

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ
НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ТАДЖИКСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ АБУАЛИ ИБНИ СИНО»

На правах рукописи

ДОСТИЕВ УМЕД АШУРОВИЧ

**КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА У РЕЦИПИЕНТОВ ДО И ПОСЛЕ
ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ
ТАДЖИКИСТАН**

14.01.17-хирургия

14.01.24 - трансплантология и искусственные органы

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
д.м.н., профессор, Гулов М.К.
д.м.н. Исмоилов С.С.

Душанбе- 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК И РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	14
1.1. Влияние хронической болезни почек на иммунный статус реципиентов почек.....	14
1.2. Роль иммунологического мониторинга до и после трансплантации почки.....	23
1.3. Факторы риска, влияющие на иммунный статус и на результаты трансплантации почек.....	33
1.4. Эффективность современных схем иммуносупрессии.....	37
ГЛАВА 2. ОБЩАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	42
2.1. Общая клиническая характеристика пациентов.....	42
2.2. Методы исследования.....	46
2.3. Статистическая обработка материала.....	59
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК 5 СТАДИИ НА ГЕМОДИАЛИЗНОЙ ТЕРАПИИ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН.....	61
3.1. Оценка диализной терапии у больных с хронической болезнью почек 5 стадии.....	61
3.2. Оценка анемии, и ее коррекции на диализной терапии у больных с хронической болезнью почек 5 стадии.....	64
3.3. Анализ количества родов и перенесенных беременностей у женщин	

с хронической болезнью почек 5 стадии, находящихся на диализной терапии.....	67
3.4. Оценка статуса питания на диализной терапии у больных с хронической болезнью почек 5 стадии.....	68
ГЛАВА 4. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК 5 СТАДИИ ДО ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ.....	72
4.1. Исследование иммунологического статуса у больных с хронической болезнью почек 5 стадией до трансплантации почки.....	72
4.2. Исследование иммунологического статуса после трансплантации почки и влияние оптимизированных протоколов иммуносупрессии на результаты трансплантации почки.....	77
4.3. Совершенствование диагностико-лечебного алгоритма для оптимизации коррекции изменений иммунного статуса больных до и после трансплантации почки.....	89
ГЛАВА 5. ИНТРАОПЕРАЦИОННЫЙ СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ИШЕМИЧЕСКО - РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА НА ЭТАПЕ ИМПЛАНТАЦИИ К РЕЦИПИЕНТУ.....	97
5.1. Разработка техники хирургического способа оценки почечного трансплантата на этапе имплантации к реципиенту.....	97
5.2. Анализ полученных данных хирургического способа оценки почечного трансплантата на этапе имплантации реципиенту при трансплантации почки от живого родственного донора.....	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	102
ВЫВОДЫ.....	116
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	117
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	119

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АПК	антиген презинтирующие клетки
ГД	гемодиализ
ПД	перитонеальный диализ
ЗПТ	заместительная почечная терапия
ИРП	ишемически реперфузионное повреждение
ЛПС	липополисахарид
ННЦТО и ТЧ МЗ и СЗН РТ	Национальный научный центр трансплантации органов и тканей человека Министерства здравоохранения и социальной защиты Республики Таджикистан
НСТ	нитросиний тетразолий
ОАК	общая артериальная кровь
СРБ	С-реактивный белок
ТПР	олл подобные рецепторы
ХБП	хроническая болезнь почек
ЦИК	цитотоксические иммунные комплексы
ААМІ	Association for the Advancement of Medical Instrumentation (Ассоциация развития медицинского оборудования)
AMR	острое гуморальное отторжение
CD	кластеры дифференциации лейкоцитов
DSA	донор специфические антитела
EBRP	European Renal Best Practice (Лучшая европейская практика в области почек)
ELISPOT	Enzyme-Linked Immune Absorbent Spot (Анализ на иммуноабсорбирующее пятно с ферментной связью)
FDA	Food and Drug Administration (Управление по контролю за продуктами и лекарствами)
HLA	антигены лейкоцитов человека
ISPD	International Society for Peritoneal Dialysis (Международное

	общество перитонеального диализа)
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes (Заболевание почек: улучшение глобальных результатов)
K-DOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (Инициатива по качеству результатов лечения заболеваний почек)
NK	натуральные киллеры
PRA	панель реактивных антител
spKt/V	показатель, рассчитываемый по однокамерной модели с изменяемым объемом
Th 1, 2	T хелперы 1, 2 типа

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Хронической болезнью почек (ХБП) на сегодня страдает 10% населения мира [78]. Распространенность болезни, скорее всего, вырастет в течение следующего десятилетия из-за увеличения численности пожилого населения и увеличения заболеваемости сахарным диабетом и гипертонией [51]. В 2015 г. ХБП заняла 12-е место в мировом списке причин смерти [6,130]. В Республике Таджикистан более 5000 взрослого населения страдают ХБП в том числе в 5 стадии до 12-15%, при этом отмечают ежегодную тенденцию к их увеличению [1, 7]. Популяция пациентов, нуждающихся в заместительной почечной терапии (ЗПТ), во всем мире оценивалась примерно в 5 миллионов в консервативной модели и 10 миллионов в модели с высокой оценкой, иллюстрирующие масштабы бремени ХБП 5 стадии [20,146]. Исследование факторов риска развития острого отторжения при трансплантации почек остается важной проблемой, которая тесно связана с определением подходов к повышению эффективности этого метода [128].

Влияние сенсibilизации у реципиента почечного трансплантата приводит к увеличению времени ожидания трансплантации на гемодиализе, осложнений после переливания крови для коррекции анемии, воздействию неблагоприятных эффектов иммунодепрессантов, и в конечном итоге к отторжению трансплантата [8] [133].

У женщин беременность остается неизбежным HLA-сенсibilизирующим фактором. Сенсibilизация беременностью оказывает значительное влияние на развитие антител HLA I и II класса. Доказано, что частота выработки антител к HLA-B локусу у пациентов, сенсibilизированных беременностью, была выше по сравнению с сенсibilизацией после переливания компонентов крови [25]. Исследования показали, что риск значительного увеличения донор специфических антител был наибольшим, когда антитела первоначально стимулировались беременностью, чем трансплантационными антигенами [181]. Также сообщалось, что распространенность анти-HLA-антител была выше у

беременных женщин, чем в случае трансплантации органов и переливания компонентов крови [97].

Несомненно, важным фактором иммунологических нарушений до трансплантации почки является предсенсбилизация фон и факторы риска, которые способствуют его появлению. Одним из таких факторов является количество родов и перенесённых беременностей женщин с ХБП 5 стадии находящимися на гемодиализе [138].

Немаловажной особенностью предоперационной подготовки до трансплантации почки является анализ нутритивного статуса у больных с ХБП 5 стадии на гемодиализе (ГД). Серьезным препятствием, является недоедание, для длительной выживаемости у пациентов, находящихся на поддерживающем гемодиализе [62]. Это может быть связано с плохим социально-экономическим статусом и связанным с этим последствием, неспособностью позволить себе адекватное питание на гемодиализе. Распространенность данного явления у больных с ХБП 5 стадии варьирует от 30 до 75%, способствуют развитию следующих осложнений: снижению клиренса цитокинов, окислительному стрессу, накоплению конечных продуктов гликирования, инфекционному осложнению и осложнениям непосредственно связанных с гемодиализом: бионесовместимость мембраны фильтров, инфекции сосудистого доступа и воздействие эндотоксина, который стимулирует воспалительный ответ путем активации выработки воспалительных цитокинов [98].

Аллогенные трансплантации органов — это ситуация иммунологического конфликта, так как одна из главных причин потери трансплантата почки является реакция отторжения [44]. Увеличение вероятности отторжения связано с факторами повышенного иммунологического риска. До сих пор нет стандартизированных методов оценки и стратификации иммунологического риска [147]. Понимание структуры независимых факторов риска потери ренального трансплантата необходимо для определения эффективных стратегий ведения пациентов высокого иммунологического риска после

трансплантации для обеспечения максимальной продолжительности функционирования пересаженного органа [186].

Крайне важно, чтобы состояние каждого будущего трансплантата было оптимизировано до или во время трансплантации, чтобы достичь наилучшей возможной функции после трансплантации и избежать первичной или отсроченной дисфункции, а также отторжения трансплантата. Ишемия и реперфузионное повреждение неизбежны при трансплантации почки и являются одним из наиболее важных механизмов отсутствия или задержки функции сразу после трансплантации [5,153]. Этот процесс сопровождается провоспалительным ответом и связан с острым отторжением из-за повышенной иммуногенности, а также благоприятствующей отторжению, опосредованному Т-клетками, антителами. Кроме того, это может привести к прогрессирующему интерстициальному фиброзу вследствие хронической дисфункцией трансплантата из-за интерстициального фиброза и тубулярной атрофии [15] [111]. В последнее десятилетие было получено много информации о сложной молекулярной патофизиологии ишемическо-реперфузионного синдрома, которое откроет дверь для новых терапевтических целей, направленных на снижение этого синдрома [40].

Цель исследования: оптимизация иммуносупрессивной терапии у реципиентов до и после аллотрансплантации почки с учётом особенностей иммунного статуса у жителей Республики Таджикистан.

Задачи исследования:

1. Оценить и выявить факторы, приводящие к нарушению иммунной системы у реципиентов почек до и после трансплантации почки.
2. Совершенствовать диагностико-лечебный алгоритм для оптимизации коррекции изменений иммунного статуса больных до и после трансплантации почки.
3. Конкретизировать схемы применения современных способов и средств иммуносупрессивной терапии при родственной трансплантации почки с учетом особенностей иммунного статуса у жителей Республики Таджикистан.

4. Оценить результаты применения оптимизированной диагностики и коррекции нарушений иммунного статуса у больных до и после родственной трансплантации почки.

5. Разработать способ интраоперационной диагностики причин отсроченной функции почечного трансплантата и ишемическо-реперфузионного синдрома.

Научная новизна исследования

Впервые в Республике Таджикистан выявлены факторы риска, влияющие на иммунный статус, изучены особенности иммунологического статуса и нарушения иммунной системы у больных с ХБП 5 стадии до и после операции. Установлено, что уремия, обусловленная ХБП 5 стадии, ассоциируется с состоянием дисфункции иммунной системы, характеризующаяся иммунодепрессией, что способствует высокой распространенности инфекций среди пациентов, а также состоянием иммуноактивации, приводящее к воспалению.

На основании конкретизации причин и факторов, влияющих на показатели иммунного статуса больных, усовершенствован диагностико-лечебный алгоритм, а также индивидуализированы способы и средства коррекции иммунных нарушений у больных до и после трансплантации почки. Определена эффективность применения оптимизированной диагностики и коррекции нарушений иммунного статуса у больных до и после родственной трансплантации почки, а также их влияние на количество послеоперационных осложнений.

Разработана селективная терапия кризов отторжения, которая помогает применить соответствующую терапию при критическом состоянии еще до выявления гистологической картины при биопсии почки, что, в свою очередь, позволяет снизить риск утраты трансплантата и риск смерти пациентов. Разработаны иммуннограммы типов острого отторжения, что позволяет применять селективную антикризовую терапию и профилактику острого отторжения почечного трансплантата.

Разработан способ интраоперационной диагностики ишемическо-реперфузионного синдрома, как причины отсроченной функции почечного трансплантата и острого отторжения.

Теоретическая и практическая значимость работы

Успешное решение поставленной цели и задач позволило оптимизировать и существенно индивидуализировать способы и средства иммуносупрессивной терапии, улучшить целенаправленную профилактику послеоперационных осложнений у больных с ХБП 5 стадии до и после трансплантации почки. На основе выявленных общих сдвигов иммунной системы и факторов риска, определена тактика и направленность коррекции этих последствий.

Доказано, что мониторинг нарушений в иммунной системе позволяет определить схему иммуносупрессии на этапе предоперационной подготовки и оптимизировать профилактику осложнений, в том числе ишемическо-реперфузионного синдрома.

Своевременная диагностика выявленных расстройств, адекватная патогенетически обоснованная коррекция нарушений сокращает продолжительность лечения, частоту осложнений до 20-30%, снижает летальность больных на 15% до и после трансплантации почки.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Нарушение качества и количества ГД, нутритивного статуса на гемодиализной терапии, неправильная коррекция анемии, большое количество беременностей и родов способствуют нарушению врожденной и адаптивной иммунной системы и коррелируют с увеличением инфекции и осложнений при трансплантации почки с увеличением смертности в изучаемой популяции.

2. ХБП 5 стадии и особенно гемодиализ ассоциируется с Т и В-клеточной лимфопенией. Одной из основных причин этого нарушения является повышенная восприимчивость Т и В-клеток к смерти путем апоптоза при уремии. При этом уровни сывороточных изотипов IgG, IgM, и IgA являются нормальными у пациентов на гемодиализе.

3. Значительная часть иммунных нарушений при ХБП 5 стадии связана с белковой недостаточностью. Это осложнение распространенное при ХБП 5 стадии тесно коррелирует с увеличением заболеваемости и смертности в этой популяции пациентов и связано с лимфоцитопенией и нарушением функции Т-лимфоцитов.

4. У пациентов с высоким и средним риском острого отторжения имеются признаки более выраженного иммунопатологического состояния, которое имеет характерные особенности в зависимости от предшествующей сенсibilизации.

5. Обследование, включающее мониторинг иммунологических параметров крови, повышает эффективность диагностики острого отторжения после трансплантации почек и сокращает время до начала соответствующей терапии.

6. Селективная терапия криза острого отторжения в зависимости от его типа позволяет применять препараты с селективным действием на иммунную систему, что также снижает риск инфекционных осложнений после трансплантации почки.

7. Отсроченная функция трансплантата после трансплантации почки влияет на долгосрочную функцию и выживаемость трансплантата и считается проявлением ишемического реперфузионного повреждения и иммунологических нарушений.

8. Уровень снижения потребления кислорода ишемизированным почечным трансплантатом тесно коррелирует с иммунной активацией при помощи интерлейкина-6, что косвенно влияет на реакцию острого отторжения и дисфункцию трансплантата.

Внедрение результатов исследования

Полученные результаты и разработанные методы внедрены в качестве протоколов лечения и подготовки больных в отделениях трансплантации почки и поджелудочной железы Национального научного центра трансплантации органов и тканей, а также в учебный процесс на кафедре инновационной

хирургии и трансплантологии и общей хирургии №1 ГОУ “ТГМУ им. Абуали ибни Сино”.

Публикация результатов исследований

Материалы диссертации изложены в 11 опубликованных работах, в т.ч. 7 статьях журналов, рекомендованных Высшей Аттестационной комиссией Российской Федерации в качестве изданий для публикации результатов диссертационного исследования.

Личное участие автора в получении результатов

Автор лично обследовал больных, заполнял медицинскую документацию и индивидуальные формы документации обследования пациента, а также принимал участие в лечении и разработке протоколов и схем иммуносупрессии. Автором выполнено более 85% операций по пересадке почек, включенных в исследование. Статистическая обработка и анализ результатов проведены автором самостоятельно. Автор самостоятельно осуществлял поиск информации, анализ отечественной и зарубежной литературы, чтобы оценить актуальность выбранной темы, проблемные вопросы и пути их решения.

Степень достоверности, публикаций и апробация диссертации

Степень достоверности обусловлена проведением исследования параметров иммунной системы у 100 реципиентов почек с использованием качественных методов проведения лабораторных анализов и статистической обработкой полученных результатов.

Основные положения были представлены и обсуждены на: 68-й годичной международной научно-практической конференции ТГМУ (Душанбе, 2020); на XV международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов ГОУ “ТГМУ им. Абуали ибни Сино” с международным участием (Душанбе, 2020); и межкафедральной проблемно-экспертной комиссии по хирургическим дисциплинам ГОУ “ТГМУ им. Абуали ибни Сино” (Душанбе, 2021).

Структура и объем диссертации

Диссертация включает: введение, 5 глав собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Диссертация написана на 138 страницах машинного текста. Работа дополнена 15 рисунками и 26 таблицами. Список литературы содержит ссылки на 200 источников.

ГЛАВА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК И РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Влияние хронической болезни почек на иммунный статус реципиентов почек

Несмотря на значительные технические улучшения методов заместительной почечной терапии, уровень смертности у пациентов с ХБП 5 стадии остается на уровне 20% в год [80]. Основными причинами смерти у пациентов с ХБП 5 стадии являются сердечно-сосудистые заболевания и инфекции, которые вместе обуславливают до 70% смертей [53]. Известно, что дисфункция иммунной системы индуцируемая в уремической среде, как негативное нарушение, и, как потенциальная причина преждевременной смерти при ХБП 5 стадии, не всегда изучалась. Следует отметить, что дисфункция иммунного статуса при уремии связана с изменениями в двух основных её ветвях-врожденной и адаптивной системе иммунитета. Врожденная система иммунитета включает распознавание, фагоцитоз и переваривание патогенов, индукцию воспаления и представление антигенов, тогда как система адаптивного иммунитета включает в себя продуцирование антител и связана с памятью об иммунных реакциях, вызванной врожденной системой иммунитета [102, 171].

Врожденная система иммунитета является универсальной и древней формой защиты от инфекций. Адаптивная иммунная система обладает более сложной и развитой способностью к защите хозяев [171]. Этот ответ является антиген-специфичным и требует распознавания антигенов в процессе, называемом представлением антигена. Он основан на активации двух основных типов лимфоцитов - Т-клеток и В-клеток [10, 118].

Наивные Т-клетки в тимусной железе и других резервуарах активируются сигналами, такими, как обработанные части бактерий, связанные с молекулами главных комплексов гистосовместимости на антиген-презентирующих клетках.

Это превращает их в функциональные Т-клетки, которые выполняют функции убийства [Т-клетки-убийцы] или контролируют иммунный ответ [хелперные Т-клетки]. В-клетки, которые связывают специфические чужеродные антигены, превращаются в плазмочиты и начинают продуцировать специфические антитела. После успешной ликвидации чужеродных возбудителей некоторые лимфоциты запоминают вторгающийся патоген. Это позволяет получить сильную реакцию после того, как патоген обнаружен снова. Чтобы активироваться, Т-клетки требуют по меньшей мере появление двух сигналов от врожденной системы иммунитета. Один из них представляет собой комплекс пептида и молекулы главного комплекса гистосовместимости (ГКС), а другой - костимуляторный сигнал, опосредуемый молекулами CD80 и CD86 на АПК [140]. Экспрессия молекул CD80 и CD86 контролируется врожденной иммунной системой, особенно сигнальными путями через ТПР [88]. Toll-подобные рецепторы (ТПР) относятся к семейству рецепторов распознавания сигналов системы врожденного иммунитета. Они распознают различные общие патогенные компоненты, такие как липополисахариды (ЛПС), пептидогликаны, РНК вирусов и бактериальные олигодезоксинуклеотиды [184]. Их задачи включают фагоцитоз и активацию пути комплемента и многочисленных цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6 и TNF- α [184].

Изменения в иммунной системе при ХБП 5 стадии представляют собой сложную проблему. Гиперцитокинемия является типичной особенностью при уремии, вероятно из-за накопления провоспалительных цитокинов вследствие снижения почечной элиминации и повышенной генерации уремических токсинов после индукции их окислительным стрессом и сопутствующими заболеваниями [131].

С другой стороны, уремия связана с иммуносупрессией из-за воздействия уремической среды на иммунокомпетентные клетки. Повидимому, все три

класса рецепторов распознавания образов врожденного иммунитета оказывают влияние при ХБП 5 стадии [49].

Значительно повышенный уровень маннозосвязывающего лектина были зарегистрированы у пациентов с ХБП 5 стадии [164]. Который представляет собой практический интерес, поскольку предварительная трансплантация при уровне лектина с высокой маннозой связана с ухудшением выживаемости пациентов и трансплантата [35].

С другой стороны, у инфицированных пациентов на гемодиализе отмечаются низкие, а не высокие уровни маннозосвязывающего лектина и связаны с повышенной смертностью [142].

Доказано, что экспрессия двух основных рецепторов, SR-A и CD36 на макрофаге при поглощении, увеличена у пациентов с ХБП 5 стадии. Это может быть следствием хронической стимуляции рецепторов на макрофаге, вызванной воспалительными процессами и окислительным стрессом [67].

Нарушения в системе рецепторов распознавания у пациентов с уремией приводят к нарушению функции клеток, вовлеченных в систему врожденного иммунитета [48]. Так, в одном исследовании авторы обнаружили, что моноциты у пациентов на перитонеальном диализе являются гипореактивными к стимуляции липополисахаридами бактерий по сравнению с пациентами на гемодиализе и группой сравнения, поскольку они производят меньше ИЛ-1 β и TNF- α [48]. Показано, что моноциты и дендритные клетки, проявляют сниженный эндоцитоз и имеют нарушения созревания при культивировании в уремической сыворотке.

В проведенном исследовании сообщается, что бактерицидные способности нейтрофилов снижаются у пациентов с ХБП по сравнению с группой сравнения. Поскольку эти способности были в некоторой степени восстановлены процедурой ГД, авторы предположили, что диализируемые вещества могут нарушать функции нейтрофилов, являющейся результатом воздействия уремических удерживающих веществ при гемодиализе на баланс апоптоза и некроза нейтрофилов. При этом некоторые уремические

удерживающиеся вещества задерживают апоптоз, а другие, наоборот способствуют этому процессу [102].

Когда апоптоз задерживается, нейтрофилы выживают увеличивая тем самым возможности защиты организма от инфекций. Однако такие нейтрофилы более подвержены некрозу, что связано с высвобождением многочисленных провоспалительных молекул приводящее к состоянию воспаления. С другой стороны, индукция апоптоза уменьшает воспаление, вызванное некрозом, но в тоже время уменьшает ответ на инфекцию [66].

Легкие цепи иммуноглобулинов Ig являются примером таких веществ, которые задерживают апоптоз у нейтрофилов [43].

Однако эти антиапоптотические эффекты уравниваются удержанием факторов, способствующих апоптозу, к ним относятся конечные продукты гликирования, окисленные липопротеины низкой плотности, ФНО- α [141].

Изучение эффекта уремии на скорость апоптоза нейтрофилов обнаружило, что уремическая плазма ускоряет апоптоз нормальных нейтрофилов. Апоптоз нейтрофилов был увеличен у пациентов с ХБП 5 стадии и показал увеличение количества нейтрофилов, указывая на это как на ключевого медиатора воспаления при ХБП 5 стадии [196].

Необходимо отметить еще одну характеристику удерживаемых уремических растворов в отношении их специфических про- и противовоспалительных свойств. ХБП 5 стадии вызывает различные нарушения цитокинов и обуславливает состояние гиперцитокинемии с участием противовоспалительных агентов, таких как IL-10, а также провоспалительных цитокинов, таких, как ФНО- α и IL-6 [139].

Считается, что ухудшение функции почек, приводящее к снижению скорости удаления, а также к увеличению цитокинов, являются основными причинами повышенного уровня циркуляции цитокинов при ХБП 5 стадии [123].

Выдвинутая гипотеза интерлейкина постулировала, что повышенные уровни IL-1 опосредованы гипотензивными эпизодами во время гемодиализа [178], однако на сегодня основной акцент делается на роли уремической гиперцитокинемии в развитие белково-энергетического истощения [91].

В дополнение к уремии мембранная биоконкурентность и утечка эндотоксинов при обратной фильтрации во время процедуры гемодиализа приводят к активации системы комплемента и лейкоцитов [143].

Активация лейкоцитов способствует адгезии гранулоцитов к мембране гемодиализного фильтра, что может привести к лейкоцитопении [74].

Увеличение частоты инфекций, а также нарушение реакции на вакцинацию и отрицательный туберкулиновый тест для диагностики скрытого туберкулеза указывают на то, что адаптивный иммунитет ослабляется при ХБП [102]. Исследования, проведенные *in vitro*, показывают, что пролиферация Т-клеток снижается при уремии [112, 183]. Т-хелперные лимфоциты играют решающую роль в контроле иммунного ответа. Th1-клетки продуцируют несколько провоспалительных цитокинов ФНО- α , IL-12 и IFN- γ [163]. Th2-клетки, в свою очередь, производят в основном IL-4 и IL-5.

Производя различные цитокины, они оказывают разнообразное влияние на иммунный ответ [200]. Th1 лимфоциты активируют макрофаги и нейтрофилы, тогда как клетки Th2 участвуют в развитии гуморального иммунитета.

