - интерлейкины

HLA – главный комплекс гистосовместимости

ИФТ – иммунофенотипирование

МКАТ– моноклональные антитела

CD – кластеры дифференцировки

## **ВВЕДЕНИЕ**

Иммунный ответ на трансплантат является сложным, не только благодаря характеру, которым распознается аллогенный HLA-антиген, но и благодаря реагированию на данное распознавание, которое обычно приводит к повреждению трансплантата. Распознавание антигена иммунными клетками, играет центральную роль. Иерархия важности всех эффекторных механизмов зависит от типа и природы трансплантата, несовместимости между донором и реципиентом и типом используемой иммуносупрессии.

Настоящее практическое пособие предназначено для трансплантационной диагностики, включающей HLA-типирование, скрининг антител к антигенам системы HLA, а также оценки перекрестной совместимости доноров и реципиентов при трансплантации почки.

## **1. АНТИГЕНЫ СИСТЕМЫ HLA**

HLA (Human Leukocyte Antigens) представляет собой систему антигенов на поверхности клеток человека, ответственных за распознавание «свое» и «чужое» в организме. Гены, кодирующие HLA, локализованы на коротком плече 6 хромосомы и подразделяются на отдельные локусы. Наиболее значимыми при иммунном ответе являются локусы HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ и HLA-DP.

Антигены HLA-A, HLA-B и HLA-C (класс I) обнаруживаются на всех ядродержащих клетках организма, включая клетки почек, сердца, легких, печени, а также на поверхности тромбоцитов.

Антигены HLA-DR, HLA-DQ и HLA-DP (класс II) в норме присутствуют на антигенпрезентирующих клетках, таких как дендритные клетки, макрофаги, В-лимфоциты, а также активированные Т-лимфоциты и клетки эндотелия. Экспрессия молекул HLA класса II может быть индуцирована у клеток, которые в норме не экспрессируют эти молекулы (например, во время инфекций и эпизодов воспаления, в том числе при реперфузии органа). Несоответствия

между тканевым типом донора и тканевым типом реципиента – это важные стимулы, ведущие к тому, что иммунная система пациента распознает «чужую ткань» и приведет к отторжению пересаженного органа. Хотя несоответствия по системе HLA провоцируют мощный иммунный ответ, существует ряд других антигенов, способных вызвать клинически значимую иммунную реакцию.

Одним из таких клинически значимых стимулов, не относящихся к системе HLA, является семейство антигенов MICA (MHC class I related chain A), которые экспрессируются на эпителиальных клетках в ответ на стресс. Специфические антитела в сыворотке пациентов, которым выполнили трансплантацию, распознают антиген MICA, а, следовательно, MICA может быть молекулой-мишенью в процессах отторжения. Эти антигены могут участвовать в отторжении аллотрансплантата, активируя гуморальные и клеточные иммунные механизмы.

После переливания крови, беременности или неудавшейся трансплантации у пациентов могут вырабатываться антитела к антигенам системы HLA. Кроме того, на сегодняшний день признано, что у некоторых пациентов имеются «естественные» антитела к HLA, а также антитела к HLA, индуцированные инфекцией. Если пациенту пересадить орган, несущий антигены HLA, к которым у него имеются активные циркулирующие антитела, он может потерять орган в связи со сверхострым или острым отторжением. Эти антитела осложняют поиск подходящего органа для реципиента, поэтому одной из задач лабораторной службы является скрининг и идентификация предсуществующих антител.

Лаборатория проводит типирование тканей всех реципиентов и доноров, предоставляя информацию о степени соответствия между органами донора и организмом реципиента. Это позволяет гарантировать, что реципиент не получит орган, к которому у него выработались антитела.

## 2. ОТТОРЖЕНИЕ ТРАНСПЛАНТАТА

Отторжение трансплантата происходит в том случае, когда иммунная система реципиента атакует пересаженный орган. Это обусловлено тем, что иммунная система распознает трансплантат в качестве чужеродного и пытается его уничтожить. Иммунный ответ во время отторжения опосредован Т-лимфоцитами и гуморальными иммунными механизмами (продукция антител).

Существует четыре категории отторжения: сверхострое, острое гуморальное отторжение, острое клеточное отторжение и хроническая дисфункция трансплантата (или хроническая нефропатия трансплантата в случае трансплантации почки). Хроническая дисфункция трансплантата может развиваться в результате иммунных и неиммунных воздействий на пересаженный орган.

Сверхострое отторжение – быстрый процесс, который развивается немедленно после трансплантации. Оно опосредовано уже предсуществующими антителами, которые реагируют с различными антигенами, экспрессируемыми на пересаженном органе. В результате сверхострого отторжения развивается быстрая деструкция трансплантата, при этом, чтобы предотвратить тяжелый воспалительный ответ, его необходимо немедленно удалить.

Острое гуморальное отторжение в типичных случаях развивается у сенсibilизированного пациента, начало процесса происходит обычно через несколько дней, иногда до 4 недель, после трансплантации. В некоторых случаях острое гуморальное отторжение может приводить к задержке функции трансплантата. Данный вид отторжения можно наблюдать у несенсibilизированных пациентов в результате продукции *de novo* специфичных к трансплантату антител уже после пересадки органа. В этом случае процесс обычно начинается позднее (3–6 недель), повышение уровня креатинина (если речь идет о трансплантации почки) происходит не так резко, как у сенсibilизированных пациентов. У таких реципиентов необходима

ранняя диагностика, направленная на выявление таких антител в динамике, так как активное лечение с заменой плазмы для удаления донор-специфических антител позволяет спасти трансплантат более чем в 80% случаев, хотя долгосрочный исход для трансплантата обычно значительно ухудшается.

Острое клеточное отторжение может происходить практически в любое время, обычно от 1 недели до 6 месяцев после пересадки. После разработки мощных иммуносупрессорных препаратов встречаемость острого отторжения значительно снизилась. Эта форма отторжения обычно легко обратима под действием больших доз кортикостероидов, хотя иногда устойчивое к стероидам отторжение требует более интенсивной иммуносупрессии.

Хроническая дисфункция аллотрансплантата может развиваться в период от 6 месяцев до многих лет после пересадки. В случае пересадки почки этот процесс характеризуется прогрессирующим ухудшением функции трансплантата, развитием протеинурии и специфическими гистологическими проявлениями.

Последние данные показали, что продукция донор-специфических антител после трансплантации сопровождается более ранним началом хронической дисфункции трансплантата. Наблюдаемое отложение комплемента в таких трансплантатах свидетельствует об участии антител в повреждении трансплантата, по крайней мере, у большей части пациентов. К сожалению, в настоящее время нет эффективных методов лечения этой формы повреждения трансплантата, которая является наиболее частой причиной недостаточности трансплантата у пациентов, которым требуется повторная пересадка почки. Ключевую роль в развитии хронической дисфункции аллотрансплантата играет степень биологической совместимости донора и реципиента по HLA антигенам.



### **3. ВИДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Виды исследований, проводимые лабораторией перед трансплантацией:

- HLA-типирование доноров и реципиентов для трансплантации солидного органа. Скрининг и идентификация HLA-антител:
  - анализ на цитотоксические антитела
  - анализ на антитела с помощью технологии Luminex
- Оценка перекрестной совместимости для трансплантации солидного органа
  - посттрансплантационный мониторинг:
    - определение донор-специфических антител
    - определение маркеров отторжения

### **4. HLA-ТИПИРОВАНИЕ ПАЦИЕНТОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СОЛИДНОГО ОРГАНА**

HLA-типирование – это метод определения антигенов (генов) тканевой (гисто-) совместимости пациента.

Всем потенциальным реципиентам в плановом порядке проводят HLA-типирование с помощью молекулярных методов низкого разрешения или серологического исследования на HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR и HLA-DQ. Однако при небольшом количестве реципиентов в «листе ожидания», типированием по локусам HLA-C и HLA-DQ пренебрегают. Для постановки этих методов используют коммерчески доступные наборы:

- для молекулярно-генетического SSP метода используются специфические праймеры;
- для молекулярно-генетического SSO метода – специфических зондов;
- для серологического метода – панели специфических сывороток.