У пациентов на перитонеальном диализе (ПД) созревание обеих субпопуляций Th-клеток нарушается по сравнению с контролем, но также сравнивается с пациентами на ГД. Однако, несмотря на то, что созревание Th-лимфоцитов у пациентов, находящихся на ГД сохраняется, у этих пациентов, все еще присутствуют значительно повышенные уровни Th1, что приводит к увеличению дисбаланса Th1/Th2. Возможное объяснение увеличения дисбаланса Th1/Th2 у пациентов на ГД может заключаться в увеличении производства IL-12, монокина действующего на Т-лимфоциты путем

увеличения продукции INF- γ и снижения продукции IL-4, что способствует их дифференциации в тип Th1 [193].

ХБП, и особенно гемодиализ, ассоциируется с В-клеточной лимфопенией. Было высказано предположение, что одной из основных причин этого нарушения является повышенная восприимчивость В-клеток к смерти путем апоптоза [126]. Однако было зарегистрировано, что уровни сывороточных изотипов IgG такие как IgM и IgA являются нормальными у пациентов на гемодиализе [39].

Значительная часть иммунных нарушений при ХБП 5 стадии, вероятно, может быть связана с наличием белковой недостаточности. Было показано, что это тяжелое, но распространенное осложнение при ХБП 5 стадии тесно коррелирует с увеличением заболеваемости и смертности в этой популяции пациентов, и, как было установлено, связано с лимфоцитопенией и нарушением функции Т-лимфоцитов [197].

В настоящее время признано, что уремия уменьшает возможность представления антигена дендритным клеткам и макрофагам, путем изменения в костимулирующих молекулах (CD80, CD86) [104]. Поскольку было обнаружено, что их экспрессия регулируется толл-подобными рецепторами (ТПР), представляется правдоподобным, что это расстройство в выражении ТПР или активности, которое вызывает ухудшение функций АПК. Действительно, было показано, что экспрессия ТПР 4-типа существенно снижается у пациентов с ХБП 5 стадии, особенно у пациентов, предрасположенных к инфекциям [102]. Уменьшенная экспрессия ТПР4-типа была связана с уменьшением синтеза ФНО- α , IL-1 β , IL-6 и IL-8 в ответ на ЛПС [176].

Аналогичные результаты были получены у пациентов на ГД, и было высказано предположение, что помимо уремических эндотоксинов, содержащихся в диализате путем непрерывной стимуляции, могут в конечном итоге привести к снижению экспрессии ТПР4-типа [48]. ТПР также экспрессируются на перитонеальных мезотелиальных клетках. Если

экспрессия ТПР в брюшине у пациентов, получающих ПД, нарушается, то это возможно, может привести к уменьшению защиты от перитонита [50]. Однако эта гипотеза еще не доказана и ее предстоит доказать.

Существует множество доказательств того, что нарушения как врожденной, так и адаптивной иммунной системы способствуют увеличению частоты инфекций при ХБП 5 - стадии. Функциональные нарушения моноцитов, нейтрофилов и дендритных клеток, описанные выше, непосредственно связаны с риском заражения в этой популяции пациентов [58, 64]. Нарушение созревания Th лимфоцитов, наблюдаемое у пациентов на ПД, также приводит к искаженному иммунному ответу и восприимчивости к инфекции [193]. Считается, что высокие показатели отрицательного ответа при вакцинации против вируса гепатита В, вируса гриппа, *Clostridium tetani* или *Corynebacterium diphtheriae* вызваны изменениями в функциях Т-лимфоцитов [185].

Как указано выше, толл-подобные рецепторы участвуют в защите от инфекций мочевых путей. Экспериментальные исследования показали, что экспрессия ТПР 4-типа требуется на клетках канальцев почки для эффективного контроля за восходящими инфекциями мочевыводящих путей [34].

ТПР 11 - типа был зарегистрирован как рецептор, присутствующий на уроэпителиальных клетках и для защиты от инфекции уропатогенной *E.coli* у мышей [37].

Таким образом, нарушенная функция ТПР при уремии может привести к инфекциям мочевых путей. Поскольку инфекции мочевых путей распространены у пациентов с ХБП 5 стадии и связаны с уменьшением объема мочи, то можно предположить, что присутствие физического барьера (низкий поток мочи), инвазия возбудителей у этих пациентов вместе с измененной активностью ТПР может привести к воспалению, которое возможно, приведет к дальнейшей потере остаточной функции почек.

Следует отметить, что ослабленная иммунная функция у пациентов с ХБП 5 стадии может снизить риск от отторжения трансплантата после трансплантации почки, и, таким образом, представляет потенциальное первоначальное преимущество в выживании реципиентов почек [36].

Связь между воспалением и сердечно-сосудистыми заболеваниями хорошо доказана, а также имеются свидетельства причинно-следственной связи между инфекциями и сердечно-сосудистыми заболеваниями [189]. Следовательно, возможно, что иммунная дисфункция при ХБП 5 стадии может быть связана с сердечно-сосудистыми заболеваниями через вышеупомянутые ассоциации, с воспалением и инфекциями .

Кроме того, может иметь место непосредственное влияние, связанных с ХБП 5 стадии аномалий иммунной системы в прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний. Как уже упоминалось выше, уремия сопровождается регуляцией рецепторов эндоцитотического распознавания [183].

Рецепторы макрофагов, помимо борьбы с патогенами, играют решающую роль в элиминации патогенов. Повышенная экспрессия и активность рецепторов мутагенеза макрофагов при ХБП 5 стадии может привести к увеличению окклюзионного клиренса, и, как следствие, к образованию пенных клеток на ранней стадии атерогенеза [110].

Изменения в рецепторах распознавания образов могут способствовать состоянию гиперцитокинемии, которая сильно связана с сердечно-сосудистыми заболеваниями и плохим исходом в популяции больных с ХБП 5 стадии [182].

Провоспалительные цитокины и хемокины, опосредуют воспаление у пациентов с ХБП 5 стадии и связаны с показателями атеросклероза и с повышенной смертностью. Точный механизм, посредством которого цитокины способствуют развитию атеросклероза при ХБП 5 стадии, не вполне понятен [14, 123].

Известно, что цитокины регулируют производство различных молекул адгезии, следовательно, способствуют адгезии лейкоцитов к сосудистому

эндотелию, что является ранней стадией образования атеросклеротических бляшек [42].

Другие возможные механизмы включают повышение уровней фибриногена, липопротеина и С – реактивного белка (СРБ) [92].

Соотношения между нарушениями адаптивного иммунитета и сердечно-сосудистыми заболеваниями включают выше упомянутое увеличение отношения баланса Т-хелперов 1 и 2 типа (Th1/Th2), обнаруженное у пациентов на ГД, которое, как полагают, связано с повышенным риском атерогенеза и сердечно-сосудистых заболеваний [193].

Казалось бы парадоксальным, что снижение активности системы ТПР должно привести к снижению риска сердечно-сосудистых заболеваний. Так, проведенные исследования показали, что, несмотря на то, что субъекты с полиморфизмом ТПР 4-типа, которые приводили к снижению их регуляции, были более восприимчивы к тяжелым бактериальным инфекциям, имели более низкий риск развития атеросклероза сонных артерий и снижение толщины интимы [103].

Эти результаты свидетельствуют о том, что нарушенный врожденный иммунитет может защитить от атеросклероза, который приводит к снижению сердечно-сосудистой смертности из-за ослабленной передачи сигналов рецепторов и уменьшения воспалительного ответа.

Если подобная ситуация наблюдается у пациентов с ХБП 5 стадии, то с нарушением иммунитета могут иметь преимущество в выживании в виде более низкого риска сердечно-сосудистых заболеваний. С другой стороны, если пациенты сталкиваются с инвазивными патогенами, нарушение иммунитета может привести к более тяжелым инфекциям и увеличению смертности из-за инфекций [172].

Таким образом, данный обзор указывает что уремия, обусловленная ХБП 5 стадии, ассоциируется с состоянием дисфункции иммунной системы, характеризующейся иммунодепрессией, что, вероятно, способствует высокой распространенности инфекций среди таких пациентов, а также

иммуноактивации, и это приводит к воспалению, которое может способствовать сердечно-сосудистым заболеваниям.

Повидимому, ухудшение иммунной системы само по себе или через предрасположенность к инфекциям приводит к воспалению и увеличению риска возникновения ССЗ и их прогрессированию. Вполне вероятно, что иммунная дисфункция при уремии значительно способствует высокой преждевременной смертности у пациентов с ХБП 5 стадии путем опосредования сердечно-сосудистых и инфекционных осложнений двух наиболее распространенных причин смерти у этих пациентов.

Поэтому меры, направленные на выявление иммунных аномалий при ХБП 5 стадии, должны быть основной областью исследований, поскольку это может привести к улучшению результатов трансплантации почки.

1.2. Роль иммунологического мониторинга до и после трансплантации почки

В клинической нефротрансплантологии отторжение почечного трансплантата оставалось главным препятствием, не позволяющим добиться оптимальных результатов операции.

Биопсия трансплантата всегда была золотым стандартом для оценки иммунного ответа на аллотрансплантат почки организмом. Биопсия не лишена риска и не может предсказать отторжения трансплантата, а является только диагностической процедурой [192].

За последние два десятилетия наблюдается расширение спектра анализов, которые потенциально могут положить конец эпохе «уровня иммуносупрессии», которая до сих пор была одним из немногих инструментов доступных клиницистам для мониторинга иммунного ответа [173].

Лучшее понимание механизмов отторжения, а также доступность технологических достижений привело к разработке новых неинвазивных методов для мониторинга иммунного статуса [129].

Недавние успехи в лечении отторжения почек после трансплантации, включая разработку новых иммунодепрессантов, привели к значительному улучшению краткосрочных результатов. Тем не менее, реципиенты и клиницисты, которым приходится полагаться на препараты с ограниченным терапевтическим окном, попадают в выбор между отторжением и побочными эффектами самих препаратов, таких как инфекция, токсичность и лимфопролиферативные заболевания [46].

Чувствительность индивидуумов к иммунодепрессантам требует необходимости в анализах, которые могут непосредственно оценивать иммунный ответ и предоставлять больше информации об иммунологическом статусе реципиента [13]. Например, для достижения толерантности к трансплантации, необходимо иметь надежный и воспроизводимый метод для обнаружения биомаркера, для возможности идентифицировать реципиентов, у которых может возникнуть толерантность к органу, либо оптимизировать иммуносупрессию индивидуально [2,119]. Идеальный инструмент для клинического мониторинга должен быть неинвазивным, недорогим, воспроизводимым доступным для врачей и пациентов. Существуют последние данные по идентификации биомаркеров и неинвазивному иммунологическому мониторингу на основе анализа периферической крови и анализа мочи [179].

Методы иммунологического мониторинга можно в целом разделить на антигенспецифические и не антигенспецифические анализы. Преимуществом антигенспецифических анализов является их способность различать донор-специфический иммунный ответ на сторонние антигены [24].

Значительное влияние предтрансплантационных специфичных анализов до трансплантации почки на результаты трансплантации достаточно установлены [54, 109]. Недавние проводимые исследования с использованием

твердофазных анализов и проточной цитометрии улучшили результаты предтрансплантационной подготовки реципиентов [116, 175].

Обнаружение циркулирующего анти-HLA-антитела в настоящее время является широко используемым иммунологическим мониторингом в клинической практике и включено в классификационную систему Banff, где присутствие специфического к донору анти-HLA-антитела (DSA) считается диагностическим критерием для опосредованного антителом отторжения (AMR)[16,179].

Комплемент-зависимая цитотоксическая перекрестная реакция к антителам против HLA дает дополнительную информацию о риске отторжения, особенно у пациентов с высоким иммунологическим риском [159], а также выборе протоколов десенсибилизации до трансплантации почки [121].

Платформа Lumineх является наиболее часто используемым твердофазным анализом для выявления антител HLA и обнаружения DSA [108]. Появление посттрансплантационных анти-HLA-антител, таких как DSA, так и не-донор-специфических [не DSA], связано с неудовлетворительными результатами при аллотрансплантации почек [21,23]. Было показано, что DSA оказывают больше влияние на результаты трансплантации, чем не DSA [165]. Наличие посттрансплантационных уровней DSA-антител может потенциально помочь клиницистам. В смешанной реакции лимфоцитов инактивированные донорские клетки с действием как антиген-представляющие клетки, смешивают с CD4+Т-клетками-реципиентами. Степень пролиферации Т-клеток измеряется с использованием радиоактивного тимидина или внутриклеточной флуоресцентной метки карбоксифлуоресцеинадиацетата сукцинимидилового эфира. Пролиферация отражает аллореактивность в основном за счет HLA II класса. Анализ, основанный на аналогичной концепции, представляет собой анализ лимфотоксичности, опосредованный клетками, который измеряет способность цитотоксических Т-клеток [CD8+] убивать донорские клетки, отражая при этом аллореактивность посредством связывания в основном с HLA I класса [45]. Необходимо отметить, что из-за изменения методов и сложности

стандартизации этих анализов, приводящих к несоответствующим результатам, клиническая полезность их при трансплантации почки ограничена [105].

Анализ ELISPOT используется для определения продукции цитокинов аллореактивными Т-клетками. Т-клетки-реципиента инкубируют с донорными клетками на пластине, покрытой антителом, специфичным для определенного цитокина. Донор-реактивные Т-клетки при взаимодействии с донор-специфическими клетками секретируют цитокин, который захватывается антителом на пластинке. Как только Т-клетки смыты с пластины, добавляется меченное второе цитокин-специфическое антитело, что приводит к фотореакции, где каждое пятно представляет собой одну активированную Т-клетку [120].

Интерферонгамма (IFN- γ) является наиболее широко используемым цитокином для анализа в ELISPOT. В этом случае Т-клетки-реципиента инкубируют с донором (для обнаружения «прямого» аллоиммунного ответа) или получающих антиген-представляющих клеток (для обнаружения непрямого аллоиммунного ответа) на пластине с покрытием против IFN γ [28]. В нескольких исследованиях была обнаружена корреляция между Т-клетками, продуцирующими IFN- γ до и или после трансплантации с результатами трансплантации почки.

Более высокий ответ реактивного Т-клеточного ответа был обнаружен у реципиентов, у которых возникло острое отторжение по сравнению с реципиентами, имевших стабильную функцию аллотрансплантата [55, 122, 157].

В другом исследовании посттрансплантационного донорно-специфического анализа ELISPOT было обнаружено, что индукция гломинулина антитимоцитов пролонгировала специфическую для доноров гиперспособность по сравнению с индукцией блокатора IL-2. Однако оба метода индукции выявили аналогичную стороннюю аллореактивность [55].

Основываясь на ELISPOT при анализе на реактивные Т-клетки в панельной реакции может быть выполнен с использованием панели аллогенных

клеток вместо донорских клеток [59]. Подобно анализу на панель-реактивные антитела, предтрансплантационный панельно-реактивный Т-клеточный анализ также может прогнозировать реакцию острого отторжения аллотрансплантата почки [27, 56, 68].

В недавно проведенном исследовании был разработан HLA-специфический В-клеточный ELISPOT-анализ, используя рекомбинантные мономеры HLA в качестве мишени для ELISPOT. Этот анализ позволяет количественно определять В-клетки, продуцирующие специфические антитела к HLA [114].

У HLA-иммунизированных здоровых людей и пациентов, которые находились в списке ожидания для ретрансплантации, выявили большее количество HLA-специфичных В-клеток по сравнению с неиммунизированными индивидуумами. Для подтверждения данного преимущества этого нового инструмента мониторинга гуморального иммунитета у реципиентов почек необходимы широкомасштабные исследования [115].

Посттрансплантационный мониторинг аллореактивности с помощью ELISPOT является многообещающим методом и может предоставить информацию о стратификации риска. Однако для проверки этой концепции необходимы дополнительные исследования.

Измерение уровней иммунодепрессантов не предсказывает непосредственно реакционную способность Т-клеток. Усилия по измерению чувствительности Т-клеток привели к поиску анализов, которые могут измерять пролиферацию Т-клеток ещё до неспецифических стимулов [32].

Измерение нуклеотидного аденозинтрифосфата (АТФ) теоретически позволяет провести прямой анализ активности Т-клеток и оценки иммуносупрессивного состояния [76,179].

Анализ Immu Know был одобрен управлением по контролю за продуктами и лекарствами FDA для обнаружения изменений в активности иммунной системы. После инкубации образца цельной крови с

неспецифическим митогенным фитогемагглютинином CD4 + Т-клетки выделяют магнитным путем и лизируют для высвобождения АТФ, который можно определить количественно путем добавления люминесцентного детектирующего реагента. Более высокий уровень АТФ подразумевает более высокую степень реактивности Т-клеток, и, следовательно, потенциал при иммуносупрессии, тогда как более низкий уровень предполагает более выраженную иммуносупрессию [12].

Мета-анализ, проведенный на реципиентах солидных органов, показал, что низкие значения АТФ были связаны с инфекциями, тогда как высокие значения АТФ были связаны с острым отторжением [106]. Проспективные исследования по высвобождению АТФ у 36 реципиентов почек, показали связь между значениями АТФ и неблагоприятными исходами после трансплантации. У реципиентов с более высоким уровнем АТФ в раннем трансплантационном периоде чаще отмечалось острое отторжение. Эпизоды инфекции были связаны с более низкими значениями АТФ [179].

Однако в другом исследовании авторы не обнаружили никакой связи между уровнями нуклеотидного АТФ и острым отторжением. Кроме того они обнаружили, что у реципиентов почек, получивших индукционную терапию тимоглобулином, только низкие значения АТФ могут прогнозировать неблагоприятные исходы. Более высокие значения АТФ не предсказывают острого отторжения. Интересно, что уровень АТФ не коррелировали с количеством лимфоцитов CD4+, но, как правило, коррелировал с суммарным количеством лейкоцитов и нейтрофилов в крови [117].

В целом, хотя анализ на АТФ прост в применении, но он не является антигенным, и не может диагностировать инфекцию или отторжение у реципиентов почек [113].

Анализ на растворимый CD30, который является членом надсемейства рецепторов фактора некроза опухолей в Т-клетках 2 типа, был описан как маркер Т-клеток памяти и также был обнаружен на В-клетках, CD8+ Т-клетках и натуральных клетках киллерах (NK) [101, 190].

После активации Т-клеток растворимый CD30 (sCD30) высвобождается в кровотоки и может быть легко обнаружен с помощью иммуноферментного анализа. Повышенный уровень sCD30 в сыворотке крови был обнаружен при болезни Ходжкина и иммунных заболеваниях, вызванных клетками Т хелперами 2 типа. В некоторых исследованиях было установлено, что высокие значения sCD30 в предтрансплантационном периоде связаны с отторжением после трансплантации почек [124, 180]. До трансплантации реципиенты почек имеют более высокие значения sCD30 по сравнению с здоровыми [30].

В раннем посттрансплантационном периоде sCD30 полезен для дифференциации реципиентов, у которых развивается острая реакция отторжения у пациентов с острым канальцевым некрозом (ОКН) и без осложнений [60]. Было также изучено измерение уровня sCD30 для прогнозирования поздних исходов. Более высокие уровни sCD30 были связаны с более низкой долгосрочной функцией аллотрансплантата почек и выживаемостью [100].

Высокие уровни sCD30 на 5-й день и 7-й день после трансплантации были связаны с более поздними эпизодами острого отторжения [82]. Однако эта связь не сообщалась в других исследованиях [187]. Чтобы применить мониторинг sCD30 в клинической практике, важно помнить, что sCD30 представляет собой большую молекулу 120 кДа. Его уровни в крови могут зависеть от функции почек и проведения диализа, поскольку сообщалось, что sCD30 может быть маркером почечной функции, а не иммунологическим биомаркером. Кроме того, одно исследование у здоровых детей показало, что концентрация sCD30 значительно варьирует от возраста [69]. Необходимы дополнительные исследования, чтобы прояснить надежность sCD30 в иммунологическом мониторинге, особенно после трансплантации почки у пациентов с изменчивой функцией почек.

Проточная цитометрия, как метод, используется для подсчета количества клеток и изучения различных образцов рассеяния света одиночных клеток при воздействии светового луча. Поверхностные антигены, внутриклеточные

антигены, цитокины и фосфорилированные белки могут быть обнаружены с использованием проточной цитометрии. Преимущество этого анализа не только в том, что используется для его выполнения небольшой объем образца, но также в его способности одновременно фенотипировать различные клеточные популяции [151]. Поскольку различные типы лимфоцитов экспрессируют разные маркеры, проточная цитометрия может предоставить информацию об иммунофенотипе каждого образца, такую, как доля наивных Т-клеток, активированных CD4⁺ Т-клеток, Т-клеток памяти, регуляторных Т-клеток, дендритных клеток, В-клеток, и NK-лимфоцитов. Мониторинг баланса воспалительных и регуляторных сторон иммунной системы важен для трансплантации почки. Эффекторная клетка памяти, может быть обнаружена и дифференцирована от наивных Т-клеток при помощи выявления рецептора на их поверхности, таких как CD25, CD45RA, CD45RO и CD62L [47].

Регуляторные Т-клетки, которые, как считается, имеют решающее значение для иммунорегуляции и толерантности к трансплантатам имеют следующие фенотипы - CD4, CD25 [29, 73]. Их обнаружение требует внутриклеточного окрашивания, фиксации и пермеабелизации, что ухудшает жизнеспособность клеток. Рецептор к IL-7 (CD127) является альтернативой внутриклеточному окрашиванию. В CD4⁺ и CD25⁺ клетках экспрессия CD127 коррелировала обратно с экспрессией FoxP3, и, CD4⁺CD25⁺CD127 клетки показали подавляющую активность [179]. Кроме того, увеличенное количество CD4⁺CD25⁺CD127-активированных Т-клеток, и уменьшенное количество FoxP3⁺ регуляторных Т-клеток, которые были связаны с хроническим гуморальным отторжением у реципиентов почек [84, 86, 160]. У толерантных же реципиентов к почечному трансплантату было нормальное количество регуляторных Т-клеток, сходных со здоровыми [87].

Недавно обнаруженный латентный пептид (ЛП), который является аминоконцевым доменом пептида-предшественника TGF- β , был идентифицирован как новый поверхностный маркер, специфичный для

регуляторных Т-клеток [154]. Этот новый маркер, возможно, в будущем будет служить в качестве альтернативы проточной цитометрии.

Иммунодепрессивные препараты могут оказывать различное действие на подгруппы Т-клеток. Проточная цитометрия может быть полезна при обнаружении таких различий. Многие исследования показали, что ингибиторы кальциневрина (ИКН) связаны с более низкими отношениями регуляторных Т-клеток [168, 191].

Обнаружено, что В-клетки играют все более важную роль в иммунном регулировании. Истощение или дефицит В-клеток, как было показано в исследовании приводили к ухудшению иммунологически опосредованных заболеваний [81]. В периферической крови толерантных реципиентов было обнаружено увеличение количества общих В-клеток, включая активированные В-клетки, В-клетки памяти и ранние В-клетки памяти [166].

Более того, В-клетки этих реципиентов также показали высокие уровни экспрессии CD1d+ и CD5+, которые считаются регуляторными фенотипами. Эти результаты подтверждены более крупными исследованиями, проведенным и путем перепрограммирования иммунной системы для установления толерантности [RISET] и сети иммунной толерантности (ITN) [33]. Кроме того, эти исследования показали, что у толерантных реципиентов были повышенные уровни наивных (CD19+CD27-IgM+IgD+) и переходных В-клеточных подмножеств (CD19+CD24+CD38+IgD+), которые также обладали иммунорегуляторной функцией.

Анализ В-клеточных подмножеств показал, что переходные В-клетки являются наиболее прогнозируемой популяцией с чувствительностью 83% и специфичностью 75% [33].

Обоснование мониторинга экспрессии генов основано на идее о том, что нарушение гена может предшествовать клиническому или гистологическому отторжению [179]. Исследования экспрессии генов обеспечивают не только диагностические, но и прогностические значения [95].

Периферическая кровь является легким источником выделения ДНК. Исследования экспрессии генов можно разделить на классические исследования с одним геном и высокопроизводительные микрочипы, позволяющие изучать полную экспрессию генов. Профилирование экспрессии гена с помощью микрочипов все чаще используется исследователями для многих целей, включая поиск шаблонов профилей генов для конкретных условий, определение биомаркеров иммунологического мониторинга и изучение механизмов отторжения и толерантности. Однако тестирование на основе одного гена имеет более высокую чувствительность и специфичность, чем микрочипы. Ген-кандидат, обнаруженный микрочипом, должен быть дополнительно проверен с помощью тестов на основе одного гена.

Еще одна проблема в исследовании экспрессии генов-транскрипция гена в белок. Не все экспрессируемые гены будут транскрибироваться белками. Это открытие может привести к расхождениям между профилированием генов и клиническими исходами [156].