#### **4.1 Серологическое HLA-типирование (по реакции комплементзависимой цитотоксичности)**

Для серологического HLA-типирования лимфоциты пациента изолируют из цитратной крови с помощью иммуномагнитных микросфер или других принятых в лаборатории методик. Далее проводят «тканевое типирование» лимфоцитов с помощью коммерчески доступных планшетов для тканевого типирования.

Серологический метод имеет ряд ограничений:

- Возможность проводить типирование только на низком разрешении
- Образцы крови должны быть только свежие и храниться не дольше 4-5 часов
- Невозможность анализировать образцы после заморозки
- Метод практически не пригоден для типирования по HLA класса II (DR, DQ)
- Невозможно проводить документирование и архивацию результатов типирования
- Проблемы воспроизводимости метода (результат зависит от навыков персонала, жизнеспособности клеток, активности комплемента, от использования моно- или полиспецифичных сывороток)
- Метод не подлежит автоматизации
- Сложность транспортировки и хранения серологических панелей (поставляются и хранятся только в замороженном виде при температуре минус 50–70 °С)
- Ограниченная возможность для участия лаборатории в межлабораторном контроле качества, так как нет возможности типировать замороженные контрольные образцы крови

## 4.2 Молекулярное HLA-типирование (по ДНК)

Разработка метода ПЦР (полимеразная цепная реакция) позволила проводить HLA типирование с высоким разрешением. На первом этапе осуществляют выделение геномной ДНК пациентов из свежей или замороженной крови, взятой с антикоагулянтом (ЭДТА или цитрат натрия) в количестве от 0,5 до 5 мл в зависимости от протокола исследования, и затем проводят HLA-типирование, доступным лаборатории молекулярным методом:

4.2.1 ПЦР-SSP (sequence specific primers). Эти SSP-праймеры содержат аллель- и группоспецифичные HLA-последовательности, разработанные для прикрепления к специфическим участкам исследуемой ДНК. В случае совпадения нуклеотидной последовательностей праймера с ДНК пациента происходит их отжиг. В присутствии фермента Taq-полимеразы запускается амплификация (многократное увеличение количества копий ДНК). Амплифицированные продукты ДНК визуализируют с помощью электрофореза в геле.

4.2.2 ПЦР-SSO (sequence specific oligonucleotides). Метод основан на использовании специфических олигонуклеотидных зондов. В случае использования SSO-технологии амплификации подвергается весь HLA locus. Полученные ампликоны денатурируют до одноцепочечных фрагментов ДНК, которые добавляют к микросферам или микрочипам, содержащим специфические SSO-зонды. Комплементарные последовательности ампликонов гибридизуются с соответствующими зондами. Комплекс ампликон-зонд затем визуализируют с помощью метода колориметрии (колориметрической реакции) или флуоресценции.

### **4.3 Современная HLA-номенклатура**

Номенклатура HLA неоднократно претерпевала изменения и дополнения, что связано, во-первых, с переходом от серологического типирования поверхностных клеточных антигенов к молекулярным исследованиям полиморфных ДНК последовательностей (аллелей), во-вторых, открытия новых аллельных вариантов HLA-генов, установления полиморфизмов в экзонных и интронных областях генов HLA, различия в уровнях экспрессии HLA-антигенов повлекли за собой необходимость так или иначе отразить это в современной номенклатуре.

Современная HLA-номенклатура представлена на веб-ресурсе международной ассоциации иммуногенетиков (<http://hla.alleles.org/nomenclature>). Здесь можно найти информацию о количестве открытых аллелей каждого HLA-локуса, список всех HLA-генов с их молекулярной характеристикой, последние публикации в основных иммуногенетических изданиях (Human Immunology, Tissue Antigen, European Journal of Immunogenetics и др.).