Острое отторжение - это многоступенчатый процесс, который начинается с иммунной активации, включает воспаление и тубулоинтерстициальное повреждение, и заканчивается повреждением или выздоровлением. Многие белки и пептиды экспрессируются во время этого процесса и могут быть обнаружены протеомным исследованием [75].

Кандидатные белки или пептиды для идеального биомаркера должны быть обнаружены на ранней стадии процесса отторжения аллотрансплантата и иметь возможность дифференцировать отторжение от других причин дисфункции аллотрансплантата, таких как острый канальцевый некроз (ОКН) или другие неспецифические причины необратимого повреждения [148].

В заключение необходимо отметить, поскольку манипуляция с иммунной системой является ключом к трансплантации, мониторинг иммунологического ответа имеет решающее значение для понимания среды в которой аллотрансплантат функционирует у любого человека. В настоящее время нет лучшего метода иммунологического мониторинга, но за последние несколько

лет были достигнуты значительные успехи. С развитием этих технологий понимание сильных и слабых сторон каждого теста позволит клиницистам интегрировать эти методы мониторинга в клиническую оценку для достижения наилучших долгосрочных результатов у реципиентов.

1.3. Факторы риска, влияющие на иммунный статус и на результаты трансплантации почек

Многие факторы могут влиять на иммунный статус реципиента почки, но только количество несоответствий человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) сейчас признано несомненным фактором риска, а относительная важность других факторов часто остается неопределенной [9,195]. Антитела к лейкоцитарным антигенам человека формируются при помощи воздействия чужеродных молекул HLA, таких, как продукты крови, чужеродные ткани и органы во время трансплантации, беременность, роды и др [38, 137].

В недавних клинических испытаниях, в которых выборочно проводился набор пациентов только с «высоким риском» были выбраны другие критерии для включения: рассматривалась только сенсibilизация на основе панели реактивных антител (PRA), и что может быть удивительно, несоответствие по гаплотипам HLA не было включено в критерий отбора [61].

Частота острого отторжения после трансплантации почки существенно снизилась с середины 1990-х годов, стабилизировавшись в последние годы до 10–25% через год после трансплантации в зависимости от уровня иммунологического риска [93]. Большой анализ реестра США, основанный на данных с 2004 по 2007 год, показывает, что острое отторжение увеличивает риск смерти более чем на 70% [109].

Имеется множество факторов, способствующих возникновению дисфункции почечного трансплантата. Среди причин нарушения ранней функции почечного трансплантата различают: острый канальцевый некроз, острое антитело-опосредованное отторжение, кортикальный некроз/инфаркт,

эндотелиальное повреждение, острую токсичность ингибиторов кальциневрина, тромботическую микроангиопатию, медикаментозный интерстициальный нефрит, молниеносное возвратное заболевание [22].

Молодой возраст на момент трансплантации увеличивает риск острого отторжения, эффект частично объясняется возрастными изменениями эффективного иммунного ответа Т-клеток у пожилых пациентов, а частично меньшим соблюдением предписанного режима приема иммуносупрессантов [96].

Потенциальное влияние пола реципиента на иммунологический риск остается спорным. Самая большая популяция, подлежащая изучению серия из 27707 пациентов из реестра США выявила более высокий риск острого отторжения у реципиентов мужчин, в то время как исследования вне реестра сообщили о более высоком риске у женщин [147].

Отсутствие последовательных данных и скудость результатов из недавних исследований не поддерживают включение пола, как фактора в оценку иммунологического риска, если при этом женщины не имели в анамнезе беременностей [144].

Чернокожая этническая принадлежность реципиента является хорошо известным фактором риска острого отторжения после трансплантации почки даже при современных режимах иммуносупрессии [174].

У афроамериканцев более высокая частота полиморфизма CYP3A5 (генотип CYP 4503A5*1), что связано с низкой экспозицией такролимуса для данной дозы, что способствует повышенному риску отторжения органа [162].

Предполагается, что пациенты с патологическим ожирением (индекс массы тела ≥ 35 кг/м²) могут иметь более высокий риск отторжения, но в остальном вес не является влияющим фактором [85].

В одноцентровом исследовании у пациенток с симультантной трансплантацией печени и почки, у которых в анамнезе была хотя бы одна беременность, были увеличены уровни анти-HLA-антител [107].

Одноцентровое исследование на 64 реципиентах, у которых имелись донор специфические антитела (DSA), показало, что у 32% они были вызваны беременностью и повышение предтрансплантационных уровней DSA до пикового уровня к 30 дню после трансплантации были выше у группы с анамнезом, имеющие беременность, чем для специфичности вызванной предшествующей трансфузией или трансплантацией [149].

Таким образом, пациентки женского пола с одной или более одной беременностью должны рассматриваться как группы промежуточного иммунологического риска, даже если уровень DSA низкий до момента трансплантации.

Влияние несоответствия HLA на риск острого отторжения неоспоримо [41, 125, 150]. Крупное проведенное исследование, в США показало, что у пациента, получавшего трансплантат почки от донора с более чем тремя несовпадениями по гаплотипам HLA, риск острого отторжения к 1 году составлял более чем 50% по сравнению с трансплантатом от донора с нулевым несоответствием [125]. Другие авторы подтвердили значительную связь между 4–6 несовпадениями по HLA и риском отторжения [122].

Такой фактор, как время холодовой ишемии является хорошо документированным фактором риска потери трансплантата после трансплантации почки, поскольку каждый дополнительный час холодовой ишемии увеличивает риск отторжения трансплантата. Было подсчитано, что 30 часов гипотермического консервирования увеличивает потерю трансплантата на 40% по сравнению с шестью часами [57].

Влияние увеличенного времени холодовой ишемии возникает из-за ишемическо-реперфузионного повреждения и большего риска замедленной функции трансплантата (ЗФТ), а не из-за усиленного иммунологического ответа реципиента. Поскольку ЗФТ является установленным фактором острого отторжения, длительное время холодовой ишемии может косвенно повлиять на риск его возникновения [199].

У реципиентов получающих почку от живых доноров, холодовая ишемия больше 8 часов также влияет на процент ЗФТ. С точки зрения оценки иммунологического отторжения, ЗФТ оказывается более значимым фактором риска острого отторжения [90].

Несмотря на доступность средств стимулирующих эритропоэз, анемия остается серьезной проблемой во всем мире. Риск сенсibilизации при переливании эритроцитов или компонентов крови часто недооценивается из-за популярного заблуждения, что эритроциты (являющиеся энуклеированными клетками) не экспрессируют молекулы HLA. На самом деле эритроциты экспрессируют низкие уровни молекул HLA I класса, 100–2000 на клетку (по сравнению с $1-2 \times 10^5$ на лейкоцитах) [152].

Так, несколько исследований с использованием современных методов твердофазных анализов подтвердили, что переливание крови вызывает HLA-аллоиммунизацию [127]. В исследовании у пациентов мужского пола, ожидающих своей первой трансплантации, переливание лейкодеплементированных эритроцитов было связано с относительным риском развития анти-HLA-антител в 4 раза по сравнению с пациентами, которым не переливали кровь [194].

Таким образом, эритроциты представляют значительный риск сенсibilизации к HLA. Другие продукты крови, содержащие лейкоциты или тромбоциты, также являются иммуногенными, и часто необходимы, наряду с кровью. В частности, тромбоциты содержат 81587 (± 20016) молекул HLA на клетку [127]. Рефрактерность тромбоцитов является признанным осложнением множественных трансфузий на фоне злокачественных новообразований и часто требует лечения HLA-подобранными тромбоцитами. Исследования сенсibilизации к HLA у пациентов с ХБП, у которых нет такой высокой потребности в тромбоцитах, еще не опубликованы [134].

Лейкоциты, фрагменты лейкоцитов, ДНК, HLA-пептиды, клеточный дебрис и провоспалительные цитокины, которые накапливаются в жидкой

суспензии продукта крови во время хранения, могут потенциально вызывать сенсibilизацию при переливании крови [134, 188].

Таким образом, возможности индивидуального выбора поддерживающей иммуносупрессии после трансплантации почки, как никогда велики, что требует более точной, чем в прошлом оценки иммунологического риска перед трансплантацией. Клиницисты трансплантологи сталкиваются с множеством факторов, которые необходимо учитывать, и хотя надежная индивидуальная оценка риска пока невозможна, пациентов можно разделить на различные группы иммунологического риска. Некоторые общепринятые факторы риска остаются критическими и всегда должны приниматься во внимание, в частности, наличие анти-HLA-антител, несоответствие по HLA-антигенам (особенно несовпадение HLA DR и DQ локусам).

1.4. Эффективность современных схем иммуносупрессии

Достижения в области иммуносупрессивных протоколов за последние десятилетия привели к значительным улучшениям в области трансплантации почек. Несмотря на эти достижения, четкие доказательства положительного влияния на долгосрочную выживаемость трансплантата отсутствуют [99]. Благодаря новым схемам иммуносупрессивной терапии иммунологические причины ранней недостаточности трансплантата стали редкостью. Однако поздняя потеря трансплантата практически не изменилась за последние несколько десятилетий из-за стойкости хронического повреждения аллотрансплантата [3,24]. Добавление новых иммунодепрессантов резко повысило эффективность и снизило одногодичную частоту острого отторжения с 40-50% до 10-15% с увеличением годовой выживаемости трансплантата с 80-85% до 90-95% [161]. Сегодня острое отторжение, опосредованное T-клетками, в основном обратимо, и при успешном лечении оказывает лишь ограниченное влияние на долгосрочный исход. Позднее острое отторжение случается редко,

что указывает на очень эффективную профилактику отторжения текущими лекарствами в контексте более низкого иммунологического риска [70].

Таким образом, существующие протоколы очень эффективны в предотвращении опосредованного Т-клетками отторжения, но менее успешны в предотвращении В-клеточных гуморальных иммунных ответов [4]. Частоту опосредованного антителами отторжения с помощью существующих протоколов трудно определить количественно, она зависит от иммунологического риска и времени после трансплантации и часто связана с опосредованным Т-клетками отторжением [11,93].

Сегодняшняя иммуносупрессия после трансплантации в основном основана на комбинированной лекарственной терапии, каждый компонент которой имеет свой механизм действия [72].

Теоретически мы хотим достичь идеальной терапевтической иммуносупрессии, которая достаточно сильна, что бы предотвратить отторжение, но не приводит к явлениям чрезмерной иммуносупрессии, такой как инфекция и рак. В идеале иммунодепрессанты обладают синергетической эффективностью, приводящей к существенно более низким требованиям к дозировке. Снижение дозозависимой токсичности с помощью относительно низких стратегий дозирования в синергетических комбинациях привело к лучшей переносимости и эффективности [89].

Комбинация оптимизированной иммуносупрессии с лучшей диагностикой (обнаружение HLA-антител), лучшими сопутствующими терапевтическими средствами, например, при ЦМВ-болезни, гипертонии (например, блокаторы ренин-ангиотензина), лучшими хирургическими стандартами и многими другими факторами (например, лучшее выявление и профилактика нарушений свертывания крови) значительно снизила потерю трансплантата в первый год за последние 30 лет [89].

При таких отличных краткосрочных результатах трудно продемонстрировать какие-либо улучшения в эффективности, за исключением уменьшения побочных эффектов. Вследствие убывающей зависимости от

времени иммунологического риска, иммунодепрессанты уменьшаются с течением времени, что отражается только короткой индукцией, стероидным сужением, и постепенным снижением уровня препаратов ингибиторов кальцийневринов (CNI) [17,198].

Хотя существует много доказательств в оптимальной иммуносупрессии в первый год, только немногочисленные проспективные данные из нескольких крупных рандомизированных исследований предоставляют некоторые доказательства для поддерживающего периода, который был бы важен для большинства поддерживающих пациентов при длительной иммуносупрессии. Многие центры продолжают тройную поддерживающую терапию, другие нацелены на двойную иммуносупрессивную стратегию, а некоторые пациенты из группы низкого риска даже получают монотерапию [71].

Такие стратегии минимизации нацелены на снижение побочных эффектов, связанных с конкретным лекарством, для улучшения индивидуальной переносимости и приверженности. Тем не менее, сегодня неясно, влияют ли они на долгосрочные результаты. Как уже отмечалось, частые побочные эффекты иммунодепрессантов остаются важной клинической проблемой, которая также отрицательно влияет на долгосрочный успех после трансплантации [26].

Следовательно токсичность лекарств является неизбежной, частой и важной проблемой как для пациента, так и для врача. Текущие протоколы нацелены на снижение таких специфических для иммунодепрессантов побочных эффектов с помощью синергетического режима. За последние два десятилетия успешные стратегии минимизации явно снизили бремя побочных эффектов и привели к лучшим результатам. В повседневной практике частыми проблемами остаются чрезмерная иммуносупрессия и побочные эффекты от нее. Очевидно, что профилактика лучше лечения, что также относится ко многим побочным эффектам иммунодепрессантов [158].

Таким образом, упреждающая и контролируемая стратегия минимизаций не только снизит дозозависимые побочные эффекты, но и предотвратит осложнения, связанные с приемом лекарств.

Риск потери трансплантата после истечения первого года еще выше по сравнению с 20 – летней давностью, и связан с увеличением трансплантации органов от маргинальных доноров [135]. Взятые вместе, злокачественные новообразования и инфекции являются основной причиной смерти с функционирующим трансплантатом и являются явными симптомами чрезмерной иммуносупрессии. Эти неспецифические побочные эффекты всех иммунодепрессантов напрямую связаны с их иммунодепрессивными эффектами, комбинированной терапией с другими иммунодепрессантами и совокупным иммунодепрессивным бременем с течением времени [145].

В то время как инфекционная смертность снижалась за последние десятилетия (благодаря лучшей диагностике и лекарствам), смертность от злокачественных новообразований возрастала. Это подчеркивает необходимость адекватной иммуносупрессии, которая является более чем отличной профилактикой отторжения в первые месяцы после трансплантации [169].

Таким образом, большинство основных причин отсутствия улучшения долговременной выживаемости аллотрансплантата прямо или косвенно связаны с бременем побочных эффектов текущих иммуносупрессивных режимов (нефротоксичность, метаболические побочные эффекты, несоблюдение режима приема) или связаны с избыточной иммуносупрессией [186].

Напротив, острое отторжение у пациентов встречается редко, и в настоящее время нет доказательств того, что усиление стандартной иммуносупрессии приведет к уменьшению хронического гуморального отторжения [93].

Таким образом, существует очевидная медицинская потребность в дальнейшем изучении стратегий минимизации воздействия иммуносупрессии, особенно у пациентов, получающих стандартную поддерживающую терапию.

Такие протоколы минимизации должны быть проверены в строгих клинических испытаниях по сравнению со стандартной терапией, чтобы обеспечить надежную научную основу для улучшенных схем приема лекарств в будущем.

В будущем новые иммуносупрессивные стратегии должны быть нацелены на снижение побочных эффектов существующих иммунодепрессантов либо путем клинической разработки новых более селективных препаратов с лучшей переносимостью, либо путем постоянной оптимизации текущих протоколов лечения [89]. Это должно обеспечить более эффективную иммуносупрессию с гораздо меньшим количеством побочных эффектов, что приведет к значительному улучшению долговременной выживаемости трансплантата. Как следствие, уменьшение побочных эффектов в сочетании с лучшей профилактикой развития HLA - антител имеет решающее значение для улучшения долгосрочных результатов [132].

В заключение необходимо отметить, что эта цель может быть достигнута с помощью зависящих от времени и оптимизированных иммуносупрессивных протоколов, поскольку риск отторжения со временем снижается, а побочные эффекты увеличиваются. Однако ключом ко всем будущим улучшениям остаются хорошо проведенные и обладающие достаточной доказанностью клинические испытания, которые необходимы для обеспечения прочной доказательной базы для всех этих стратегий минимизации.

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая клиническая характеристика пациентов

Объектом исследования являлись 100 больных с ХБП 5 стадии, которые были распределены на 3 группы в зависимости от степени иммунологического риска острого отторжения до трансплантации почки. Степень иммунологического риска оценивалась по совместимости HLA-антигенами, количеству предшествующих антител (PRA) (таблица 1). Группа из 30 здоровых лиц в возрасте от 21 до 56 лет была обследована с целью сравнения. Всем больным проводилась заместительная почечная терапия в виде гемодиализа. Среднее время продолжительности гемодиализа составило $4,5 \pm 1,2$ лет.

Таблица 1. - Совместимость между донорами и реципиентами по гаплотипам I и II класса HLA

HLA-совместимость	Число больных	%
Совместимость по I классу		
A*локус	35	35,0%
B*локус	65	75,0%
ВСЕГО	100	100%
Совместимость по II классу		
DR*локус	13	13,0%
DP*локус	58	58,0%
DQ*локус	29	29,0%
ВСЕГО	100	100%

Примечание: процент совместимости к количеству обследованных больных

Исследования проводили в лаборатории по иммуногенетическим исследованиям ННЦТО и ТЧ МЗ и СЗН РТ. Из приведенной выше табл. 1

видно, что совместимость по 1 классу HLA-A* локусу составляла 35,0%, а по HLA-B* локусу - 75,0%. Совместимость по 2 классу HLA по DR* локусу процент совместимости составлял 13,0% по DP* локусу 58,0% и по DQ* локусу - 29,0%.

Распределение больных с ХБП 5 стадии по группам риска острого отторжения в зависимости от процента PRA антител показало, что PRA=0-10% - имелось у 35 больных, что составило 35,0%, с PRA>0%-30% составило 33 (33,0%), а с PRA>30%-80% - 32 (32,0%) (таблица 2).

Таблица 2. - Распределение больных с ХБП 5 стадии по группам риска острого отторжения в зависимости от процента (PRA антител)

Показатель	PRA=0%	PRA>0%- 30%	PRA>30%- 80%	Всего
Количество	35	33	32	100
%	35,0%	33,0%	32,0%	100%

Примечание: процент PRA антител к количеству больных с ХБП 5 стадии

При определении совместимости по гаплотипам HLA и предшествующим антителам, мы выделили три группы иммунологического риска по острому отторжению (рис.1).

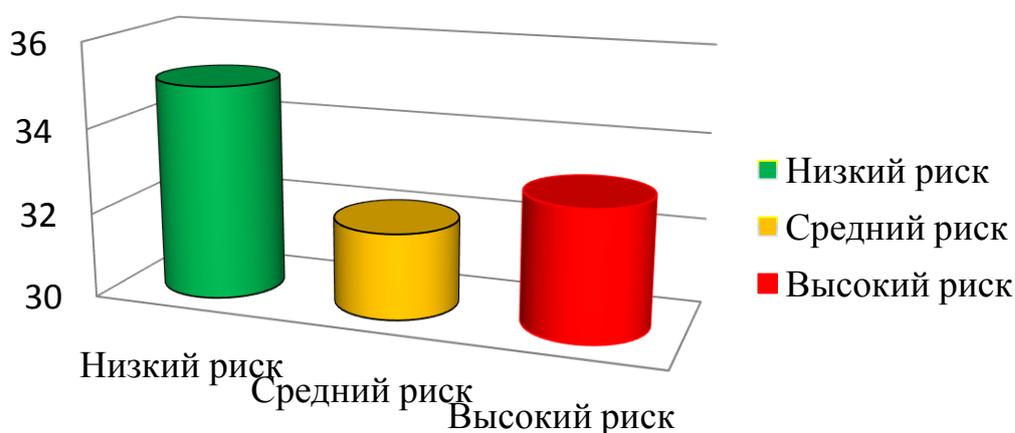


Рисунок 1. - Распределение больных по группам иммунологического риска

Как видно из рис.1, с низким иммунологическим риском было 35 (35, 0%) больных, средний иммунологический риск составил 33 (33, 0%) и высокий иммунологический риск - 32 (32, 0%). Распределение больных по возрасту показало, что преимущественно больные с ХБП 5 стадии находились в возрасте от 20-39 лет, что составило 62 (62%) (таблица 3).

Таблица 3. - Распределение больных с ХБП 5 стадии по возрасту (в годах)

Возраст (в годах)	Число больных	%
14-19	10	10%
20-29	30	32%
30-39	32	30%
40-49	13	13%
50 и более	15	15%
Всего	100	100%

Примечание: процент к общему числу больных

При этом лиц мужского пола было 56 (56, 0%), женского 44 (44, 0%), средний возраст больных составил $38,5 \pm 3,8$ лет.

При анализе этиологической причины, приведшей к ХБП 5 стадии, было выявлено, что главной причиной ХБП 5 стадии явился хронический гломерулонефрит - 60% случаев, далее следовали аномалии развития почек 10% и мочевыводящей системы 10%, поликистоз почек 10%, хронический пиелонефрит 9%, мочекаменная болезнь (МКБ) 9%, системные васкулиты 2% (таблица 4).

Таблица 4. - Этиологические причины, приведшие к ХБП 5 стадии

Основной диагноз	Число больных	%
Хронический гломерулонефрит	60	60,0%
Аномалии развития	10	10,0%
Поликистоз почек	10	10,0%
Хронический пиелонефрит	9	9,0%
МКБ	9	9,0%
Системный васкулит	2	2,0%
Всего	100	100%

Примечание: процент к общему числу больных

В зависимости от степени иммунологического риска больным на основании разработанной схемы конкретизации выбора иммуносупрессии были применены следующие схемы иммуносупрессии (рис.2). Контроль клинико-лабораторных показателей и функционального состояния почечного трансплантата у больного проводился в условиях стационара на протяжении первых 3-6 недель после хирургического вмешательства, после чего пациент наблюдался в амбулаторных условиях.

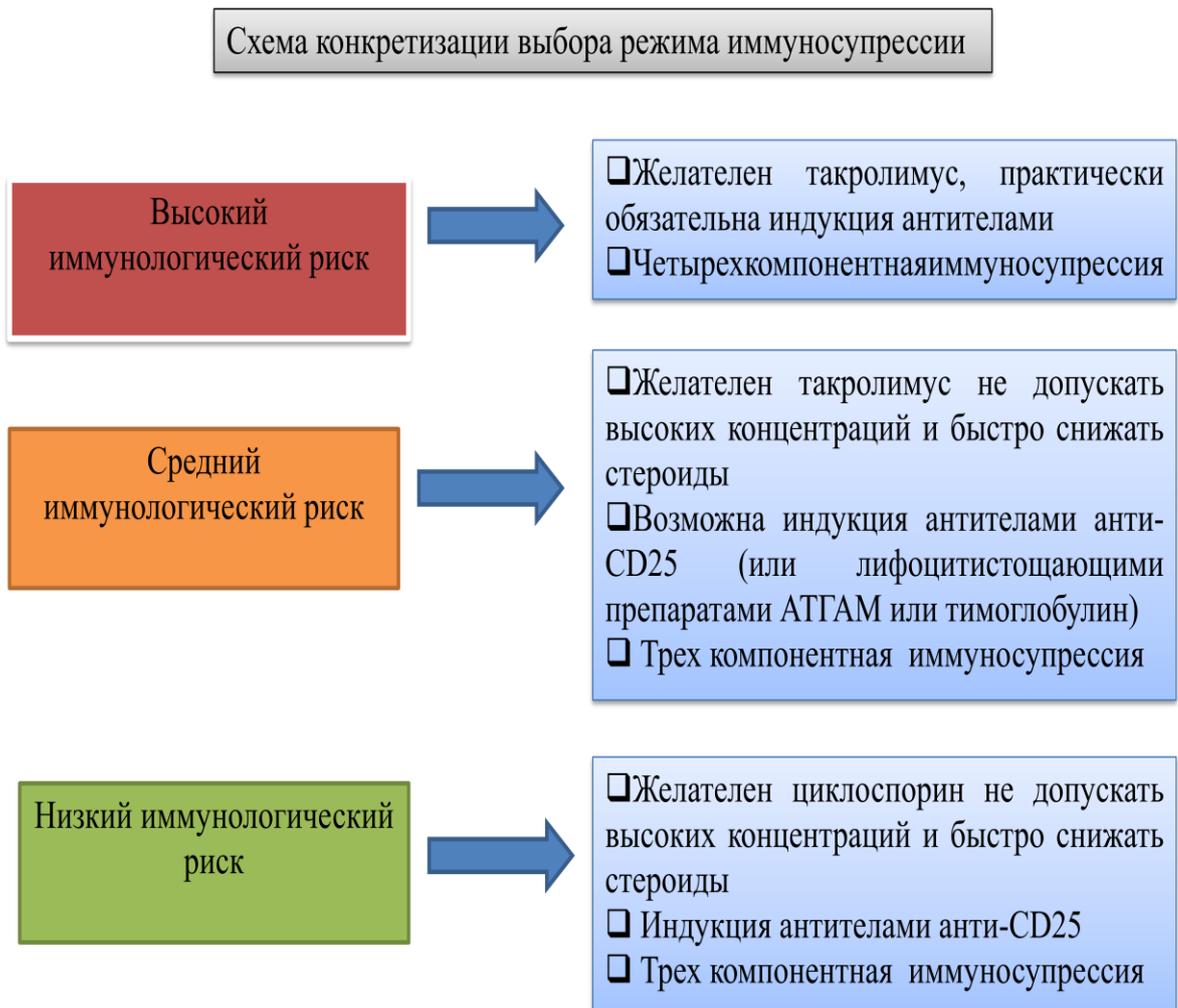


Рисунок 2. - Схема иммуносупрессии в зависимости от степени иммунологического риска

У всех наблюдаемых нами больных трансплантация почки выполнялась традиционными способами. Расположение почки было гетеротопическим— помещалась в одной из подвздошных областей. Наклонным параректальным разрезом разделяли кожу, подкожную клетчатку, мышцы и поперечные фасции.