## **5. ИССЛЕДОВАНИЯ НА HLA-АНТИТЕЛА**

Все пациенты, которым планируется трансплантация (в том числе, пересадка почки), проходят анализ на наличие предсуществующих антител к HLA с помощью различных скрининговых методик.

### **5.1 Анализ антител и их идентификация**

Первичное обследование реципиентов на HLA-антитела включает в себя два этапа. На первом этапе, при помощи коммерчески доступных наборов в формате ИФА или Lumineх выявляется наличие или отсутствие предсуществующих HLA-антител по классам I и II.

В случае положительного результата скрининга по одному или по обоим классам HLA-антител, проводится тест на их идентификацию. По результатам этого теста, для каждого положительного реципиента прописывается карта недопустимых донорских антигенов по локусам HLA-A, B, C (по классу I) и по локуса HLA-DR, DQ (по классу II), а также рассчитывается индекс PRA (%) (панель-реактивных антител в процентах).

Физический смысл индекса PRA (%) означает, какой процент потенциальных доноров будет иметь с данным реципиентом положительную реакцию в прямой перекрестной пробе (cross-match). Это позволяет прогнозировать вероятность и скорость подбора донора для каждого реципиента.

Индекс PRA (%), как правило, рассчитывается автоматически программным обеспечением, прилагаемым к коммерчески доступным наборам реагентов ИФА или Lumineх. Расчёт PRA (%) базируется на том, к каким HLA-антигенам выработаны антитела у реципиента, и какова популяционная частота встречаемости каждого антигена.

При создании списка потенциальных реципиентов будет отклонен любой потенциальный реципиент, у которого имеются антитела к антигенам HLA пересаживаемого органа (совпадение с HLA-генотипом донора). Информационная карта профиля HLA антител реципиента минимизирует время холдовой ишемии, а также снижает вероятность разочарования пациента при вызове для трансплантации и последующем отклонении в связи с положительной пробой на перекрестную совместимость (cross-match).

## **5.2 Специфическая идентификация антител**

### **Тестирование на единичные антигены с помощью Lumineх**

Этот метод применяют для мультисенсибилизированных реципиентов, у которых индекс PRA(%) больше или равен 60. В этом случае, важно выявить наиболее реактивные антитела, а также определить наличие возможных

антигенов, к которым нет HLA-антител, с целью подбора соответствующих HLA-генотипов донора для трансплантации.

Метод единичных антигенов (Luminex Single Antigen) основан на использовании микросфер, покрытых очищенными рекомбинантными HLA-антигенами для определения антител. В одной суспензии для единичного теста можно комбинировать до 100 различных флуоресцентно-меченных микросфер (то есть до 100 различных HLA-антигенов по каждому классу).

Для устранения разночтений (если необходимо) можно использовать дополнительные методы, например твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) и скрининг методом комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC).

## **6. ОЦЕНКА ПЕРЕКРЕСТНОЙ СОВМЕСТИМОСТИ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СОЛИДНОГО ОРГАНА**

Цель оценки перекрестной совместимости – выявить все антитела реципиента, способные атаковать HLA-антигены потенциального донора. Для этих анализов используют лимфоциты, полученные из периферической крови или лимфоузлов/селезенки донора.

Тесты перекрестной совместимости обычно проводят перед трансплантацией с целью гарантировать отсутствие антительной сенсibilизации реципиента к донору. Образцы сыворотки потенциального реципиента, включая последний образец сыворотки и несколько «архивных» образцов (обычно с повышенным количеством реактивных антител [PRA]) могут быть протестированы против лимфоцитов донора. Поскольку существует множество методов, которые можно использовать, и каждый обладает уникальным клиническим назначением, мы даем описательную интерпретацию этих тестов.