Нижние эпигастральные сосуды перевязывались и пересекались в нижнем угле раны. Брюшина отодвигалась медиально, обнажая подвздошные сосуды, накладывали артериальные и венозные анастомозы с подвздошными сосудами реципиента и кровеносными сосудами донорской почки накладывали по типу конец в бок, либо конец в конец. После того как трансплантат был вставлен в кровоток и реперфузирован, непрерывность мочевого тракта восстанавливали путем имплантации мочеточника трансплантата в нижнюю часть мочевого пузыря реципиента. Хирургическое вмешательство завершалось поэтапным наложением швов раны с обязательным контролем проходимости мочеточника донорной почки.

2.2. Методы исследования

Общая длительность нахождения пациента в стационаре зависела от особенностей течения ближайшего после хирургического вмешательства периода. При переводе больного на амбулаторный контроль его обследование в течение первых 30 суток проводилось 2 раза через каждые 14 суток, затем осмотр был ежемесячным, а по истечении полугода больной наблюдался один раз через каждые 30-60 дней. Динамическое наблюдение клинико-лабораторных показателей больного включало изучение общего его состояния и функциональной способности трансплантата по данным клинических наблюдений, лабораторного исследования и результатам оценки оптимальности иммуносупрессии. Оценка функциональной способности трансплантата проводилась путем исследования показателей мочевины и креатинина в крови. Исследование клинических показателей состояния трансплантации выполнялось каждый день с помощью пальпаторного обследования, при котором оценивалась плотность окружающих тканей, наличие болезненности, кроме того у данных больных определяли суточный диурез.

У всех больных после проведения трансплантации систематически проводились следующие исследования:

- Общий показатель крови и мочи;
- Исследование уровня мочевины в крови;
- Уровень креатинина в крови;
- Уровень общего билирубина в крови;
- Определение уровня АСТ и АЛТ
- Уровень сахара в крови
- Уровень холестерина в крови
- Уровень электролитов

Анализы на цитомегаловирус (CMV), вирус Эпштейн-Барра (EBV) выполнялись с помощью ПЦР, анализы на наличие антител классов IgM и IgG выполнялись с помощью ИФА-метода, скорость клубочковой фильтрации изучалась с использованием специальной формулы MDRD, начиная с первых суток и через 2 года после проведения операции по трансплантации почки.

УЗИ почечных трансплантатов выполнялось на аппарате Toshiba 458. С помощью ультразвука контролировались размеры трансплантата, параренальные скопления жидкостей (гематомы, лимфоцеле и утечка мочи). Очень информативной диагностической мерой была трансплантационная доплерография. УЗДГ позволил проводить качественную и количественную оценку состояния сосудистого русла трансплантата, скорость кровотока в органе. Уровень гемоглобина исследовался по Сали, показатели гематокрита исследовались с помощью капилляра Панченко, количество эритроцитов подсчитывались в специальной камере Горяева, а уровень тромбоцитов вычислялся путем фазово-контрастного микроскопического исследования.

Гемодиализные мероприятия выполнялись с использованием аппарата 4008 S (Fresenius, ФРГ) с точным волюметрическим мониторингом ультрафильтрации для ацетатного и бикарбонатного диализа с возможностью выполнения гемодиализа. Применялись диализаторы с биологически совместимыми полисульфоновыми мембранами. В качестве антикоагулянтного средства использовался гепарин в индивидуально выбранной дозировке.

Методика морфологического исследования

Морфологическое обследование было выполнено всем пациентам с дисфункцией трансплантата. Патоморфологические исследования проводились на биоптатах ткани, полученных при пункционной биопсии трансплантата. Материал фиксировали в нейтральном растворе 10% формалина, после чего промывали водопроводной водой, и через ряд все более концентрированных спиртов и далее заливали парафином. Срезы толщиной 5 микрон из полученных блоков окрашивали гематоксилином эозином и реактивом Шиффа. Исследование проводилось в поляризованном свете электронного микроскопа, при этом материал считался репрезентативным, если в срезе присутствовали 7 клубочков и 1 артерия.

Иммунофлуоресценцию проводили на планшетах 4 мкм толщины с помеченными моноклональными антителами фирмы FITC IgG, IgM, IgA, C3 (DAKO США) и фрагмента C4d (Quidel, США).

Диагностика острого клеточного и гуморального, а также смешанного отторжения трансплантата проводилась на основании отчета совещания по почкам за 2017 год: пересмотренные диагностические критерии хронического активного отторжения, опосредованного Т-клетками, отторжения, опосредованного антителами, и перспективы интегративных конечных точек для клинических испытаний следующего поколения Banff (2017г) [77].

Острое гуморальное отторжение определялось и считалось верифицированным в случае обнаружения соответствующих морфологических признаков:

1. Обнаружение циркулирующих антител к донорским клеткам, образовавшихся после проведения трансплантации почки.

2. Наличие признаков усиления эндотелиальной активности, проявляющейся, прежде всего, в виде экспрессии C4d фрагмента комплемента на перитубулярных капиллярах. В случае отсутствия свечения C4d (C4d-негативное отторжение) признаками усиления эндотелиальной активности может являться экспрессия эндотелий связанных генов (ENDATs), а также

обнаружение признаков воспалительного поражения микроциркуляторного русла (суммарная выраженность гломерулита и перитубулярита ≥ 2).

Острое клеточное отторжение определялось и считалось верифицированным в случае обнаружения соответствующих морфологических признаков:

1. Пограничные изменения (наличие признаков клеточно-опосредованного отторжения трансплантата): очаговые инфильтративные изменения в интерстициальной ткани и наличие фокального тубулит (t1, t2, t3 при i0 или i1).

2. Острое клеточно-опосредованное отторжение Ia Инфильтрация более 25% (i2), тубулит 4-10 лимфоцитов на срезе канальца (t2) I b Инфильтрация более 25% (i2), тубулит > 10 лимфоцитов на срезе канальца (t3) II a интимальный артериит 25% (v2) \pm тубулит.

Определение HLA-фенотипа локусов A, B, Dr

Принцип метода: определение генов системы HLA производилось с помощью ПЦР (SSP) метода и с использованием специального набора праймеров, предназначенных для проведения амплификации HLA-аллелей, указанных в номенклатурном перечне ВОЗ. Типирование выполнялось по 22 аллелям HLA локуса A, по 49 аллелям HLA локуса B, а также по 48 аллелям HLA локуса DrB1. Определение геномной ДНК выполнялась путем проведения биомагнитного сепарирования с использованием специального набора Invitrogen™ Dynabeads™ DNA DIRECT™ Universal Kit. Для проведения данного метода исследования применялись: 96-луночный термоциклер Line Gene 9600 Plus Real-Time PCR, модель: FQD-96A (производство Bioer, Китай), вортекс, миницентрифуга, прибор для электрофореза, ультрафиолетовый транслюминатор, программа гель-документирования, мануальные дозаторы в виде пипеток и одноразовые наконечники, содержащие фильтр.

Способ проведения исследования: ПЦР амплификация проводилась в участке преамплификации. При проведении типирования одного исследуемого образца готовилась специальная смесь, состоящая из 460 мкл ПЦР буферного

вещества с 608 мкл воды и включением 7 мкл Taq полимеразы. После этого в приготовленный раствор приливали 125 мкл геномной ДНК, полученной путем проведения магнитной сепарации. Образовавшаяся смесь хорошенько перемешивалась, после чего она разливалась в планшеточные лунки в объеме по 10 мкл в каждую. Плошка плотно закрывалась. Полимеразная цепная реакция амплификации проводилась в участке пост-амплификации. Для этого планшет с лунками в соответствии с прилагаемой к набору инструкцией, размещался в термоциклере Line Gene 9600 Plus Real-Time PCR.

Выделение продуктов полимеразной цепной реакции выполнялось геле-электрофорезным способом. С этой целью использовали 2 гр агарозы, которую добавляли в 100 мл x 0,5 буфера TBE (Трис-борат-ЭДТА), UltraPure, 10X, после чего производили термическую обработку полученного вещества в микроволновой печи с дальнейшим его охлаждением до 60°C.

После этого добавляли бромидэтидия до образования концентрации 5мкг/мл геля. Образовавшееся гелевое вещество разливалось в форму с гребенкой, где оно выдерживалось до полного застывания на протяжении как минимум получаса. Затем извлекали аккуратно гребёнку. Гелевая пластинка размещалась на разгоночном столике. Общий объем разгоночного буферного вещества, добавляемого в электрофорезную камеру должен быть таким, чтобы его уровень оказался над погружаемой в него гелевой пластиной на 1-2 мм выше. Продукты полимеразной цепной реакции перемещали из планшеточных лунок в гелевые. Далее выполнялась разгонка в течение 15 минут под напряжением в 10 вольт на один сантиметр гелевого вещества. Для просмотра и регистрации окрашенных гелей использовался УФ трансиллюминатор. Интерпретация полученных результатов выполнялась с помощью специальной таблицы.

Оценка состояния предшествующей сенсibilизации

Способ исследования: Для выявления и выделения антител класса I использовалась лимфоцитотоксическая проба с использованием специальных планшетов PEL-FREEZ® HLA-FLT Trays. Для проведения данного теста в

лунки планшетов помещались лимфоциты, в которых располагается наибольшее количество HLA-антигенов, описанных в номенклатуре ВОЗ. Общее количество помещаемых в каждую лунку лимфоцитов, составляло 2 мкл (примерно 6000-8000 единиц смешанных Т и В лимфоцитарных клеток на одну лунку), которые были суспензированы в специальной среде для заморозки, приготовленной с использованием эмбриональной телячьей сыворотки и диметилсульфоксида в RPMI-1640.

Для проведения данного теста используются: Фазово-контрастный микроскоп с возможностью 150-кратного увеличения, центрифуга, специальные реагенты фирмы PEL-FREEZ® HLA-FL TTrays и в качестве контроля используется позитивная сыворотка. Забор крови производился без использования антикоагулянтного средства, чтобы кровь могла свернуться. Кровь помещалась в центрифугу, где она подвергалась центрифугированию в течение 10 минут при оборотах 2000 об\мин. Далее выделенную сыворотку помещали в чистые отмеченные маркером пробирки. Из морозильного шкафа брали замороженные планшеты, которые оставляли некоторое время при комнатной температуре для легкого оттаивания. Затем на поверхность каждой лунки помещали по 5 мкл теплой (до 37°C) промывочной среды (состоящей из 10% эмбриональной телячьей сыворотки). Планшеты подвергались центрифугированию в течение 1 минуты при оборотах 1000 об\мин. Образовавшийся супернатант извлекался путем лёгкого постукивания. Далее в каждую лунку очень бережно добавляли минеральное масло в количестве по 2-5 мкл с целью покрытия выделенных клеток. Затем в каждую лунку с помощью микрошприца добавлялась анализируемая неразведенная сыворотка в объеме по 2 мкл, а в соответствующие лунки добавляли контрольную позитивную и негативную сыворотку. После этого планшеты помещались в инкубатор с комнатной температурой, где они выдерживались в течение получаса. Затем с помощью шприца (объемом 250 мкл) в лунки добавляли по 5 мкл кроличьего комплемента, который размещался над лимфоцитарной смесью. Планшеты повторно подвергали инкубации при комнатной температуре на протяжении 1

часа. После этого в лунки дополнительно вносили 5%-ный водный раствор эозина Y (Eosin Yellowish) по 2 мкл, планшеты помещали в инкубатор на 3-5 минут. Затем в лунки добавляли 37%-ный нейтральный раствор формалина в объеме по 5 мкл. После этого планшет закрывали покровным стеклом, и проводилась его инкубация в условиях комнатной температуры в течение как минимум получаса. Полученный материал подвергался микроскопическому исследованию при фазово-контрастном освещении со 150-кратной увеличивающей способностью микроскопа. Анализ показателей выполняли в течение не позднее двух суток. При интерпретации результатов в мертвых клетках, в которых содержатся антигены сохраняется краситель, при этом видны соответствующие изменения окрашивания. Данные клетки увеличены в размерах. Негативные клетки (с малым содержанием антигенов) сохраняют свою жизнеспособность, при этом в них не содержится краситель. Данные клетки меньше в своих размерах и выглядят ярче по сравнению с мертвыми клетками. Подсчитывается доля планшетных лунок, в которых находятся мертвые клетки. Показатели представляют в процентах.

Исследование концентрации циклоспорина

К числу основных лекарственных препаратов, используемых с целью иммуносупрессии после проведения трансплантации, относится циклоспорин А. Данный препарат имеет очень сложную фармадинамику, обладает способностью взаимодействия со многими лекарственными средствами, и, наконец, имеет ограниченный терапевтический диапазон допустимых концентраций. В случае уменьшения дозировки циклоспорина повышается риск отторжения трансплантата, а при увеличении дозы препарата возможно развитие различных токсических реакций. В связи с этим при использовании циклоспорина А в крови у каждого пациента необходимо контролировать его уровень. На начальном этапе лечения мониторинг уровня данного препарата проводится 2 раза в течение 7 дней, а в дальнейшем-1 раз в течение 30 суток.

Принцип метода: уровень содержания циклоспорина в крови исследуется путем проведения флуоресцентно-поляризационного

иммунологического анализа. Для этого использовали: автоматический анализатор TDx (Abbot, США), микроцентрифугу, вортекс, пипетки автоматические со съемными наконечниками. Для проведения данного анализа используется специальный реагентный кит- Cyclosporine Monoclonal Whole Blood Reagent Pack (Abbot, США).

Методика проведения анализа: В отдельные специфические пробирки типа Эппендорф помещается 150 мкл крови, забор которой производился с использованием гепарина. Затем в пробирки вносили 50 мкл реагента для солубилизации и 300 мкл реагента для осаждения цельной крови (Whole Blood Precipitation Reagent). После этого пробирки герметично закрывались и на протяжении 10 секунд подвергались перемешиванию на вортексе. Далее центрифугировали в течение 5 минут при 10800 об\мин. Образовавшуюся над осадком жидкость разливали в круглые ячейки, содержащиеся в TDx-картриджах.

Исследование субпопуляции лимфоцитов

Результаты иммунофенотипирования, содержащихся в крови лимфоцитарных клеток, позволяют оценить состояние иммунной системы у исследуемого пациента. Используемая при данном анализе стандартная панель, как правило, включает несколько CD клеток, а именно: CD3+, CD4+, CD8+, CD2+, CD19+. В некоторых случаях у больных мы определяли уровень функциональной активности лимфоцитарных клеток путем исследования такого маркера, как, CD25. Суть метода заключается в том, что на поверхности некоторых субклассов лимфоцитарных клеток содержатся специальные рецепторы. При добавлении в лимфоцитарную взвесь моноклональных антител, помеченных флуорохромом (Caltag laboratories, Канада), представляется возможным произвести метку определенных субпопуляций. Определение общего числа меченых лимфоцитарных клеток производится благодаря флуоресцирующей способности флуорохрома при его освещении лучами определенной длины световой волны, что фиксируется с помощью специального прибора Flow Cytometer, Becton Dickinson, Model FacScan, As Is

(Vecton Dickinson, США). В результате идентифицируются «немые» клетки, а также клетки, обработанные флуорохромом.

Методика проведения исследования. В собранную гепаринизированную кровь добавляли раствор Хэнкса в одинаковых количествах (или фосфатно-солевой буферный раствор, pH-7, 4). На каждые 2, 0 мл разбавленной крови добавлялось по 1,0 мл р-р афиколл-урографинабуфера, после чего полученную смесь центрифугировали в течение 15-20 мин при 1600 об\мин.

Образовавшееся так называемое «кольцо» из лимфоцитарных клеток (находящихся на разделе фаз), переносили в пробирку, содержащую 2 мл раствора Хэнкса (или фосфатно-солевой буферный раствор, pH-7, 4), центрифугировали в течение 5 мин при 1600 об\мин минуту. Образовавшийся супернатант извлекали, а в оставшийся осадок вносили 2 мл раствора Хэнкса, затем вновь производилось центрифугирование на протяжении 5 минут при частоте оборотов 1600 за одну минуту. Вновь образовавшийся супернатант извлекали, а в остаточный осадок добавляли раствор Хэнкса до необходимого уровня. При проведении исследования одного CD-маркера используется около 100 мкл клеточной взвеси. Полученную в конечном итоге клеточную взвесь перемещали в отдельные пробирки.

Далее в эти пробирки помещали по 5 мкл моноклональных антител, которые предварительно поместили флуорохромом. Затем пробирки помещали в темный инкубатор при температуре +30°C, где их выдерживали в течение 15-20 минут. По окончании инкубации в пробирки заливали раствор Cell WASH в объеме по 1,0 мл, центрифугировали в течение 5 минут при частоте оборотов 1600 об\мин. Образовавшуюся над поверхностью осадка жидкость удаляли, а в осадок приливали ираствор Cell WASH (или Cell Fix) в объеме по 100 мкл.

Дальнейшее исследование лимфоцитов выполнялось на проточном цитометре. Референсные значения для CD3+ были следующими: в абсолютных числах- 1,1-1,9 x 10⁹/л, в процентном соотношении - 60-85%. Для CD4 +: в абсолютных числах -0,7-1,4 x 10⁹/л, в процентном соотношении - 29-59%. Для

CD8+: в абсолютных числах - $0,5-1,1 \times 10^9/\text{л}$, в процентном соотношении -19-46%. Для CD19+: в абсолютных числах - $0,2-0,6 \times 10^9/\text{л}$, в процентном соотношении -7-23%. Для CD25+/CD3+: в абсолютных числах - $0,1 - 0,55 \times 10^9/\text{л}$, в процентном соотношении - 2-20%.

Изучение состояния фагоцитарного звена иммунной системы

При оценке состояния иммунной системы большое значение имеет изучение фагоцитарной активности гранулоцитов, так как процесс фагоцитоза относится к числу ключевых этапов неспецифической иммунной защиты.

Методика проведения данного исследования. К 50 мкл крови с гепарином добавляли 1% взвеси дрожжей аналогичного объема, тщательно перемешивалось, после чего взвесь помещалась на 30 минут в термостат с установленной температурой в 37°C для инкубации. После этого из взвеси брался мазок (20 мкл образца помещали на предметное стекло, распределяя равномерно по всей поверхности стекла, далее производилось осушение на воздухе и фиксация образца в течение 20 минут с последующим его окрашиванием). В полученном мазке исследовалось общее число фагоцитирующих клеток, а также среднее число поглощенных объектов. Исследование состояния фагоцитоза, как показателя фагоцитарного числа (ФЧ), вычисляли путем определения соотношения общего количества поглощенных дрожжевых клеток к общему количеству «активных» нейтрофильных клеток (которые поглотили дрожжи) спустя полчаса после инкубации с дрожжами, то есть данный показатель отражает среднее количество дрожжевых клеток, которые были поглощены одной «активной» нейтрофильной клеткой.

Показатель общего количества фагоцитирующих нейтрофилов, наблюдаемых спустя полчаса после инкубации, представляется в виде ФП (фагоцитарный показатель). В норме значения ФП варьирует в пределах 40-90%; показатели ФЧ составляют 1,0-2,5, а показатели ИЗФ в норме находятся выше 1,0.

Проба с восстановлением нитросинего тетразолия

Суть данного способа заключается в способности нейтрофильных клеток поглощать нитросиний тетразолий (НСТ) (производство «AppliChem GmbH, ITW Reagents») и осуществлять восстановление последнего в гранулы нерастворимого диформаза, имеющего синюю окраску. Восстановление нитросинего тетразолия происходит за счет выделения энергии влияния продуктов окислительно-восстановительных реакций обменного процесса, происходящего на фоне фагоцитоза, а также вследствие увеличенного метаболизма активированного нейтрофила.

Методика проведения теста: В пробирку вносится 0,1 мл гепаринизированной крови с добавлением к ней: 0,1 мл раствора хлорида натрия, либо может использоваться 0,1 мл пирогенала. Данная смесь тщательно размешивается и помещается в инкубатор, где выдерживается в течение 30 минут при температуре 37°C. После этого в данные пробирки добавляется по 0,1 мл нитросинего тетразолия и вновь производится их инкубация в течение 10 минут. Затем в эти пробирки вносят по 0,2 мл 20% р-р формалинав, а спустя 3 минуты приливают дистиллированной воды в объеме по 3,0 мл. Полученный материал тщательно размешивается в течение 20 секунд, после чего к нему добавляют по 1,0 мл 3,4% раствора хлорида натрия. Далее пробирки центрифугировали в течение 15 минут при частоте оборотов в 1500-2000 об\мин. Образовавшуюся над осадком жидкость удаляли, а полученный осадок помещали на предметное стекло для приготовления мазка, который высушивали на воздухе, после чего производилась его фиксация с использованием спирт-формалиновой смеси с дальнейшей окраской нейтрально-красным красителем. Показатели вычислялись в расчете к 100 нейтрофильным клеткам. Определялось процентное содержание клеток, в которых были обнаружены диформазазовые включения по типу гранул, либо более крупных отложений. У здоровых лиц при проведении спонтанной пробы доля НСТ-положительных клеток варьирует в пределах 12-35%, а при проведении стимулированной пробы этот показатель составляет 40-95%.

Исследование уровня иммуноглобулинов А, М, G

Данный метод исследования основан на способе Манчини, при котором определяется размер диаметра кольца преципитации, формирующегося во время добавления образцов испытуемой сыворотки в лунки агарного слоя, содержащего моноспецифическую сыворотку. Размеры кольца преципитации имеют прямую корреляционную связь с уровнем исследуемого иммуноглобулина. Уровень иммуноглобулинов в исследуемой сыворотке определяли по отношению к известному уровню иммуноглобулинов, содержащихся в стандартной сыворотке человеческой крови.

Для проведения данного теста, использовали диагностический набор реагентов: моно - РИД - G,A,M, сыворотки диагностические моноспецифические против IgG(H), IgA(H), IgM(H) человека, сухие, производитель: АО "НПО" МИКРОГЕН", агар, фирмы «Difco Noble», а также веронал-мединаловый буферный раствор с pH 8,50-8,60.

Методика проведения теста: вначале готовили 3% гель на веронал-мединаловом буфере. Затем 5 мл образованного геля добавляли к 5 мл растворенной в веронал-мединаловом буфере моноспецифической сыворотки, где уровень антител был в два раза выше, чем в рабочем титре, который указан на ампуле. Затем образовавшуюся смесь незамедлительно разливали на предварительно разогретую стеклянную пластинку, краевые участки которой протирались парафином. После охлаждения агара, содержащего моноспецифическую сыворотку, с помощью пробойника прорезывались лунки размерами по 2 мм с расстоянием между ними 15 мм. В лунки, расположенные на первой линии, помещали образцы стандартной сыворотки в объеме по 2 мл. В остальные лунки, расположенные на других линиях, помещали образцы неразведенной сыворотки. Затем данные пластины помещались во влажную камеру с температурой 4°C, где они отстаивались на протяжении суток для анти А и G, и на протяжении двух суток - для анти М. После этого измеряли размеры сформировавшихся вокруг лунок преципитатных колец. Затем способом кусочно-линейной интерполяции выстраивался калибровочный график, с помощью которого вычисляли уровень содержания

иммуноглобулинов в исследуемых образцах. В норме уровень иммуноглобулина А в сыворотке крови составляет 0,7-3, 5 г/л; уровень IgM - 0,5-2,5 г/л; а уровень IgG составляет 7,0-22,0 г/л.

Исследование уровня циркулирующих иммунных комплексов

Одним из ключевых механизмов выведения антигена из организма человека является возможность его связывания с антителом, в результате чего образуется так называемый иммунный комплекс. Последнее можно идентифицировать благодаря особенностям их физических свойств. В случае добавления в исследуемый раствор полиэтиленгликоля – ПЭГ6000 данные комплексы осаждаются, а свободные от антигенов антитела продолжают находиться в растворе. Установлена обратная корреляционная связь между размерами ЦИК и необходимой для их осаждения концентрацией полиэтиленгликоля.