## **6.1 Стандартный тест перекрестной совместимости по комплементзависимой цитотоксичности (cross-match)**

Этот стандартный тест перекрестной совместимости основан на комплементопосредованной цитотоксичности. Оценка базовой перекрестной совместимости проводится с помощью препарата смеси лимфоцитов, полученных из периферической крови, селезенки или лимфатических узлов донора. Кроме того, проводится оценка перекрестной совместимости с помощью В- и Т-клеток донора с целью выявить антитела класса I и/или II реципиента к антигенам донора. В этой пробе проводят инкубацию сыворотки пациента с клетками донора, а затем добавляют комплемент. Если в сыворотке пациента содержится антитела, направленные против HLA-антигенов донора, то это вызовет лизис клеток, свидетельствуя о положительном результате пробы на перекрестную совместимость (**положительный cross-match**). Если антитела к антигенам донора отсутствуют, клетки остаются интактными (не поврежденными), и, следовательно, проба на перекрестную совместимость отрицательна (**отрицательный cross-match**).

## **6.2 Оценка перекрестной совместимости с помощью проточной цитометрии**

Анализ перекрестной совместимости с помощью проточной цитометрии – это более чувствительный метод по сравнению с цитотоксическими тестами перекрестной совместимости. Он позволяет определить специфичные антитела IgG к HLA класса I и/или II донора. Он также выявляет не связывающие комплемент антитела, которые могут остаться незамеченными при цитотоксической пробе перекрестной совместимости, а также антитела в крайне низком титре. При проведении этой пробы сыворотку пациента инкубируют с лимфоцитами донора. Затем клетки окрашивают флуоресцентными красителями, которые выявляют человеческие антитела IgG на Т- и В-клетках. Результат оценивают методом проточной цитофлуориметрии. Однако оценка перекрестной совместимости с помощью проточной цитометрии, плохо

стандартизирована между разными лабораториями, поэтому интерпретировать полученные данные надо с осторожностью.

### **6.3 Оценка перекрестной совместимости с помощью Lumineх**

Анализ перекрестной совместимости с помощью технологии Lumineх – наиболее точный и чувствительный метод, позволяющий определять специфичные антитела IgG к HLA класса I и II донора непосредственно до трансплантации, а также проводить мониторинг антидонорских антител с замороженным лизатом донорских клеток в посттрансплантационный период. Также как и при цитометрическом определении, Lumineх выявляет комплемент-фиксирующие и не фиксирующие комплемент антитела.

На первом этапе суммарные лимфоциты донора выделяют из образцов периферической крови стандартным методом с использованием градиента плотности (фиколла-верографина или лимфолита). Полученные клетки лизируют, и затем полученный лизат, содержащий донорские HLA-антигены, инкубируют с микросферами, предварительно конъюгированными с антителами к HLA класса I или II. При добавлении сыворотки реципиента, находящиеся в ней антитела связываются с соответствующими антигенами донора (которые в свою очередь находятся в комплексе с микросферами). Добавление флуоресцентно-меченного конъюгата к анти-IgG позволяет визуализировать результат.

Данный тест способен не только зафиксировать положительную реакцию перекрестной пробы «cross-match» по I или II классу, но и отслеживать титр накопления антидонорских антител в посттрансплантационном периоде, что важно для прогноза риска отторжения трансплантата.



## 6.4 Интерпретация результатов пробы перекрестной совместимости (cross-match)

Трансплантация органа пациенту с циркулирующими комплементсвязывающими антителами к HLA-антигенам донора приведет к сверхострому отторжению и немедленной потере органа. Трансплантация пациенту, у которого имеются специфичные не связывающие комплемент антитела, сопровождается острым гуморальным отторжением и высоким риском потери трансплантата. Оценка перекрестной совместимости перед трансплантацией выявляет любые антитела к антигенам донора и предотвращает сверхострое отторжение, а также в значительной степени снижает вероятность острого гуморального отторжения.

Антигены, выявляемые на различных типах лимфоцитов:

- на Т-клетках – антигены HLA класса I, аутоантигены и различные Т-клеточные маркеры;
- на В-клетках – антигены HLA класса I и антигены HLA класса II, аутоантигены и различные маркеры В-клеток.