Методика проведения исследования: для проведения данного исследования используются две пробирки: контрольная и опытная, при этом в первую пробирку добавляется боратный буфер в количестве 2900 мкл и анализируемая сыворотка крови в количестве 100 мкл. В опытную пробирку добавляется раствор полиэтиленгликоля в количестве 2900 мкл и анализируемая сыворотка крови в количестве 100 мкл. Обе пробирки инкубировали при комнатной температуре в течение 60 минут. По окончании инкубации пробирки неоднократно встряхивали, после чего с помощью фотоэлектроколориметра (при длине волны 450 нм) исследовали оптическую плотность содержимого опытной пробирки по отношению к плотности содержимого контрольной пробирки. В норме показатели содержания ЦИК в сывороточной крови не превышают 60 у.е.

Исследование уровней IL-1, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, TNF-а, IFN-γ, ИФА-методом

Для проведения данного исследования использовался твердофазный ИФА-метод. Один из вариантов моноклональных антител фиксированно располагается на внутренних участках планшетных ячеек, а другой вариант

антител к независимому эпитопу исследуемой молекулы был связан с биотином. В качестве индикаторного вещества выступал объединенный комплекс супероксидазы хрена и стрептавидина (пероксидаза хрена), который обладает большой схожестью с биотином.

Методика проведения исследования: уровень вышеуказанных интерлейкинов в сывороточной крови определяли в соответствии с прилагаемой к ним инструкцией, и заключалась в следующем. Вначале проводилось приготовление рабочих растворов, затем выполнялось разведение анализируемых и калибровочных проб. Полученные образцы помещались в планшетные лунки, производилась их инкубация при температуре окружающего воздуха 37°C.

Далее проводилась отмывка планшета и добавление вторых антител. Повторное инкубирование при температуре окружающего воздуха 37°C, далее после отмывки планшета в лунки помещали конъюгат. Планшеты вновь инкубировали при температуре 37°C. Затем, после отмывки планшета, выполнялась постановка субстратной реакции. Реакцию прекращали путем добавления серной кислоты. Производился подсчет результатов путем определения оптической плотности на многоканальном фотокolorиметре. Для этого строился график с линейными координатами, где на оси ординат располагаются показатели оптической плотности, а на оси абсцисс располагаются показатели уровня исследуемого интерлейкина в пкг/мл. С помощью данного графика вычисляли исследуемые показатели.

2.3. Статистическая обработка материала

Анализ статистических данных был выполнен с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.0 (StatSoftInc., США) в системной программе Windows 7. Соответствие распределения выборки нормальному закону оценивали по критериям Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Количественные данные представлялись в виде среднего значения и

стандартной ошибки ($M \pm sm$); а качественные показатели представлены в виде их абсолютных цифр и долей (%). При парном сравнении показателей между группами по независимым показателям использовался U-критерий Манна-Уитни, при множественном – H-критерий Крускала-Уоллиса. При сравнении качественных показателей между двумя группами использовался точный критерий Фишера, при сравнении более двух групп использовался критерий χ^2 . Критический уровень статистической значимости составлял $p > 0,05$.

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК 5 СТАДИИ НА ГЕМОДИАЛИЗНОЙ ТЕРАПИИ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН

Исходя из цели и задач исследования нами проведен ретроспективный и проспективный анализ историй болезней и диализных карт больных с ХБП 5 стадии, находившихся на заместительной почечной терапии. Проведены анализ и оценка некоторых факторов, влияющих непосредственно на иммунный статус у больных с ХБП 5 стадии: ГД (количество, качество, сосудистые доступы, объем перфузии крови за сеанс и фактическая доза ГД и др.); Тяжесть анемии Брайта и ее коррекции (степень тяжести анемии, доза эритропоэтина и количество его приемов, количество доноров по компонентам крови (эритромаcсы и плазмы)); количество родов и перенесённых беременностей женщин с ХБП 5 стадии; оценка питания больных с ХБП 5 стадии на диализе.

3.1. Оценка диализной терапии у больных с хронической болезнью почек 5 стадии

При оценке диализной терапии у больных с ХБП 5 стадии мы руководствовались и использовали общепринятые протоколы Европы (EBPG, EBVP) [65], США (K-DOQI, AAMI) [52], международные (KDIGO, ISPD)[155] и протоколы РФ. В протоколе РФ по оценке гемодиализной терапии закреплена разработка и внедрение критериев качества лечения, которые определены Федеральным законом РФ от 27 декабря 2002г. №184-ФЗ «О техническом регулировании», ГОСТР 1.0-2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения», Федеральным законом Российской Федерации от 29 ноября 2010г. N 326-ФЗ" Об обязательном медицинском страховании в Российской Федерации»(гл.9,ст.40), Федеральным законом РФ от 21 ноября 2011г. № 323-ФЗ «Об основах здоровья граждан в Российской Федерации»

(гл.12, статьи 87-91) [18]. Качество процедуры гемодиализа (гемодиафильтрации) оценивалось по следующим критериям:

1. ГД – не менее 3 раза в неделю и общее эффективное диализное время не менее 720 мин/нед;

2. Объему перфузии крови не менее 240 л в неделю или менее 80 л за сеанс при трехкратном в неделю диализе и объему инфузии при гемодиафильтрации не менее 63 л в неделю, соответственно не менее 21 л за сеанс; 3. Фактическая доза диализа должна составлять для $spKt/V \geq 1,4$ или $eKt/V \geq 1,2$ за сеанс ГД/ГДФ или по стандартизованному недельному Kt/V (по Gotch) $\geq 2,2$;

4. Оценке подлежат больные после 3 мес диализной терапии.

Согласно данным рекомендациям нами был проведен анализ больных с ХБП 5 стадии после 3 месяцев диализной терапии для оценки критериев качества гемодиализа (таблица 5).

Таблица 5. - Критерии качества гемодиализа больных с ХБП 5 стадии по группам

Группа больных	Критерии гемодиализа								
	Количество ГД			Объем перфузии крови за сеанс ГД			Фактическая доза ГД		
	1 ГД в неделю 3,5-4 часа	2 ГД в неделю 7-8 часа	3 ГД в неделю 10,5-12 часов	50-60л	60-70л	70-80л	$spKt/V \geq 1,0$ или $eKt/V \geq 0,8$	$spKt/V \geq 1,2$ или $eKt/V \geq 1,0$	$spKt/V \geq 1,4$ или $eKt/V \geq 1,2$
1 группа n=35	5 <i>14,3%</i> 10,0%	10 <i>28,6%</i> 40,0%	20 <i>57,1%</i> 40,0%	10 <i>28,6%</i> 40,0%	20 <i>57,1%</i> 31,2%	15 <i>42,9%</i> 71,4%	4 <i>11,4%</i> 16,7%	19 <i>54,3%</i> 33,3%	10 <i>28,6%</i> 58,8%
2 группа n=33	20 <i>60,6%</i> 40,0%	10 <i>30,3%</i> 40,0%	3 <i>9,1%</i> 12,0%	4 <i>12,1%</i> 16,0%	25 <i>75,7%</i> 39,1%	4 <i>12,1%</i> 19,1%	8 <i>24,2%</i> 33,3%	20 <i>60,60%</i> 35,09%	5 <i>15,2%</i> 29,4%
3 группа n=32	25 <i>78,1%</i> 50,0%	5 <i>15,6%</i> 20,0%	2 <i>6,3%</i> 8,0%	11 <i>34,4%</i> 44,0%	19 <i>59,4%</i> 29,7%	2 <i>6,2%</i> 9,5%	12 <i>37,5%</i> 50,0%	18 <i>56,2%</i> 31,6%	2 <i>6,2%</i> 11,8%
Итого n=100	50 <i>50,0%</i>	25 <i>25,0%</i>	25 <i>25,0%</i>	25 <i>25,0%</i>	64 <i>64,0%</i>	21 <i>21,0%</i>	24 <i>24,0%</i>	57 <i>57,0%</i>	17 <i>17,0%</i>

Примечание: оценка 3 мес диализной терапии; *курсив*-% от количества больных в группе; **жирный шрифт**-% от общего количества больных получающих сеансы ГД

Анализ по такому критерию, как количество сеансов ГД, как видно из таблицы 5, показал, что из 100% больных только 25,0% больных получали по 3 сеанса ГД в неделю, 25,0% – по 2 сеанса ГД, а 50,0% – по 1 сеансу в неделю. Так, больные в 1-й группе получали один сеанс ГД 10,0%, по 2 сеанса ГД – 40,0%, по 3 сеанса ГД – также 40,0% больных. Что касается 2-ой группы, то по 1 сеансу ГД получали 40,0% больных, по 2 сеанса – 40,0%, и только 12,0% больных получали по 3 сеанса ГД в неделю. При анализе 3-й группы отмечено, что 50,0% больных получали по 1 сеансу ГД, по 2 сеанса – 20,0%, по 3 сеанса ГД – 8,0 % больных.

Таким образом, проведенный анализ по количеству сеансов ГД показал, что большая часть больных (75,0 %) получали по 1-2 сеансов гемодиализа в неделю.

При оценке качества объема перфузии крови у больных с ХБП 5 стадии за сеанс видно, что из 100% только у 21,0% больных объем перфузии крови за сеанс составил 70-80 л, у 61% – 60-70 л, и у 25% – 50-60 л крови за сеанс. Так, в первой группе больных объем перфузии на уровне 50-60 мл был у 40,0% больных, 60-70 л – у 31,2% больных, 70-80 мл – у 71,4% больных. Во второй группе 16,0% больных имели объем перфузии 50-60 л, 39,1% – 60-70 л, 70-80 л крови – у 19,1% больных. В третьей группе 44,0% больных получали объем перфузии 50-60л, 29,7% – 60-70л, 70-80л – 9,5% пациентов.

Анализ по качеству объема перфузии крови у больных с ХБП 5 стадии показал, что у 86,0% больных объем перфузии не соответствовал критериям нормы, ввиду того что у большей части больных использовался вено-венозный доступ для проведения сеансов гемодиализа.

При анализе фактической дозы ГД для оценки качества гемодиализа у больных с ХБП 5 стадии видно, что адекватную дозу ГД из 100% больных получали только 17,0% больных, а у остальных 81,0% больных сеанс ГД был неадекватным, из них 57% при $spKt/V \geq 1,2$ или $eKt/V \geq 1,0$, и 24,0% с $spKt/V \geq 1,0$ или $eKt/V \geq 0,8$. Так, в первой группе больных $spKt/V \geq 1,4$ или $eKt/V \geq 1,2$ получили 58,8%, $spKt/V \geq 1,2$ или $eKt/V \geq 1,0$ – 33,3%, $spKt/V \geq 1,0$ или $eKt/V \geq 0,8$ –

16,7%. Во второй группе $spKt/V \geq 1,4$ или $eKt/V \geq 1,2$ имелся у 29%, $spKt/V \geq 1,2$ или $eKt/V \geq 1,0$ -у 35,1%, $spKt/V \geq 1,0$ или $eKt/V \geq 0,8$ -у 33,3% больных. В третьей группе эти цифры соответствовали 11,8%, 31,6% и 50,0% больных, соответственно.

Учитывая данный анализ мы сделали вывод, что при оценке критериев качества заместительной почечной терапии в виде гемодиализа у больных с ХБП 5 стадии в нашей республике существуют следующие особенности:

1. Проведение 3 сеансов гемодиализа недоступно большинству проценту больным нашей республики ввиду доступности гемодиализа, отсутствия финансирования диализных служб и социально-экономического статуса самих больных, приказа №600 МЗ и СЗН РТ об оплате за оказание медицинских услуг.

2. По объему перфузии крови во время сеанса гемодиализа, как можно заметить, адекватная перфузия в объеме 70-80 л осуществлялась у 21,0% больных, и эта особенность заключается в сосудистом доступе у больных на сеансе гемодиализа, большинству больных в нашей стране для проведения сеанса гемодиализа применяется вено-венозный доступ, артерио-венозная фистула, ввиду доступности и меньшей экономической затраты на них.

3. Учитывая критерий фактической дозы ГД на него влияют две особенности в нашей стране, о которой мы говорили выше, и несомненно, снижение адекватности диализа ввиду несоответствия качества диализа и устаревших аппаратов гемодиализа и систем водоочистки, и особенностях менталитета и социального статуса предопределяют ряд факторов, которые несомненно влияют и на исход трансплантации ренального трансплантата в будущем, ввиду неадекватности и низкого качества ГД и уремии, которая обуславливает вторичные иммунологические нарушения.

3.2. Оценка анемии и ее коррекции на диализной терапии у больных с хронической болезнью почек 5 стадии

Известно, что у больных с ХБП 5 стадии развивается уремическая анемия, или анемия Брайта. Хотя данное патологическое состояние - многофакторное, одним из звеньев его патогенеза является уремический эндотоксикоз. Важной особенностью лечения больных с ХБП 5 стадии является именно коррекция анемии, при этом правильная тактика лечения наряду с преемственной работой врача-нефролога и трансплантолога являются самым важным ответственным звеном в предоперационной подготовке больных, так как качественная предоперационная подготовка больных до трансплантации почки определяет во многом и исход самой трансплантации.

Нами проведен анализ наших больных на зависимость тяжести анемии Брайта и ее коррекции у больных с ХБП 5 стадии по группам на гемодиализе (таблица 6).

Таблица 6. - Тяжесть анемии Брайта и ее коррекция у больных с ХБП 5 стадии по группам на гемодиализе

Группа больных	Критерии анемии Брайта								
	НВ г/л			Доза эритропоэтина/количество приемов			Количество доноров по эритроmasсе и плазме		
	110-90г/л Легкая степень	90-70 г/л средняя степень	Менее70г/л тяжелая степень	2000Мед/ 1раз в 5-7дней	4000 М/ед 1раз в3-5дней	10тыс.Мед/ 1в-2дня	1-3 донора	4-9 доноров	Более 10доноров
1 группа n=35	25 71,4% 64,1%	8 22,8% 25,0%	2 5,7% 6,9%	2 5,7% 7,1%	24 68,6% 45,3%	9 25,7% 47,4%	25 71,4% 64,1%	7 20,0% 18,9%	3 8,6% 12,5%
2 группа n=33	10 30,3% 25,6%	14 42,4% 43,7%	9 27,3% 31,1%	12 36,4% 42,9%	14 42,4% 26,4%	8 24,2% 42,1%	12 36,4% 30,8%	12 36,4% 32,4%	9 27,3% 37,5%
3 группа n=32	4 12,5% 10,6%	10 31,2% 31,2%	18 56,2% 62,1%	14 43,7% 50,0%	15 46,8% 28,3%	3 9,4% 15,8%	2 6,2% 5,1%	18 56,2% 48,6%	12 37,5% 50,0%
Итого n=100	39 39,0%	32 32,0%	29 29,0%	28 28,0%	53 53,0%	19 19,0%	39 39,0%	37 37,0%	24 24,0%

Примечание: оценка 3 мес диализной терапии; *курсив*-% от количества больных в группе; **жирный шрифт** - % от общего количества больных получающих сеансы ГД

При анализе группы больных на степень тяжести анемии Брайта по гемоглобину в крови нами было выявлено, что из 100% больных у 39,0% больных анемия была легкой степени, при этом у 32,0% больных анемия была средней степени и у 29,0% тяжелой степени.

Так в 1-ой группе больных с легкой степенью анемии было 64,1% со средней-25,0%, и тяжелой-6,9%.

При анализе во второй группе видно, что больных с легкой степенью анемии было 25,6% со средней - 43,7% и тяжелой - 31,1%.

При оценке групп риска по дозе эритропоэтина видно, что соответствующие нормы дозы принимали только лишь 19,0% больных, а у остальных 81,0% доза была несоответствующей, из них 53,0% получали 4000МЕ и 28,0% получали 2000МЕ.

Так, при анализе 1-ой группы видно, что эритропоэтин в дозировке 2000 ЕД получили 7,1%, дозировку 4000 ЕД получили 45,0% больных и дозировку 1000 ЕД получили 47,4% больных.

Во 2-ой группе эритропоэтин в дозировке 2000 ЕД получили 42,9% больных, дозировку 4000 ЕД получили 26,4% больных и дозировку 10000 ЕД получили 42,1% больных с ХБП 5стадии.

Анализ 3-ей группе эритропоэтин в дозировке 2000 ЕД получили 50,0% больных, дозировку 4000 ЕД получили 28,3% больных и дозировку 10000 ЕД получили 15,8% больных с ХБП 5 стадии.

При анализе по количеству доноров по эритроmasсе и плазме на ГД видно, что более 10 доноров было у 24,0% больных из 100% при этом у 37% было 4-7доноров и у 64,1% больных было 1-4 доноров по эритроmasсе и плазме.

В первой группе больных более 10 доноров было у 12,5%, при этом у 18,9 было у 4-9 доноров и у 64,1% больных было 1-3 доноров по эритроmasсе и плазме.

Во второй группе больных более 10 доноров было у 37,5%, при этом у 32,4% было 4-9 доноров и у 30,8 % больных было 1-3 доноров по эритроmasсе и плазме.

В третьей группе больных более 10 доноров было у 50%, при этом у 48,6 было у 4-9 доноров и у 5,1% больных было 1-3 доноров по эритроmasсе и плазме.

Таким образом коррекция анемии на этапе подготовки к трансплантации, также не соответствует критериальным нормам по названным выше причинам.

3.3. Анализ количества родов и перенесенных беременностей у женщин с хронической болезнью почек 5 стадии, находящихся на диализной терапии

Несомненно, важным фактором иммунологических нарушений до трансплантации почки является предсенсбилизация фон и факторы риска, которые способствуют его появлению. Одним из таких факторов является количество родов и перенесённых беременностей женщин с ХБП 5 стадии находящиеся на гемодиализе. Нами были изучены количество родов и перенесённых беременностей у женщин с ХБП 5 стадии. Всего из 100 больных, лица женского пола составляли 44,0% (таблица 7).

Таблица 7. - Количество родов и перенесённых беременностей женщин с ХБП 5 стадии по группам на гемодиализе

Группа больных	Количество родов			Количество перенесённых беременностей		
	1-2	3-4	>5	1-3	4-7	>8
1 группа n=15	8 53,3%	5 33,3%	2 13,4%	8 53,3%	6 40,0%	1 6,7%
2 группа n=15	3 20,0%	9 60,0%	3 20,0%	2 13,3%	10 66,7%	3 20,0%
3 группа n=14	2 14,3%	10 71,4%	2 14,3%	2 14,3%	10 71,4%	2 13,3%
Итого n = 44	13 29,5%	24 54,5%	7 15,9%	12 27,3%	26 59,1%	7 15,9%

Примечание: оценка 3мес диализной терапии; курсив-% от количества больных в группе

Как видно из таблицы 7, при анализе риска больных женщин с ХБП 5 стадии по группам на гемодиализе по количеству родов в анамнезе было установлено, что у 15,9% женщин в трех группах было более 5 родов, при этом у 54,5% в трех группах количество родов составило от 3 до 4 и у 29,5% оно составило 1-2 родов.

Анализ в группах показал, что у больных в 1-ой группе анамнез более 5 родов был отмечен у 13,4% больных, от 3-4 родов - 33,3% и у 53,3% было в анамнезе 1-2 родов.

Больных во 2-группе с анамнезом более 5 родов было в 20,0%, от 3-4 в 60,0% и у 20,0% было в анамнезе 1-2 родов.

В 3 - группе с анамнезом более 5 родов было 14,3% от 3-4 родов в 71,4% и у 14,3% было в анамнезе 1-2 родов.

При оценке количества перенесённых беременностей из 100% больных у 15,9% больных в анамнезе было более 8 беременностей, у 59,1% больных количество беременностей составило от 4 до 7 и у 27,3% количество беременностей в анамнезе составило 1-3.

Так, в первой группе 1-3 беременностей было в 53,3%, 4-7 беременностей у 40,0% и более 8 беременностей было у 6,7% больных.

Во второй группе 1-3 беременностей было в 13,3%, 4-7 беременностей у 66,7% и более 8 беременностей было у 20,0% больных.

Таким образом нами установлено, что большинство женщин из наших групп имели факторы, предрасполагающие к сенсбилизации, которые непосредственно будут сказываться на дальнейших результатах трансплантации почки, а также выборе протокола иммуносупрессии.

3.4. Оценка статуса питания на диализной терапии у больных с хронической болезнью почек 5 стадии

Немаловажной особенностью предоперационной подготовки до трансплантации почки является анализ нутритивного статуса у больных с ХБП

5 стадией на ГД. При анализе нутритивного статуса мы руководствовались протоколом научного общества нефрологов России, а именно клинические рекомендации «Оценка и коррекция статуса питания у пациентов на программном гемодиализе» 2014 г. Москва [19].

Согласно данным рекомендациям исследуются следующие параметры:

- Динамические показатели веса больного : до болезни, непосредственно перед применением диализной терапии, а также в процессе её применения.
- Актуальная масса больного (относительно «идеальной» массы).
- Показатели индекса массы тела – вычисляются путем деления массы тела больного, измеренной в килограммах, на его рост в метрах, возведенный в квадрат).
- Показатели субъективного исследования (уровень глобальной субъективной оценки (ГСО)).
- Показатели лабораторных исследований.

Во всех случаях при проведении исследований следует определять «сухой вес» больного. При изменении веса больного, находящегося на программном гемодиализе, прежде всего необходимо изучить уровень гидратации его динамических изменений.

Ведущим признаками дефицита питания являются:

- Снижение массы тела не более, чем 10% в течение 6 месяцев и ранее.
- Уменьшение показателя ИМТ.
- Уровень глобальной субъективной оценки (ГСО) не превышает 5.
- Используемая диета сопровождается белково-энергетическим дефицитом.
- Со стороны лабораторных показателей наблюдается снижение количества альбумина, уровня холестерина, концентрации фосфата.
- Наблюдаются признаки хронического воспалительного поражения.

При обнаружении хотя бы одного из перечисленных признаков следует провести более глубокий анализ статуса питания.

Наличие недостаточности питания следует подозревать в случае снижения массы тела у больного более, чем на 10% в течение полугода и ранее. Изменения в весе пациента не более, чем 5%, считаются физиологическими. В случае незначительного, но стабильного снижения веса у больного за определенный период времени также можно подозревать на наличие недостаточности питания.

Показатели ИМТ у больных, находящихся на программном гемодиализе, должны находиться на уровне 23 кг/м² и выше. При показателях ИМТ ниже данного уровня следует подозревать наличие недостаточности питания. При показателях ИМТ ниже 18,5 кг/м², наличие недостаточности питания является очевидным.

При показателях ГСО, оцениваемых по 7-балльной шкале, менее 5 следует подозревать наличие недостаточности питания, а показатели ГСО менее 3 указывают на наличие значительного белкового дефицита (таблица 8).

Оценка нутритивного статуса у больных с ХБП 5 стадии показала, что благоприятный статус по питанию на гемодиализной терапии в трех группах имели 15% пациентов, средневыраженная недостаточность питания отмечена в 69% случаев, а тяжелая недостаточность - у 16% процентов больных.

Таблица 8. - Оценка нутритивного статуса у больных с ХБП 5 стадии на гемодиализе

Группы больных	Недостаточность питания больных с ХБП 5 стадией на диализе		
	Благоприятный статус 6-7 баллов	Умеренная-средневыраженная недостаточность 3-5 баллов	Выраженная недостаточность 1-2 баллов
1 группа n=35	6 (17,1%)	26 (74,3%)	3 (8,6%)
2 группа n=33	5 (15,2%)	23 (69,7%)	5 (15,2%)
3 группа n=32	4 (12,5%)	20 (62,5%)	8 (25,0%)
Итого n=100	15(15,0%)	69(69,0%)	16(16,0%)

Примечание: оценка 3 мес диализной терапии; *курсив*-% от количества больных в группе

При этом анализ 1-ой группы выявил благоприятный статус по питанию у 17,1% больных, умеренно - средневыраженную недостаточность питания у 74,3%, а выраженную недостаточность в 8,6%.

У больных 2 группы благоприятный статус по питанию имели 15,2%, умеренно - средневыраженную недостаточность 69,7%, а выраженная недостаточность имела в 15,2%. В 3 группе благоприятный статус питания уже составлял 12,5%, средневыраженная недостаточность питания была в 62,5%, а выраженная недостаточность отмечалась у 25,0%.

Таким образом, у пациентов на ГД терапии средневыраженная недостаточность питания отмечена в 69,0% случаев больных, что непосредственно приводит к синдрому воспалительного состояния, которое тесно связано с недоеданием и анорексией и белковой недостаточностью, которая, в свою очередь, коррелирует с анемией, которая будет корректироваться переливанием компонентов крови, что в дальнейшем будет сказываться на появление сенсбилизации до трансплантации почки.

ГЛАВА 4. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК 5 СТАДИИ ДО ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

4.1. Исследование иммунологического статуса у больных с хронической болезнью почек 5 стадии до трансплантации почки

Нами проведены исследования иммунологических показателей у больных с ХБП 5 стадией, поступивших в отделение по пересадке почки и поджелудочной железы ННЦТО и ТЧ МЗ и СЗН РТ. Согласно плану исследования произведена оценка иммунологического статуса у 3 групп, которые были распределены нами в зависимости от степени иммунологического риска реакции острого отторжения до трансплантации почки. При анализе по субпопуляциям циркулирующих лимфоцитов у 100% больных с ХБП 5 стадии до трансплантации почки по сравнению со здоровыми в контрольной группе, наблюдается выраженное снижение по всем субпопуляциям циркулирующих лимфоцитов (таблица 9).

Так при анализе 1 группы по сравнению со здоровыми по уровню субпопуляций лимфоцитов в крови видно, что уровни $CD_2 \times 10^9/\text{л}$ снижены на 14,15%, $CD_3 \times 10^9/\text{л}$ на 12,35%, $CD_4 \times 10^9/\text{л}$ на 15,30%, $CD_8 \times 10^9/\text{л}$ на 10,12%, $CD_{19} \times 10^9/\text{л}$ на 10,45%, $CD_{25} \times 10^9/\text{л}$ на 17,2% ($p < 0,001$).

Анализ 2 группы по сравнению с здоровыми по уровню субпопуляций лимфоцитов в крови показал снижение лимфоцитов, таким образом, так $CD_2 \times 10^9/\text{л}$ были снижены на 32,3%, $CD_3 \times 10^9/\text{л}$ на 37,8%, $CD_4 \times 10^9/\text{л}$ на 40,7%, $CD_8 \times 10^9/\text{л}$ на 38,5%, $CD_{19} \times 10^9/\text{л}$ на 36,5%, $CD_{25} \times 10^9/\text{л}$ на 33,6% ($p < 0,001$).

При анализе состава субпопуляций циркулирующих лейкоцитов у пациентов 2-группы в сравнении с пациентами 1-группы разница между группами составляла по $CD_2 \times 10^9/\text{л}$ на 33,3%, $CD_3 \times 10^9/\text{л}$ на 28,5%, $CD_4 \times 10^9/\text{л}$ на 28,3%, $CD_8 \times 10^9/\text{л}$ на 13,3%, $CD_{19} \times 10^9/\text{л}$ на 35,4%, $CD_{25} \times 10^9/\text{л}$ на 50,0% ($p < 0,001$).

Таблица 9. - Субпопуляции циркулирующих лимфоцитов у больных с ХБП 5 стадии до трансплантации почки (M±m)

Показ-ль	Контр-я группа (n=30)	1 группа (n=35)	2 группа (n=32)	3 группа (n=33)	ANOVA Крускала-Уоллиса
CD ₂ x10 ⁹ /л	3,02±0,24	2,59±0,07*	2,04±0,06***	1,43±0,03***	<0,001
		p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,001			
CD ₃ x10 ⁹ /л	1,80±0,25	1,58±0,06	1,12±0,13**	0,63±0,02***	<0,001
		p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,001			
CD ₄ x10 ⁹ /л	1,12±0,14	0,95±0,04	0,48±0,09***	0,45±0,02***	<0,001
		p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ >0,05			
CD ₈ x10 ⁹ /л	0,80±0,10	0,72±0,04	0,66±0,09	0,27±0,04***	<0,001
		p ₁₋₂ >0,05, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,001			
CD ₁₉ x10 ⁹ /л	0,45±0,06	0,4±0,02	0,29±0,04**	0,18±0,01***	<0,001
		p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,001			
CD ₂₅ x10 ⁹ /л	0,20±0,03	0,17±0,02	0,13±0,02**	0,08±0,01**	<0,001
		p ₁₋₂ <0,05, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,01			

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – статистическая значимость различий показателей между соответствующими группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

Анализ 3 группы в сравнение с здоровыми по уровню субпопуляций лимфоцитов в крови показал выраженное снижение лимфоцитов, так CD₂x10⁹/л были снижены на 52,7%, CD₃x10⁹/л - 65,2%, CD₄x10⁹/л - 60,2%, CD₈x10⁹/л - 65,8%, CD₁₉x10⁹/л - 60,8%, CD₂₅x10⁹/л- 63,6% (p < 0,001).

При сравнении разницы 3-группы со 2 и 1 группой по уровню субпопуляций циркулирующих лейкоцитов у пациентов в сравнении с пациентами 1-группы разница между группами составляла по CD₂x10⁹/л - 33,3%, CD₃x10⁹/л - 28,5%, CD₄x10⁹/л - 28,3%, CD₈x10⁹/л - 13,3%, CD₁₉x10⁹/л - 35,4%, CD₂₅x10⁹/л - 50,0% (p < 0,001).

Результаты исследования фагоцитарной активности, уровней иммуноглобулинов и ЦИК позволили выделить следующие особенности в изменении иммунного статуса (таблица 10).

Таблица 10. - Фагоцитарное звено иммунитета, уровни IgA, IgM, IgG, ЦИК у больных с ХБП 5 стадии до трансплантации почки по группам (M±m)

Показ-ль	Контр-я группа (n=30)	1 группа (n=35)	2 группа (n=32)	3 группа (n=33)	ANOVA Крускала-Уоллиса
ЦИК 4% у.е.	16,1±1,8	23,3±2,6***	28,09±3,14***	31,28±3,5***	p<0,05
		p ₁₋₂ <0,05, p ₁₋₃ <0,01, p ₂₋₃ >0,05			
ЦИК 6% у.е.	45,3±2,7	69,9±4,1***	77,2±4,6***	82,58±4,9***	p<0,05
		p ₁₋₂ >0,05, p ₁₋₃ <0,01, p ₂₋₃ >0,05			
Фагоцитоз %	73,1±3,2	72,7±3,1	74,5±3,3	72,2±3,2	p=0,848
Фаг.число шт.	3,2±0,25	3,3±0,24	3,34±0,25	3,1±0,24	p=0,184
НСТ %	20,2±1,9	32,1±3,03***	34,3±3,2***	38,9±3,6***	p<0,05
		p ₁₋₂ >0,05, p ₁₋₃ <0,05, p ₂₋₃ <0,05			
НСТ стим., %	44,1±2,2	68,7±3,4***	73,16±3,6***	76,5±3,8***	p<0,05
		p ₁₋₂ <0,05, p ₁₋₃ <0,05, p ₂₋₃ >0,05			
Ig A г/л	2,30±0,85	2,45±0,87	2,5±0,90	2,54±0,94	p=0,186
Ig M, г/л	1,80±0,2	1,1±0,12***	0,97±0,11***	0,61±0,07***	p<0,05
		p ₁₋₂ >0,05, p ₁₋₃ <0,05, p ₂₋₃ <0,05			
Ig G г/л	10,7±0,32	10,74±0,33	10,5±0,33	11,0±0,36	p=0,186

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – статистическая значимость различий показателей между соответствующими группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

У больных во всех трех группах иммунологического риска в крови отмечается повышение цитотоксических иммунных комплексов (ЦИК) по отношению к контрольной группе, образовавшиеся при взаимодействии растворимых антигенов и антител, повышенное содержание последних указывает на вероятность их накопления в тканях и развития воспалительного процесса. Анализ по ЦИК 4% показал достоверное увеличение его во всех трех группах соответственно на 44,8%, 74,5%, 94,3% (p<0,001).

При анализе по показателю ЦИК 6%, также наблюдается повышение данных антител во всех группах иммунологического риска соответственно на 54,3%, 70,5%, 82,3 ($p < 0,001$). Анализ на фагоцитарное число – среднее количество микробов, поглощённых одним нейтрофилом крови и фагоцитоз, выраженный в процентах оставались без существенных изменений во всех трех группах. При оценке бактерицидной активности фагоцитов, т.е. способность уничтожать микробные клетки по НСТ тесту отмечается выраженное увеличение во всех трех группах соответственно на 59,3% ($p < 0,001$) в 1-ой группе, 70,0% ($p < 0,001$) во 2-ой, и 92,8% ($p < 0,001$) в 3-й группе.

При анализе по НСТ-тесту стимулированному (фагоцитарный резерв) который отражает потенциальную способность нейтрофилов продуцировать активные формы кислорода в ответ на антигенное раздражение, характерно увеличение его в зависимости от группы риска так в 1-ой группе он был повышен на 55,9% ($p < 0,001$) 2-ой - 65,9% ($p < 0,001$) и в 3-й- 73,6% ($p < 0,001$).

Анализ по уровню иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG, у больных с ХПБ 5 стадии, выявил также характерные особенности, так во всех трех группах происходило снижение Ig M соответственно на 38,9%, 48,5%, 65,9% ($p < 0,001$), что говорит об его связыванием цитотоксическими комплексами, при этом наблюдалась легкая тенденция к снижению IgA, IgG без статистически значимых изменений.

Анализ цитокинов до трансплантации почки у больных с ХБП 5 стадии по группам выявил следующие изменения (таблица 11). У больных 1-ой группы иммунологического риска отмечается повышение провоспалительного цитокина IL-1a - 34,5% ($P < 0,001$), по сравнению к показателю контрольной группы, повышением TNF-a - 35,6% ($P < 0,001$), увеличением IL-12 - 26,8% ($P < 0,001$) по отношению к контрольной группе и увеличением провоспалительного IL-2 - 41,5 % ($P < 0,001$), с уменьшением уровня противовоспалительных цитокинов IL-10 и IL-4 соответственно на 46,2% ($P < 0,001$) и 24,2% ($P < 0,001$).

Таблица 11. - Показатели цитокинов до трансплантации почки у больных с ХБП 5 стадии по группам (M±m)

Показатель	Контр-группа (n=30)	1 группа (n=35)	2 группа (n=32)	3 группа (n=33)	ANOVA Крускала-Уоллиса
IL-1a пг/мл	352,5±11	474,11±13,4***	558,01±17,4***	614,4±19,17***	p<0,001
		p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,01			
IL-2 пг/мл	98,6±22	139,52±31,1***	146,42±46,2***	164,9±36,8***	p<0,05
		p ₁₋₂ >0,05, p ₁₋₃ <0,01, p ₂₋₃ <0,05			
IL-4 пг/мл	2,1±0,07	1,59±0,05***	1,27±0,04***	0,89±0,03***	p<0,001
		p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,001			
IL-10 пг/мл	3,8±0,3	2,04±0,22***	1,77±0,14***	1,11±0,09***	p<0,001
		p ₁₋₂ >0,05, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,001			
IL-12 пг/мл	158,3±24,5	203,57±31,5***	273,07±42,2***	296,5±45,8***	p<0,001
		p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,05			
TNF-a пг/мл	320±5,6	433,92±7,5***	510,4±8,9***	565,4±9,9***	p<0,001
		p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, p ₂₋₃ <0,001			

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – статистическая значимость различий показателей между соответствующими группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

Анализ во 2-ой группе больных иммунологического риска отмечает также выраженные сдвиги иммунного статуса с увеличением провоспалительных цитокинов IL-1a - 58,3%, IL-2 - 48,5 %, IL-12 -72,5%, TNF-a -59,5% (P<0,001), но также отмечается снижением уровнем противовоспалительных цитокинов IL-10 и IL-4 соответственно на 53,5% (P<0,001) и 39,5% (P<0,001) по сравнению с показателя контрольной группы.

В 3-й группе больных иммунологического риска отмечается более выраженные сдвиги иммунного статуса с увеличением провоспалительных цитокинов IL-1a - 74,3%, IL-2 - 67,3 %, IL-12 -87,3%, TNF-a -76,7% (P<0,001), с выраженным снижением уровня противовоспалительных цитокинов IL-10 и IL-4 соответственно на 70.7% (P<0,001) и 57,7% (P<0,001) по сравнению с показателями в контрольной группе.

При этом межгрупповое сравнение этих показателей у больных ХБП 5 стадии до трансплантации почки в зависимости от групп иммунологического риска, показывает, что в 3 группе более выражены процессы угнетения противовоспалительных цитокинов таких как IL-10- 46,1% ($P < 0,001$), по отношению к первой группе и 37,2% ($P < 0,001$), по отношению ко второй с преобладанием выраженного увеличения провоспалительных цитокинов, что указывает на несоответствие проведения ЗПТ виде гемодиализа у этой категории больных в предоперационной подготовке.

Таким образом, проведенный анализ иммунологического статуса при хронической болезни почек 5 стадии до трансплантации почки выявил следующие особенности у наших больных с уреимией, которая в свою очередь обуславливает нарушение иммунорегуляции, что в последующем приводит к активации воспаления при помощи врожденного иммунитета и активации адаптивного с синтезом цитокинов и снижению поддержания уровня гомеостатических механизмов лимфоцитов и цитокинов в крови, снижением уровней Т и В лимфоцитов, что, в свою очередь, меняет фагоцитарную активность иммунитета. Данные изменения обуславливаются не корригируемой уреимией в следствие несоответствия гемодиализа критериальным нормам описываемыми нами в третьей главе.

4.2. Исследование иммунологического статуса после трансплантации почки и влияние оптимизированных протоколов иммуносупрессии на результаты трансплантации почки

В зависимости от степени иммунологического риска и особенностей иммунного статуса до трансплантации почки больным с ХБП 5 стадией была конкретизирована схема иммуносупрессии до трансплантации почки.

С целью проведения сравнения мы разделили 1-ю группу реципиентов почек на две подгруппы 1a и 1b в зависимости от протокола иммуносупрессии, так, 1a подгруппа принимала стандартный протокол

иммунносупрессии состоящий из индукции Тимоглобулином и трех базовых иммунодепрессантов: Такролимус (Prograf) 0,15-0,3 мг/кг/день с последующим регулированием дозы для достижения целевой концентрации С0:10-15нг/мл; микофенолатмофетил (ММФ) (2г/день) интраоперационно метилпреднизолон 500-1000 мг, за 30 минут до того, как почка была включена в кровоток: далее с режимом в 1-й день-500 мг, в\в; 2-й день-250мг в\в; 3-й день метилпреднизолон 0,5 мг/кг перорально с постепенным снижением дозы до 8-12 мг в конце недели от 4 до 6 мг и через 6 месяцев по 4 мг.

В подгруппе 1b индукцию проводили внутривенно с помощью метилпреднизолона 500 мг за 30 минут до того, как почка была включена в кровоток; затем 1-й день - 125-250 мг; Циклоспорин (Неорал) 6-10 мг/кг/день с микофенолат мофетилом (ММФ) (1000-720мг).

При анализе иммунного статуса было выявлено, что при иммуносупрессии наблюдается значительные изменения в субпопуляции циркулирующих лейкоцитов в зависимости от протокола иммуносупрессии (таблица 12).

Таблица 12. - Субпопуляции циркулирующих лейкоцитов у больных с ХБП 5 стадии после трансплантации почки (M±m)

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Подгруппа 1a (n=13)	Подгруппа 1b (n=12)	p
CD ₂ x10 ⁹ /л	3,02±0,241	1,26±0,07***	1,89±0,11***	<0,001
CD ₃ x10 ⁹ /л	1,80±0,25	1,13±0,07*	1,41±0,14	>0,05
CD ₄ x10 ⁹ /л	1,12±0,14	0,71±0,04*	0,89±0,09	>0,05
CD ₈ x10 ⁹ /л	0,80±0,10	0,51±0,03*	0,8±0,06	<0,001
CD ₁₉ x10 ⁹ /л	0,45±0,06	0,33±0,03	0,41±0,04	>0,05
CD ₂₅ x10 ⁹ /л	0,20±0,03	0,15±0,01	0,16±0,05	>0,05

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); *p<0,05, ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

У больных 1b подгруппы наблюдается повышение следующих субпопуляций лейкоцитов, таких как $CD_2 \times 10^9/\text{л}$ - 50,0%, $CD_3 \times 10^9/\text{л}$ - 25,0%, $CD_4 \times 10^9/\text{л}$ - 25,0%, $CD_8 \times 10^9/\text{л}$ - 60,0%, $CD_{19} \times 10^9/\text{л}$ - 24,5%, и $CD_{25} \times 10^9/\text{л}$ - 10%, по сравнению с подгруппой 1a ($p < 0,001$), что говорит об чрезмерности иммуносупрессии приводящей к депрессии Т и В клеточного звена.

При сравнение контрольной группы и подгруппы 1b разница по субпопуляциям лейкоцитов составляла по $CD_2 \times 10^9/\text{л}$ - 50,0%, $CD_3 \times 10^9/\text{л}$ - 21,6%, $CD_4 \times 10^9/\text{л}$ - 21,4%, с тенденцией к нормализации $CD_{19} \times 10^9/\text{л}$ - 8,89%, и $CD_{25} \times 10^9/\text{л}$ - 20,0%.

Сравнение разницы по субпопуляциям циркулирующих лейкоцитов контрольной группы с подгруппой 1a показала более выраженную депрессию клеточного звена иммунитета в последней по $CD_2 \times 10^9/\text{л}$ - 58,2% ($P < 0,001$), $CD_3 \times 10^9/\text{л}$ - 37,2% ($P < 0,001$), $CD_4 \times 10^9/\text{л}$ - 36,6% ($P < 0,001$), $CD_8 \times 10^9/\text{л}$ - 36,0% ($P < 0,001$), $CD_{19} \times 10^9/\text{л}$ - 26,6% ($P < 0,001$), и $CD_{25} \times 10^9/\text{л}$ - 25,0% ($P < 0,001$).

При этом в подгруппе 1b также наблюдалась депрессия по отношению к контрольной с тенденцией к повышению к норме по показателям $CD_2 \times 10^9/\text{л}$ - 37,4% ($P < 0,001$), $CD_3 \times 10^9/\text{л}$ - 22,2% ($P < 0,001$), $CD_4 \times 10^9/\text{л}$ - 20,9%, ($P < 0,001$), $CD_{19} \times 10^9/\text{л}$ - 10,0% ($P < 0,001$), и $CD_{25} \times 10^9/\text{л}$ - 20,0% ($P < 0,001$).

При межгрупповом анализе фагоцитарного звена иммунитета и иммуноглобулинов у больных 1a и 1b подгрупп не наблюдаются статистически значимые изменения по уровню ЦИК 4% - 0,64%, ЦИК 6% - 0,7% ($P > 0,001$) (таблица 13).

Анализ по показателям фагоцитоза, фагоцитарному числу и НСТ-тесту и, НСТ стим %, в подгруппе 1b по сравнению с подгруппой 1a также не выявил статистически значимых изменений, при этом имелось незначительное снижение уровней иммуноглобулинов IgA-2,76%, IgG-7,47% IgM-2,5%, - в подгруппе 1b по отношению к подгруппе 1a ($p > 0,001$).

При этом у обеих подгрупп имелись статистические значимые изменения по отношению к контрольной в сторону как депрессии, так и увелечения по ряду показателей.

Таблица 13. - Показатели фагоцитарного звена иммунитета и иммуноглобулинов у больных с ХБП 5 стадии в подгруппах 1а и 1б после трансплантации почки (M±m)

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Подгруппа 1а (n=13)	Подгруппа 1б (n=12)	p
ЦИК 4% у.е.	16,1±1,8	1,56±0,08***	1,55±0,07***	>0,05
ЦИК 6% у.е.	45,3±2,7	1,42±0,07***	1,43±0,07***	>0,05
Фагоцитоз %	73,1±3,2	8,7±0,35***	8,7±0,35***	>0,05
Фаг.число шт.	3,2±0,25	23,7±3,3***	23,7±3,3***	>0,05
НСТ %	20,2±1,9	32,1±3,03***	32,6±3,05***	>0,05
НСТ стим %	44,1±2,2	70,0±2,2***	71,5±2,3***	>0,05
IgA, г/л	2,30±0,85	1,45±0,8**	1,41±0,5**	>0,05
IgM, г/л	1,80±0,2	1,20±0,2*	1,17±0,17*	>0,05
IgG, г/л	10,7±0,32	8,7±3,3**	8,65±3,3**	>0,05

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

При анализе подгрупп по уровню цитокинов между подгруппами 1а и 1б, статистически значимых изменений также не было выявлено (таблица 14).

Таблица 14. - Показатели уровней цитокинов у больных с ХБП 5 стадией в подгруппах 1а и 1б после трансплантации почки (M±m)

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Подгруппа 1а (n=13)	Подгруппа 1б (n=12)	p
IL-1пг/мл	352,5±11	442,3±28,5***	441±27,2***	>0,05
IL-2пг/мл	98,6±22	72,4±8,2***	71,2±8,1***	>0,05
IL-4пг/мл	2,1±0,07	1,18±0,15***	1,16±0,13***	>0,05
IL-10пг/мл	3,8±0,3	2,5±0,19***	2,25±0,18***	>0,05
IL-12пг/мл	158,3±24,5	91,1±12,3***	90,0±12,1***	>0,05
TNF-апг/. - мл	320±5,6	310±4,5	312±4,6	>0,05

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

В посттрансплантационном периоде после трансплантации почки в обеих подгруппах с одинаковой частотой встречалась отсроченная функция трансплантата, так в 1a подгруппе частота составила 1(7,69%) и в 1b 1(8,33%) ($p>0,05$) (таблица 15).

Таблица 15. - Осложнения в посттрансплантационном периоде у больных с ХБП 5 стадии в 1a и 1b подгруппах после трансплантации почки

Параметры	Подгруппа 1a (n=13)	Подгруппа 1b (n=12)	p
Отсроченная функция	1(7,69%)	1(8,33%)	$>0,05$
Криз острого отторжения	1(7,69%)	1(8,33%)	$>0,05$
Потеря трансплантата	-	-	

Примечание: p – статистическая значимость различий между показателями подгрупп 1a и 1b после трансплантации почек (по точному критерию Фишера)

Развитие криза острого отторжения также встречалось с одинаковой частотой 1 (7,69%) в подгруппе 1a и 1(8,33%) в подгруппе 1b. Потеря трансплантата, вследствие криза отторжения в обеих подгруппах не было. Однако при анализе в подгруппах 1a и 1b по количеству инфекционных осложнений, в 1a подгруппе оно составляло 30% против 10% в 1b. Что говорит нам о том, что примененная оптимизированная схема иммуносупрессии позволила снизить количество инфекционных осложнений на 20% (рисунок 3).

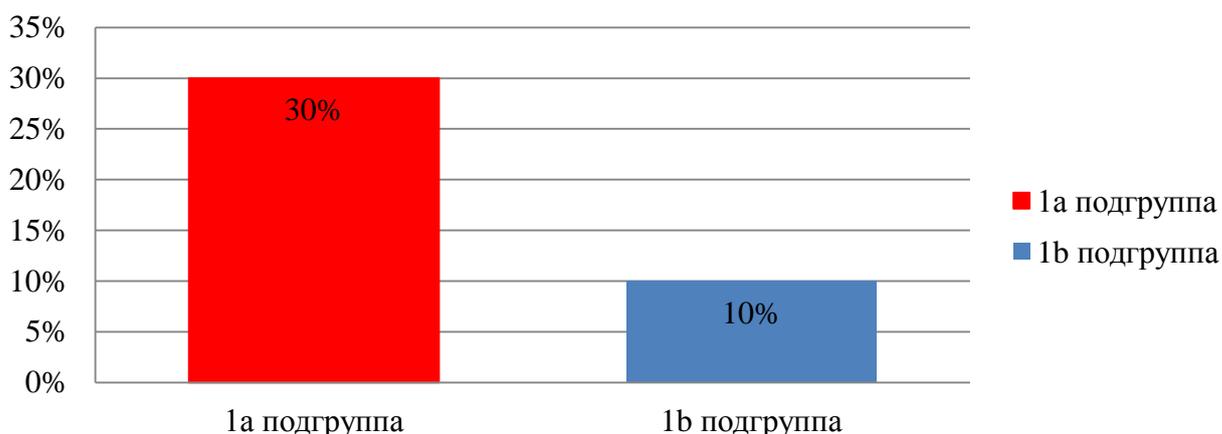


Рисунок 3. - Инфекционные осложнения в подгруппах 1a и 1b

При анализе кумулятивной доли выживаемости реципиентов в подгруппах 1a и 1b было выявлено, что в 1 год после трансплантации почки

выживаемость в 1a подгруппе пациентов составила 90,2% против 96,0% ($p < 0,05$) (рисунок 4).