Таким образом, антитела к HLA класса I должны быть положительны к Т- и В-клеткам, а антитела к HLA класса II должны быть положительны только к В-клеткам. В-клетки также положительны по антигенам HLA класса I и в действительности экспрессируют антигены класса I более интенсивно, чем Т-клетки. Следовательно, они более чувствительны, чем Т-клетки, при определении антител к HLA класса I с меньшей концентрацией. Это может осложнить интерпретацию положительных проб на перекрестную совместимость с В-клетками.

Для определения перекрестной совместимости используют текущие и архивные сыворотки по следующим причинам:

- исторические антитела важны, так как свидетельствуют о сенсibilизации пациента к антигенам донора и, следовательно, о наличии Т- и

В-клеток памяти, которые могут привести к быстрому иммунологическому ответу при повторном воздействии на пациента того же антигена;

- текущие антитела важны по той причине, что если они направлены против антигенов HLA донора, присутствующих в трансплантате, они могут вызывать сверхострое отторжение органа или острое гуморальное отторжение.

При положительной пробе перекрестной совместимости иммунолог-консультант/главный медицинский научный сотрудник может сказать, что с иммунологической точки зрения целесообразно продолжить подготовку к трансплантации, приняв во внимание анамнез сенсibilизации и профиль скрининга на антитела пациента, и/или может запросить дополнительные подтверждающие тесты/тесты перекрестной совместимости перед использованием трансплантата.

В некоторых случаях, особенно при кардиоторакальной трансплантации, после обсуждения с хирургом имеет смысл провести трансплантацию при пограничном или слабоположительном результате пробы перекрестной совместимости при условии использования методов удаления антител или других форм усиленной иммуносупрессии.

## **6.5 Аутосовместимость**

Эта проба оценивает перекрестную совместимость лимфоцитов реципиента с аутологичной (собственной) сывороткой и проводится с целью идентификации любых аутореактивных антител, которые могут развиваться в результате аутоиммунного расстройства, например при СКВ, заболеваниях соединительной ткани, вирусной инфекции и/или воздействии определенных препаратов.

Существует много вариантов проведения теста на аутосовместимость, который позволяет выявить природу антител. Информация о наличии и типе аутоантител может быть крайне полезна при интерпретации положительного теста на перекрестную совместимость и гарантирует, что пациенты не

пропустят потенциально подходящие органы в результате ложноположительной пробы на перекрестную совместимость.

## **7. ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЙ МОНИТОРИНГ**

Мониторинг антидонорских антител после трансплантации:

- В случае если до трансплантации лабораторией были получены клетки донора в количестве достаточном для приготовления лимфоцитарного лизата для последующего мониторинга, то рекомендована постановка прямой перекрестной пробы сыворотки реципиента с лизатом донорских лимфоцитов по технологии Lumipex при помощи тест системы LIFECODES DSA.

- При появлении антидонорских антител тест будет положителен по I или II классу HLA, а интенсивность флуоресценции будет нарастать при увеличении их титра.

- При отсутствии архивированных лизатов донорских клеток проводят тест на идентификацию антител I и II класса методом Lumipex или ИФА. Обнаруженные антитела сравнивают с данными индивидуальной карты профиля HLA-антител до трансплантации. В случае появления в профиле антител специфичностей донорского HLA-генотипа и нарастании их титра немедленно сообщают об этом врачу-иммунологу.

## 8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Калачик О.В. Донорзависимые факторы риска развития ранней дисфункции аллографта при трупной трансплантации почки. Медицинские новости. 2018;4:37–41.

2. Redfield RR, Scalea JR, Zens TJ, et al. Predictors and outcomes of delayed graft function after living-donor kidney transplantation. *Transpl Int*. 2016;29(1):81–87. doi:10.1111/tri.12696.

3. Nashan B, Abbud-Filho M, Citterio F. Prediction, prevention, and management of delayed graft function: where are we now?. *Clin Transplant*. 2016;30(10):1198–1208. doi:10.1111/ctr.12832.

4. Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant*. 2011 Nov;11(11):2279-96. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03754.x. Epub 2011 Sep 19. Review. PubMed PMID:21929642; PubMed Central PMCID: PMC3280444.