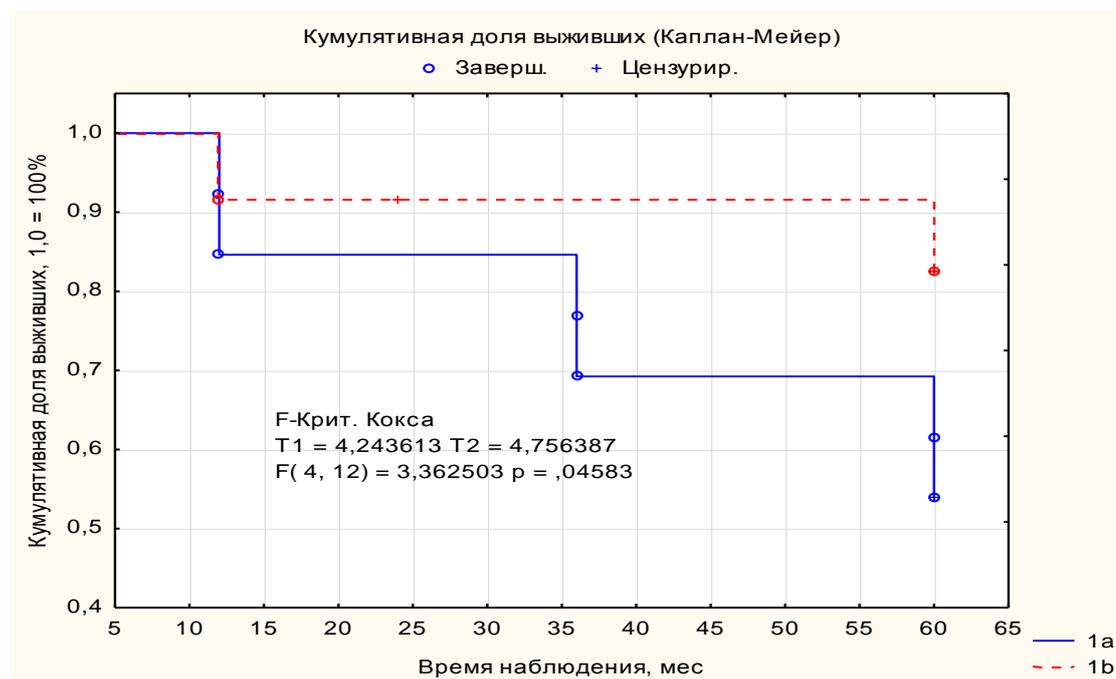


Рисунок 4. - Сравнение выживаемости реципиентов после трансплантации почки в подгруппах 1a и 1b

Трёхлетняя кумулятивная выживаемость в группе 1a составила 84%, а в группе 1b - 91%. 5-летняя кумулятивная выживаемость в подгруппе 1a составила 69%, а в подгруппе 1b - 91% ($p < 0,05$).

Далее нами была изучена особенность иммунного статуса в 2-ой группе после трансплантации почки мы также, ее разделили на две подгруппы 2a и 2b. В подгруппе 2a применялась стандартная четырех компонентная иммуносупрессия состоящая из индукции Тимоглобулином и трех базовых иммунодепрессантов: Такролимус (Prograf) 0,15-0,3 мг/кг/день с последующим регулированием дозы для достижения целевой концентрации C_0 : 10-15 нг/мл; микофенолат мофетил ММФ (2г/день) интраоперационно метилпреднизолон 500-1000 мг в\в, за 30 минут до того, как почка будет включена в кровоток: 1-й день-500мг в\в; 2-й день -250мг в\в; 3 день-метилпреднизолон 0,5 мг/кг перорально с постепенным снижением дозы до 8-12 мг в конце недели 4-6 и 4 мг через 6 месяцев (рисунок 5).

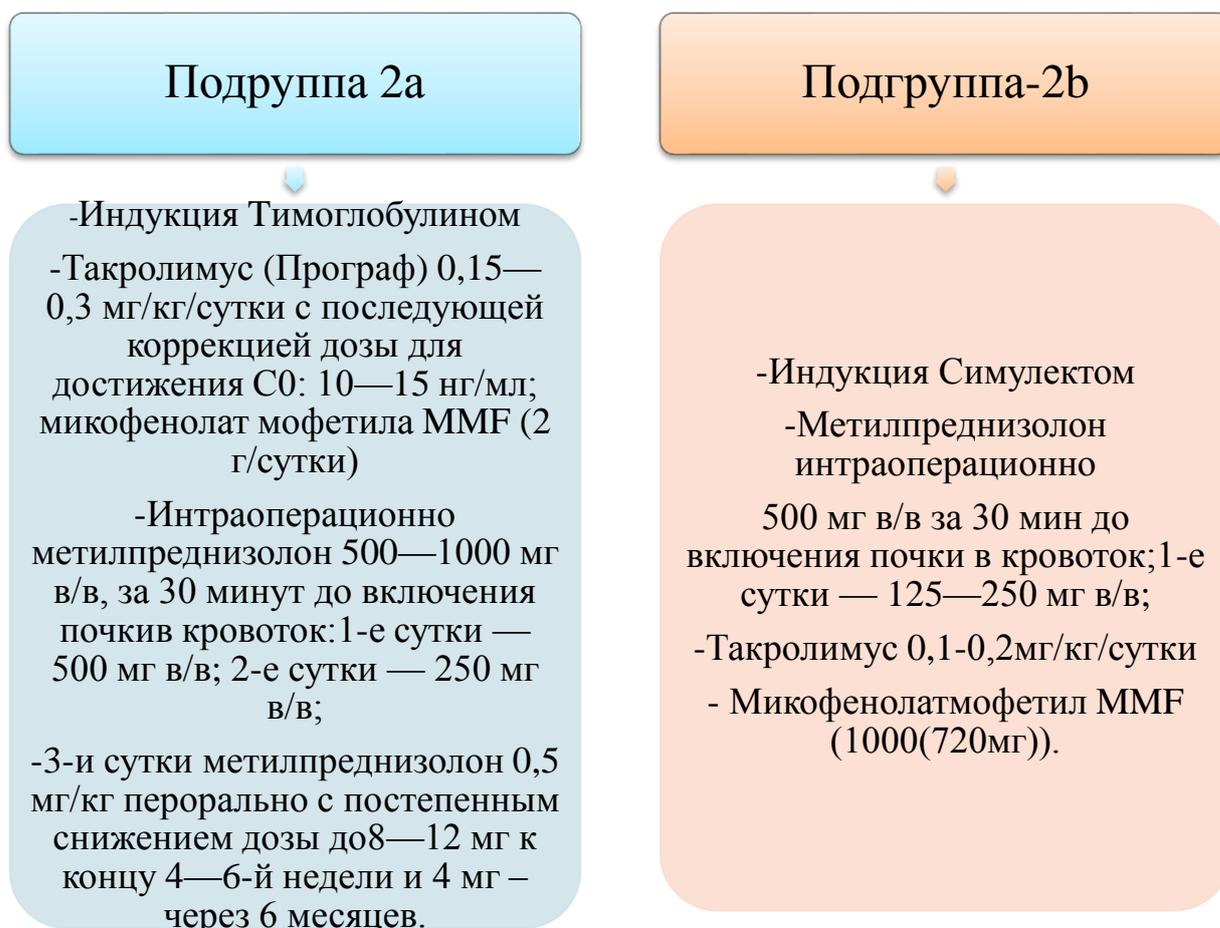


Рисунок 5. - Схема иммуносупрессии в подгруппах 2а и 2б

В подгруппе 2б режим иммуносупрессии включал индукцию с Симулектом + Метилпреднизолон интраоперационно 500 мг в течение 30 минут до ведения почки в кровотоки; 1-й день 125-250 мг в/в; Такролимус (Prograf) 0,1-0,2 мг/кг/день с микофенолатмофетилом (1000-720мг).

При межгрупповом анализе по разнице по субпопуляциям циркулирующих лейкоцитов у больных 2а и 2 б подгруппах показал, что имелись статистически значимые изменения по субпопуляциям лейкоцитов $CD_2 \times 10^9/л$ были увеличены на 33,3%, $CD_3 \times 10^9/л$ - 28,5%, $CD_4 \times 10^9/л$ -28,3%, $CD_8 \times 10^9/л$ - 13,3%, $CD_{19} \times 10^9/л$ - 35.4%, $CD_{25} \times 10^9/л$ - 35% по сравнению с подгруппой 2а ($p < 0,001$), что говорит о присутствии чрезмерной иммуносупрессии в подгруппе 2а по сравнению с подгруппой 2 б, что в последующем будет сказываться на появлении инфекции и связанных с ней осложнений в виду чрезмерного снижения иммунитета (таблица 16).

Таблица 16. - Субпопуляции циркулирующих лейкоцитов у больных с ХБП 5 стадии после трансплантации почки

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Подгруппа 2a (n=15)	Подгруппа 2b (n=17)	p
CD ₂ x10 ⁹ /л	3,02±0,24	1,76±0,13***	1,14±0,07***	<0,01
CD ₃ x10 ⁹ /л	1,80±0,25	0,75±0,07***	1,05±0,06*	<0,01
CD ₄ x10 ⁹ /л	1,12±0,14	0,48±0,09***	0,67±0,1*	>0,05
CD ₈ x10 ⁹ /л	0,80±0,10	0,39±0,09**	0,45±0,12*	>0,05
CD ₁₉ x10 ⁹ /л	0,45±0,06	0,20±0,04**	0,31±0,06	>0,05
CD ₂₅ x10 ⁹ /л	0,20±0,03	0,08±0,02**	0,11±0,01*	>0,05

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

При межгрупповом анализе фагоцитарного звена иммунитета и иммуноглобулинов у больных в 2a и 2b подгруппах не наблюдаются статистически значимых изменений. по уровню ЦИК 4%, ЦИК 6%, Фагоцитозу,%, Фаг.числу,шт, НСТ, %, НСТ стим.,%, при этом были несколько повышены уровни иммуноглобулина IgA-20,5% (3,1±0,16 против 2,5±0,06 в подгруппе 2a), IgG-12% (8,9±3,5 против 8,0±3,2в подгруппе 2a), Ig M- 15% (2,1±2,5 против 1,9±2,4 в подгруппе 2a) (таблица 17).

Таблица 17. - Показатели фагоцитарного звена иммунитета и иммуноглобулинов в подгруппах 2a и 2b после трансплантации почки

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Подгруппа 2a (n=15)	Подгруппа 2b (n=17)	p
ЦИК 4% у.е.	16,1±1,8	1,40±0,25***	1,41±0,26***	>0,05
ЦИК 6% у.е.	45,3±2,7	0,94±0,1***	0,95±0,12***	>0,05
Фагоцитоз %	73,1±3,2	10,2±0,35***	10,1±0,34***	>0,05
Фаг.число шт.	3,2±0,25	2,2±0,4*	2,0±0,3**	>0,05
НСТ %	20,2±1,9	46,1±2,7***	47,1±2,8***	>0,05
НСТ стим %	44,1±2,2	59,0±1,0***	58,5±1,0***	>0,05
IgA, г/л	2,30±0,85	2,5±0,06	3,1±0,16***	<0,01
IgM, г/л	1,80±0,2	1,9±0,4	2,1±0,5	>0,05
IgG, г/л	10,7±0,32	8,0±3,2***	8,9±3,5*	>0,05

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

Анализ цитокинов в подгруппах 2а и 2б выявил значимые различия по уровню IL -1 - 18,5% (254,4±7,3 против 300,1±9,3 (p<0,001)), IL -2 -20,3 % (80,7±16,2 против 97,08±17,4 p<0,01) IL - 4 - 32,6% (0,95±0,09 против 1,26±0,12 p<0,001) в сторону увеличения последних в подгруппе 2б и со снижением TNF-а- 33,1% по сравнению с подгруппой 2 а (таблица 18).

Таблица 18. - Показатели уровней цитокинов в подгруппах 2а и 2б после трансплантации почки (M±m)

Показатель	Контрольная группа (n=30)	Подгруппа 2а (n=15)	Подгруппа 2б (n=17)	p
IL-1пг/мл	352,5±11	254,4±7,3***	300,1±9,3***	<0,001
IL-2пг/мл	98,6±22	80,7±16,2**	97,08 ±17,4	<0,05
IL-4пг/мл	2,1±0,07	0,95±0,09***	1,26±0,12***	<0,05
IL-10пг/мл	3,8±0,3	2,25±0,14***	2,27±0,27***	>0,05
IL-12пг/мл	158,3±24,5	296,3±12,4***	295,2±12,3***	>0,05
TNF-апг/. - мл	320±5,6	306,4±23.4	204,9±17,2***	<0,001

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами больных (по U-критерию Манна-Уитни); *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - при сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни)

Инфекционные осложнения наблюдались в подгруппе 2а в 32,0% и в подгруппе 2б в 12,0% случаев, таким образом, оптимизированная иммуносупрессивная терапия позволила снизить инфекционные осложнения на 20,0% (рисунок 6).

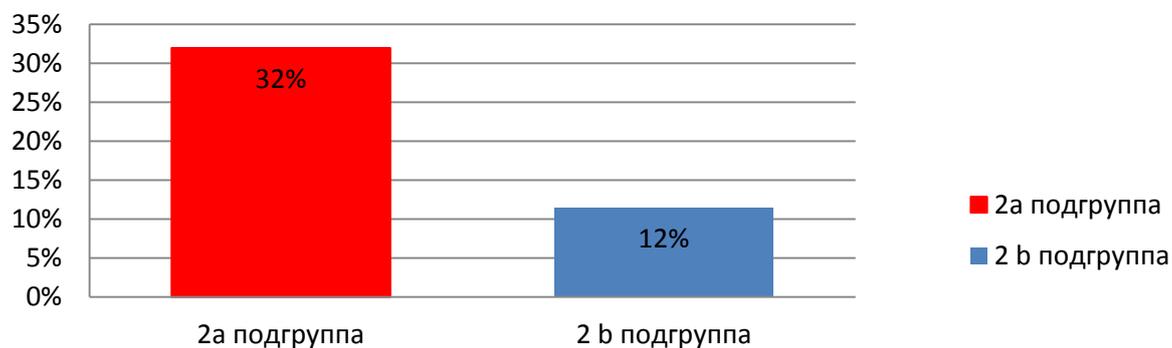


Рисунок 6. - Инфекционные осложнения в подгруппах 2а и 2б после трансплантации почки

Кумулятивная доля выживаемости реципиентов на фоне оптимизированного протокола иммуносупрессии в подгруппах 2a и 2b в 1 год после трансплантации почки составила 89,2% против 95,0%, $p=0,210$ (рисунок 7).

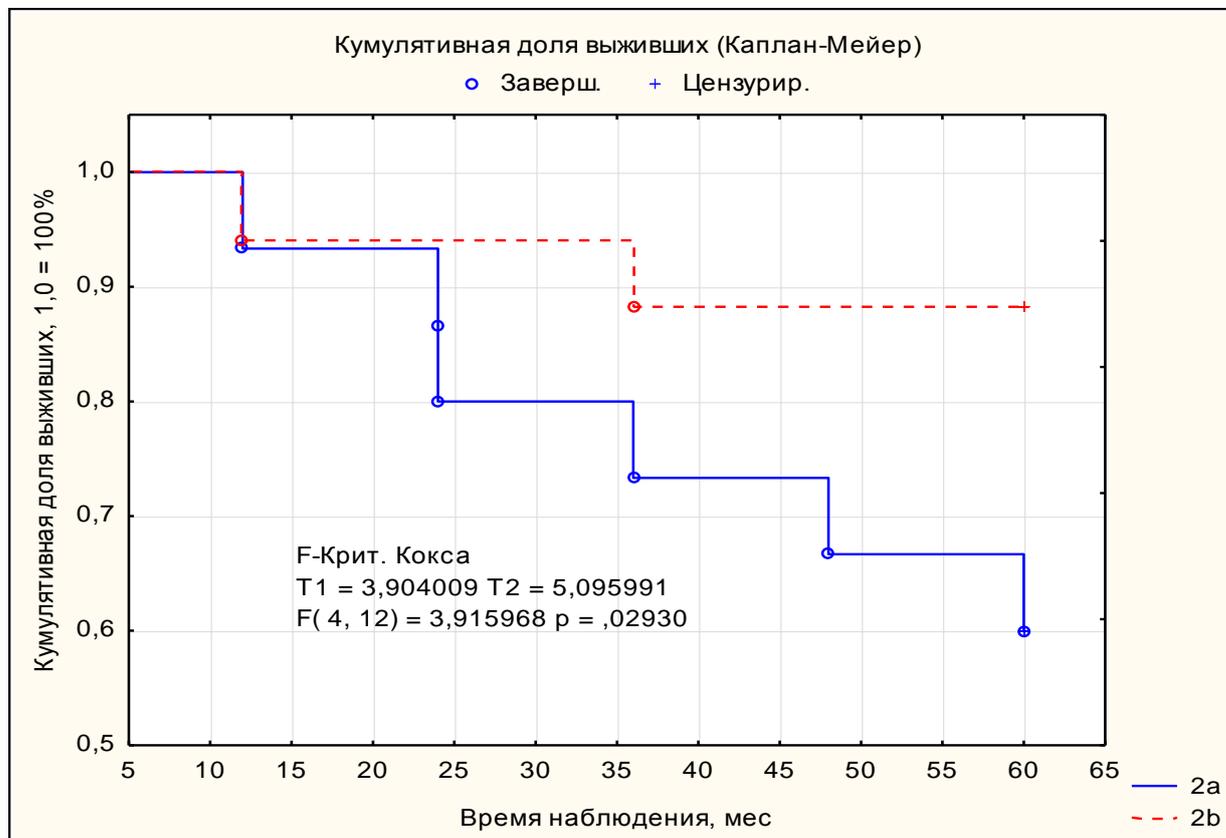


Рисунок 7. - Сравнение выживаемости реципиентов после трансплантации почки в подгруппах 2a и 2b

После 3 лет трансплантации почки кумулятивная выживаемость в подгруппе 2a составила 80%, а в подгруппе 2b - 94% ($p<0,05$) После 5 лет трансплантации почки кумулятивная выживаемость реципиентов 2a составила 67%, а в группе 2b - 88% ($p<0,05$).

Со стороны осложнений в виде отсроченной функции трансплантата 2a подгруппе наблюдалась в 2 (13.33%), а 2b 1(5.88%) $P>0,001$, криз острого отторжения в 2a происходил в 2 (13.33%), а в подгруппе 2b в 2 (11.76%) $P>0,001$. Потери трансплантата также небыло (таблица 19).

Таблица 19. - Осложнения после трансплантации почки у больных в 2а и 2б подгруппах

Показатели	Подгруппа 2а (n=15)	Подгруппа 2б (n=17)	Р
Отсроченная функция	4(26,6%)	1(5,8%)	>0,05
Криз острого отторжения	2(13,3%)	2(11,7%)	>0,05
Потеря трансплантата	-	-	

Примечание: р – статистическая значимость различий между показателями подгрупп 2а и 2б после трансплантации почек (по точному критерию Фишера)

Режим иммуносупрессии в группе 3 включал индукцию тимоглобулином + Такролимус (Prograf) 0,10 мг/кг/день с последующим регулированием дозы для достижения С0:10-15нг/мл; микофенолат мофетил ММФ (2г/день) интраоперационно метилпреднизолон 500-1000 мг, за 30 минут до включения почечного трансплантата в кровоток далее в 1-й день - 500мг в\в; 2-й день- 250мг в\в, 3-й день - метилпреднизолон 0,5мг/кг перорально с постепенным снижением дозы до 8-12мг в конце недели 4-6 и 4 мг-через 6 месяцев в сравнение в этом случае выполнялись с результатами, полученными в подгруппах 1а и 2а (таблица 20).

Таблица 20. - Осложнения после трансплантации почки в 1а, 2а подгруппах в сравнение с 3 группой

Параметры	Подгруппы 1а и 2а (n=28)	Группа 3 (n=33)	Р
Отсроченная функция	5 (17,86%)	1 (3,03%)	<0,05
Криз острого отторжения	3 (10,7%)	1 (3,03%)	>0,05
Потеря трансплантата	-	-	

Примечание: р – статистическая значимость различий между показателями подгрупп 1а и 2а и группой 3 после трансплантации почек (по точному критерию Фишера)

При анализе осложнений, как видно из представленной таблицы в подгруппах 1а, 2а наблюдалась отсроченная функция трансплантата в 5 (17,86%) случаев, против 1 (3,03%) в 3 группе, при этом криз острого

отторжения происходил в 3 (7,4%) случаев, в 1а и 2а подгруппе против 1 (3,03%) в 3 группе ($P < 0,001$).

Кумулятивная доля выживаемости реципиентов на фоне оптимизированного протокола иммуносупрессии в подгруппах 1а и 2а с 3 группой в 1 год после трансплантации почки составила 89,2% против 95,0% ($p < 0,01$) (рисунок 8).

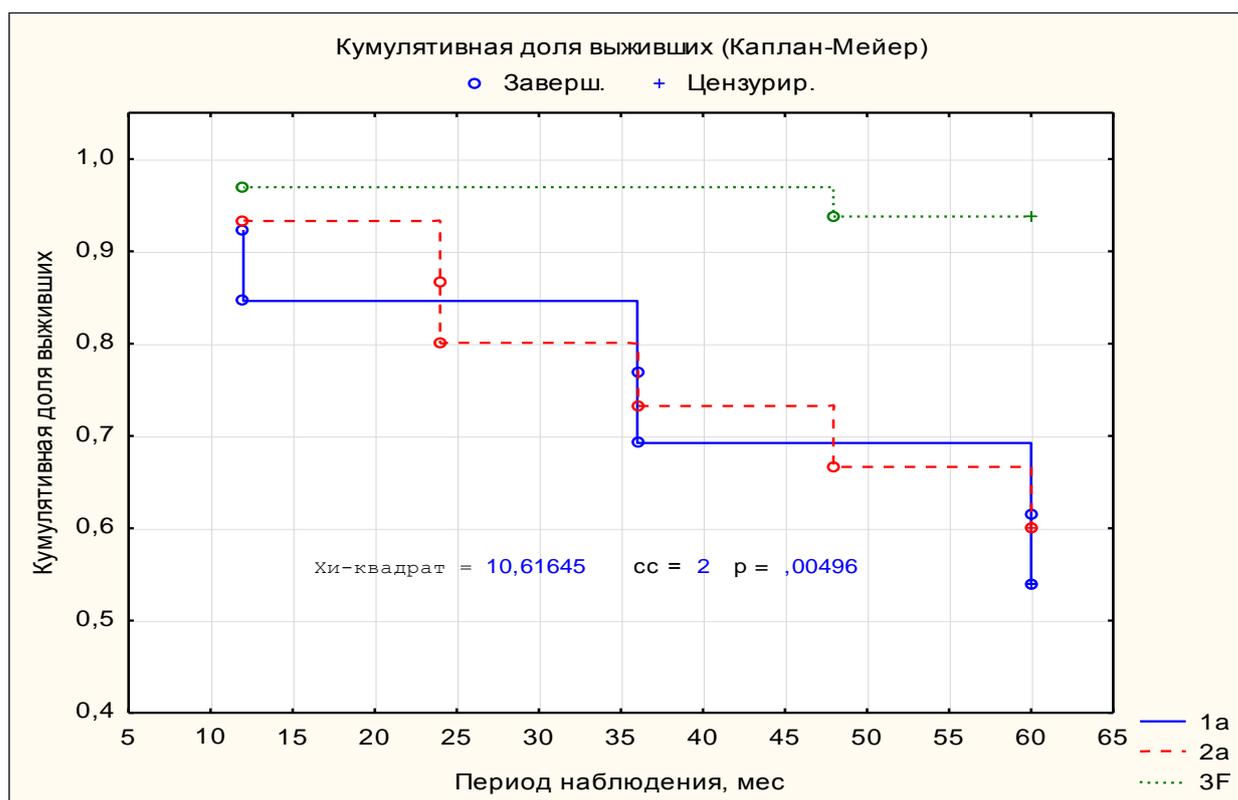


Рисунок 8. - Сравнение выживаемости реципиентов после трансплантации почки в подгруппах 1а и 2а с 3 группой

При этом, 3-летняя кумулятивная выживаемость в подгруппе 1а составила 84%, в подгруппе 2а - 80%, а в 3 группе - 97%, 5-летняя кумулятивная выживаемость в подгруппе 1а составила 69%, в подгруппе 2а - 67%, а в 3 группе - 93% ($p < 0,01$).

Таким образом, чрезмерная иммуносупрессия приводит к подавлению всех субпопуляций иммунитета, фагоцитотоза, что в свою очередь влияет на развитие инфекционных осложнений, которые приводят к повреждению трансплантата и его последующей утрате.