5. Jeldres C, Cardinal H, Duclos A, et al. Prediction of delayed graft function after renal transplantation. *Can Urol Assoc J*. 2009;3(5):377–382. doi:10.5489/cuaj.1147.

6. Irish WD, Ilsley JN, Schnitzler MA, Feng S, Brennan DC. A risk prediction model for delayed graft function in the current era of deceased donor renal transplantation. *Am J Transplant*. 2010 Oct;10(10):2279-86. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03179.x. PubMed PMID: 20883559.

7. Математическое прогнозирование начальной функции трансплантата почки / О. В. Калачик, В. В. Грушевский, А. И. Бредихин, И. С. Киркоров // Вестн Нац. Акад. наук Беларуск Серья. Мед. наук. - 2015. - Вып. 4. - С. 85-91.

8. Bae S, Garonzik Wang JM, Massie AB, et al. Early Steroid Withdrawal in Deceased-Donor Kidney Transplant Recipients with Delayed Graft Function. *J Am Soc Nephrol*. 2020;31(1):175–185. doi:10.1681/ASN.2019040416.

9. Dias AC Filho, Alves JR, da Cruz PRC, Santana VBBM, Riccetto CLZ.

Predicting urine output after kidney transplantation: development and internal validation of a nomogram for clinical use. *Int Braz J Urol.* 2019;45(3):588–604. doi:10.1590/S1677-5538.IBJU.2018.0701.

10. Метод определения клеточного отторжения трансплантата в отдаленный период после трансплантации почки: инструкция по применению № 072-0618 : утв. М-вом здравоохран. Респ. Беларусь 12.06.2018 / Уч. 9-я городская клиническая больница; сост.: С. В. Коротков, А. В. Носик, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневич, А. А. Коритко, Е. А. Примакова, О.В. Калачик, А. Е. Щерба, И. И. Пикиреня, С. И. Кривенко, О. О. Руммо. - Минск, 2018. - 6 с.

11. Peng B., Ming Y., Yang C. Regulatory B cells: the cutting edge of immune tolerance in kidney transplantation. *Cell Death and Disease.* 2018; 9: 109–21.

12. Clatworthy M. R., Plotnek G., Bardsley V. et al. B-cell-depleting induction therapy and acute cellular rejection. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 2683–2685.

13. Ding Q., Yeung M., Camirand G. et al. Regulatory B cells are identified by expression of TIM-1 and can be induced through TIM-1 ligation to promote tolerance in mice. *J. Clin. Invest.* 2011; 121: 3645–3656.

14. Newell K. A., Asare A., Kirk A. D. et al. Identification of a B cell signature associated with renal transplant tolerance in humans. *J. Clin. Invest.* 2010; 120: 1836–1847.

15. Sagoo P., Perucha E., Sawitzki B. et al. Development of a cross-platform biomarker signature to detect renal transplant tolerance in humans. *J. Clin. Invest.* 2010; 120: 1848–1861.

16. Artamonov S.D., Velikiy D.A., Onischenko N.A., Krasheninnikov M.E., Ivanov I.M., Bashkina L.V., Nikolskaya A.O. (2012) The modern immunosuppressive tactics as a way for inducing of tolerogenic strategy after liver transplantation (analysis of the problem status). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*, Vol. 14, no 2, pp. 98-109.

17. Carey E., Carey W.D. (2010) Noninvasive tests for liver disease, fibrosis, and cirrhosis: Is liver biopsy obsolete? *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, Vol. 77,

no 8, pp. 519-527.

18. A Guide to the Services provided by the Department of Histocompatibility and Immunogenetics (The National Histocompatibility And Immunogenetics Service For Solid Organ Transplantation (NHISSOT), 8th Edition – November 2011.

Подписано в печать 28.12.2020.  
Формат 60X84 1/16.  
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.  
Ризография. Усл.-печ. л. 1,28.  
Тираж 5 экз. Заказ № 21.

Отпечатано в ГУ “Республиканский научно-практический  
центр радиационной медицины и экологии человека”  
Свидетельство № 1/410 от 14.08.2014г.  
246040, Гомель, ул.Ильича, 290