4.3. Совершенствование диагностико-лечебного алгоритма для оптимизации коррекции изменений иммунного статуса больных до и после трансплантации почки

При исследовании реципиентов почек на фоне различных протоколов иммуносупрессии, частота встречаемости кризов острого отторжения и отсроченной функции почечного трансплантата встречалась с разной частотой во всех исследуемых группах. При исследовании типа острого отторжения было выявлено, что смешанный тип острого отторжения встречался в 8 (47,0%) случаях, гуморальный тип острого отторжения встречался в 4 (23,5%) случаях, а клеточный тип острого отторжения встречался в 5 (29,4%) (рисунок 9).

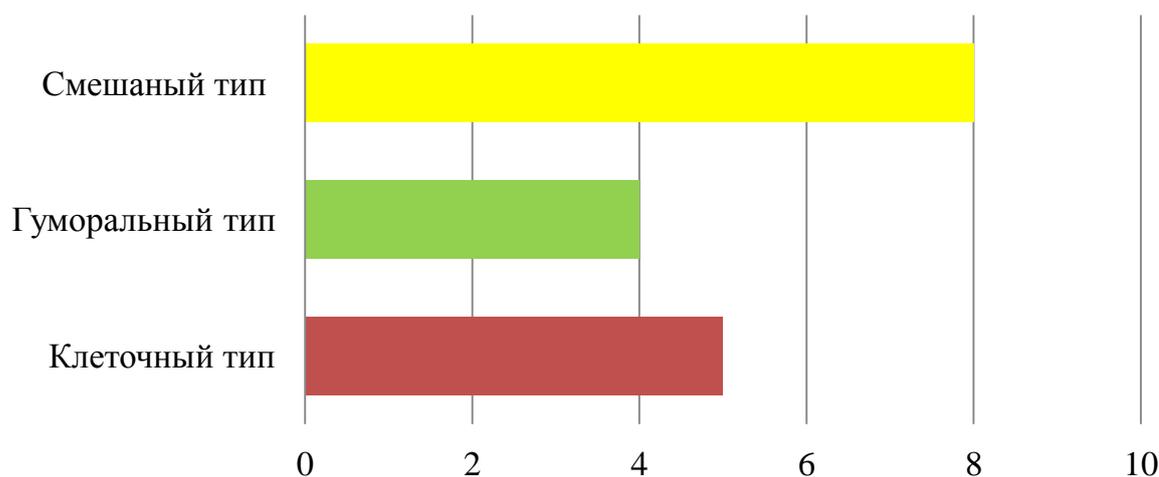


Рисунок 9. - Типы острого отторжения и частота встречаемости

При этом в анализе иммунного статуса по субпопуляциям циркулирующих лимфоцитов, фагоцитарного звена, уровней IgA, IgM, IgG, ЦИК, и состава цитокинов были выявлены характерные изменения для каждого типа острого отторжения которые коррелировали с гистологической картиной при биопсии трансплантата (рисунки 10-12).

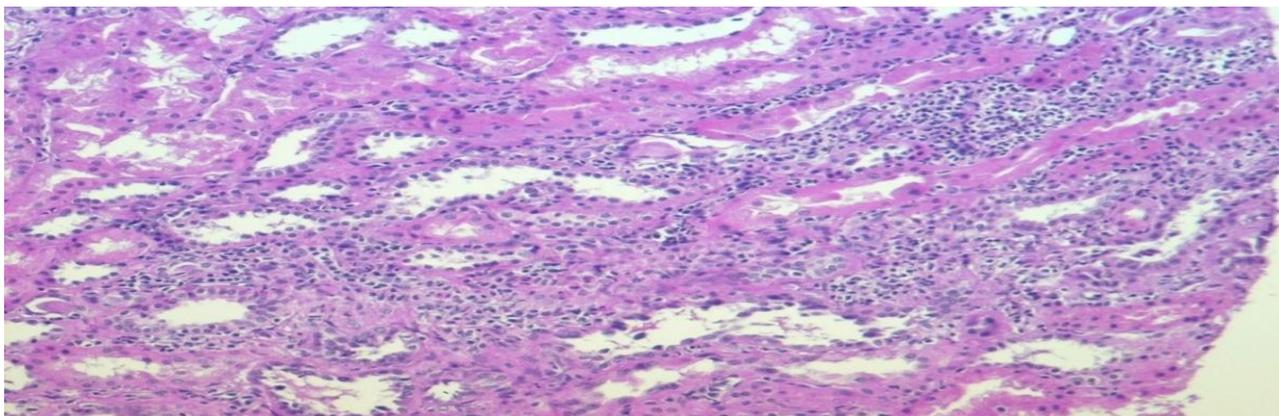


Рисунок 10. - Гистологическая картина клеточного острого отторжения

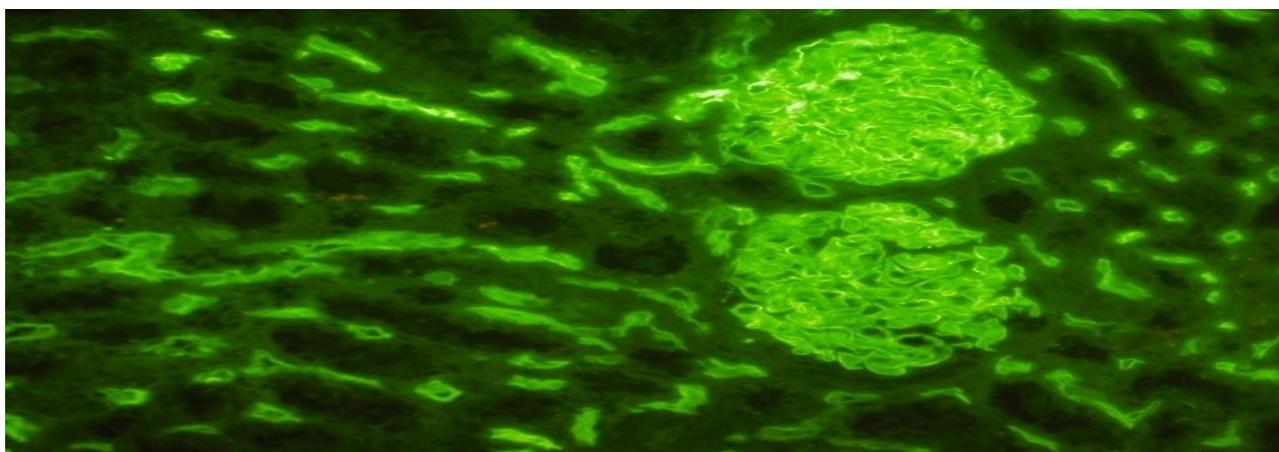


Рисунок 11. - Иммуногистохимия гуморального острого отторжения

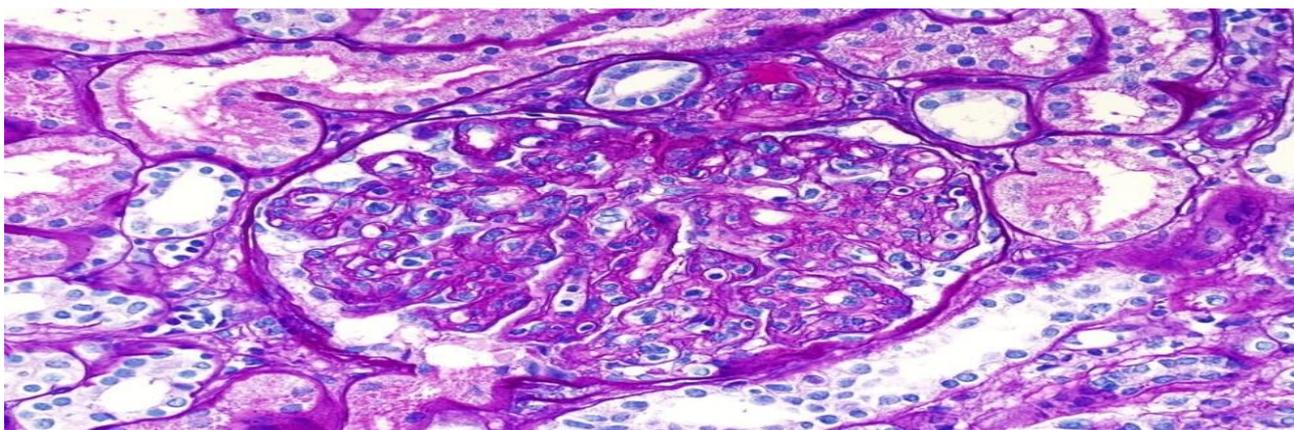


Рисунок 12. - Гистологическая картина смешанного типа отторжения

Так характерными изменениями при остром клеточном отторжении на иммунограммах видны следующие изменения (таблица 21). Увеличиваются уровни $CD2 \times 10^9/\text{л}$ -55,6%, $CD3 \times 10^9/\text{л}$ -253,5%, $CD4 \times 10^9/\text{л}$ -576,0%, $CD8 \times 10^9/\text{л}$ -

1300%, CD25x10⁹/л-720%, IL-2 - 82,5%, IL-10- 99,1%, IL-1 -40,5%, с уменьшением IL-12- 25,1% по сравнению с группой без криза острого отторжения.

Таблица 21. - Иммунограмма клеточного типа острого отторжения у больных с ХБП 5 стадией после трансплантации (M±m)

Показатель	Без криза отторжения (n=20)	С кризом отторжения (n=17)	p
CD ₂ x10 ⁹ /л	1,23±0,4	1,9±0,6	<0,001
CD ₃ x10 ⁹ /л	1,5±0,5	5,3±1,7	<0,001
CD ₄ x10 ⁹ /л	0,7±0,1	4,72±0,6	<0,001
CD ₈ x10 ⁹ /л	0,53±0,1	7,5±1,4	<0,001
CD ₁₉ x10 ⁹ /л	0,31±0,05	0,33±0,05	>0,05
CD ₂₅ x10 ⁹ /л	0,14±0,04	1,15±0,3	<0,001
IgAг/л	3,8±0,5	3,3±0,2	>0,05
IgMг/л	1.2±1,4	1,25±1,5	>0,05
IgGг/л	8,5±6,1	8,2±5,8	>0,05
IL-1пг/мл	406±23	570±41,9	<0,001
IL-2пг/мл	126±20	230±36,5	<0,001
IL-4пг/мл	1,3±0,3	1,4±0,4	>0,05
IL-10пг/мл	1,59±0,25	3,16±0,5	<0,001
IL-12пг/мл	274±17,0	205,5±12,7	<0,001
TNF-апг/мл	310±0,7	311±0,8	>0,05

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами (по U-критерию Манна-Уитни)

При остром гуморальном типе острого отторжения увеличиваются уровни CD19 x 10⁹/л- 1300%, IgA-1200%, IgM-960%, IgG-370%, TNF-a-90% (таблица 22).

Таблица 22. - Иммунограмма гуморального типа острого отторжения у больных с ХБП 5 стадией после трансплантации (M±m)

Показатель	Без криза отторжения (n=20)	С кризом отторжения (n=17)	p
CD ₂ x10 ⁹ /л	1,23±0,4	1,22±0,3	>0,05
CD ₃ x10 ⁹ /л	1,5±0,5	1,58±0,6	>0,05
CD ₄ x10 ⁹ /л	0,7±0,1	0,6±0,1	>0,05
CD ₈ x10 ⁹ /л	0,53±0,1	0,54±0,1	>0,05
CD ₁₉ x10 ⁹ /л	0,31±0,05	4,31±0,7	<0,001
CD ₂₅ x10 ⁹ /л	0,14±0,04	1,16±0,3	>0,05
IgA г/л	3,8±0,5	49,4±6,5	<0,001
IgM г/л	1,4±0,4	14,84±4,2	<0,001
IgG г/л	10,1±1,2	47,4±5,64	<0,001
IL-1 пг/мл	406±23	405±22,5	>0,05
IL-2 пг/мл	126±20	126±20	>0,05
IL-4 пг/мл	1,3±0,3	1,33±0,3	>0,05
IL-10 пг/мл	1,59±0,25	1,58±0,23	>0,05
IL-12 пг/мл	274±17	273±16	>0,05
TNF-а пг/мл	311±0,8	590,9±1,52	<0,001

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами (по U-критерию Манна-Уитни)

При смешанном типе острого отторжения преобладает увеличение всех уровней субпопуляций клеточного и гуморального иммунитета (таблица 23). Увеличиваются уровни CD₂ x10⁹/л-55,6%, CD₃ x10⁹/л-253,5%, CD₄ x10⁹/л-576.0%, CD₈ x10⁹/л-1300%, CD₂₅x10⁹/л-720%, IL-2 - 82,5%, IL-10- 99,1%, IL-1 - 40,5%, CD₁₉ x 10⁹/л- 1300%, IgA-1200%, IgM-960%, IgG-370%, TNF-а-90% с уменьшением IL-12- 27,5%, и IL-4-50%, по сравнению с группой без криза острого отторжения.

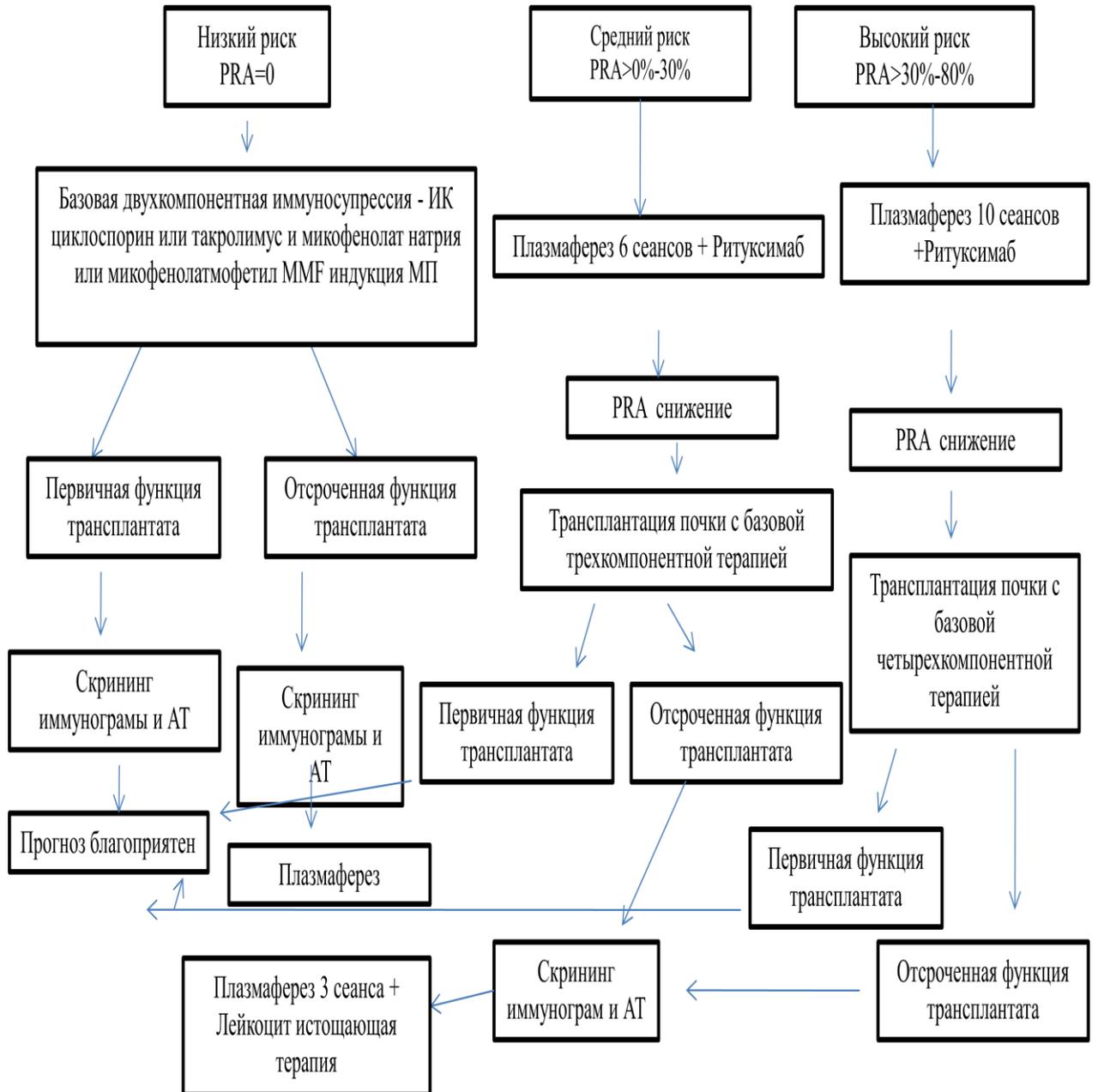
Таблица 23. - Иммунограмма смешанного типа острого отторжения у больных с ХБП 5 стадией после трансплантации (M±m)

Показатель	Без криза отторжения (n=20)	С кризом отторжения (n=17)	p
CD₂x10⁹/л	1,23±0,4	1,88±0,6*	<0,001
CD₃x10⁹/л	1,5±0,5	5,3±1,7*	<0,001
CD₄x10⁹/л	0,7±0,1	4,72±0,6*	<0,001
CD₈x10⁹/л	0,53±0,1	7,5±1,4*	<0,001
CD₁₉x10⁹/л	0,31±0,05	4,31±0,7*	<0,001
CD₂₅x10⁹/л	0,14±0,04	6,15±0,05*	<0,001
IgAг/л	3,8±0,5	49,4±6,5*	<0,001
IgMг/л	1,4±0,4	14,84±4,2*	<0,001
IgGг/л	10,1±1,2	47,4±5,64*	<0,001
IL-1пг/мл	406±23	570±41,9*	<0,001
IL-2пг/мл	126±20	230±36,5*	<0,001
IL-4пг/мл	1,3±0,3	0.65±0,15*	<0,001
IL-10пг/мл	1,59±0,25	3,16±0,5*	<0,001
IL-12пг/мл	274±17	204,13±12,7*	<0,001
TNF-αпг/мл	311±0,8	591±1,52*	<0,001

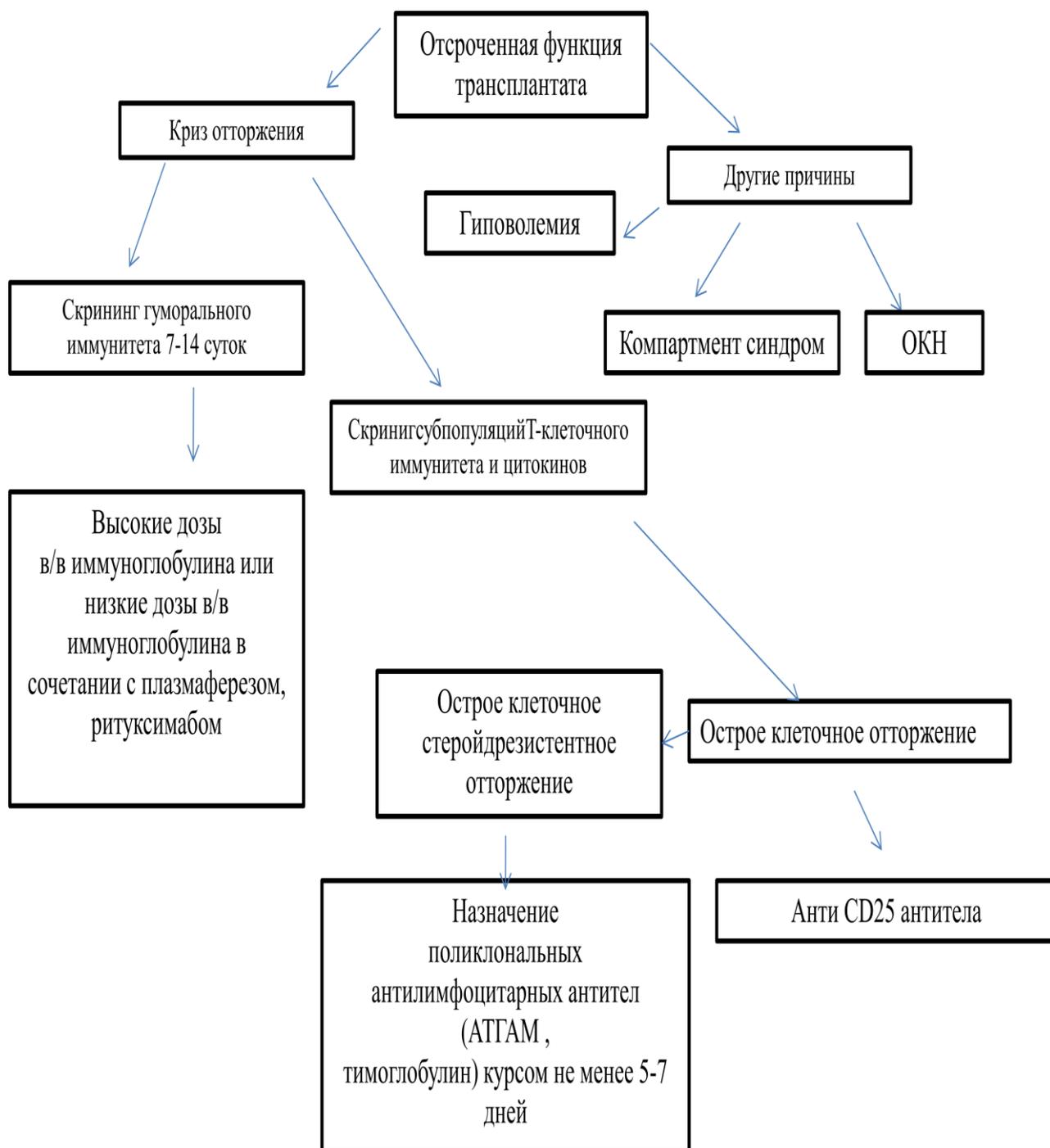
Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между группами (по U-критерию Манна-Уитни)

На основании проведенного исследования нами совершенствован диагностико-лечебный алгоритм (рисунок 13).

**Диагностико-лечебный алгоритм для оптимизации коррекции
изменений иммунного статуса больных до- и после
трансплантации почки**



**Рисунок 13. - Диагностико-лечебный алгоритм для оптимизации и
коррекции изменений иммунного статуса больных до и после
трансплантации почки**



Так же нами на основании выявленных особенностей в иммунном статусе проведена селективная терапия кризов острого отторжения в зависимости от выявленного нами его типа на иммунограмме в качестве сравнения нами сравнивалась группа в которой в независимости от типа отторжения

применялась терапия анти-тимоцитарным кроличьим глобулином (Тимоглобулин) (таблица 24).

Таблица 24. - Антикризловая терапия острого отторжения больным после трансплантации почки

Показатели	Тимоглобулином (n=5)	Ритуксимаб (n=6)	Базиликсимаб (n=6)
Потеря трансплантата	-	-	-
Инфекционные осложнения	69%	13.3% p<0,001	2% p<0,001
Летальность от инфекционных осложнений	20%	-	-

Примечание: p – значимость различий по отношению к группе с Тимоглобулином

Примененная селективная антикризловая терапия показала следующие результаты, утрата трансплантата, вследствие криза отторжения не наблюдалось не в одной из групп. Хотя спектр осложнений, а именно инфекционных преобладал в группе Тимоглобулина 69,0% против 13,3% Ритуксимаб и 2,0% Симулект. Смерти реципиентов от инфекционных осложнений преобладали в группе Тимоглобулина, что составляло 20,0%.

Таким образом, примененная селективная нами терапия кризов отторжения помогает выявить тип острого отторжения и применить соответствующую терапию криза острого отторжения еще до выявления гистологической картины при биопсии почки, что в свою очередь позволяет снизить риск утраты трансплантата и риск смерти пациентов.

Прибегая к селективной терапии криза острого отторжения в зависимости от его типа позволяет применять препараты с селективным действием на иммунную систему, что также снижает риск инфекционных осложнений после трансплантации почки.

ГЛАВА 5. ИНТРАОПЕРАЦИОННЫЙ СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ИШЕМИЧЕСКО - РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА НА ЭТАПЕ ИМПЛАНТАЦИИ К РЕЦИПИЕНТУ

5.1. Разработка техники хирургического способа оценки почечного трансплантата на этапе имплантации к реципиенту

Отсроченная функция трансплантата после трансплантации почки влияет на долгосрочную функцию и выживаемость трансплантата и считается проявлением ишемического реперфузионного повреждения и иммунологических нарушений.

Нами разработан способ оценки донорской почки на этапе имплантации к реципиенту. Техника способа включает следующие этапы при эксплантации почки от живого родственного донора.

При эксплантации на этапе донорской нефрэктомии от живого родственного донора мы сохраняли гонадную вену для оценки постреперфузионных изменений и иммунологических изменений в донорском органе (рисунок 14).

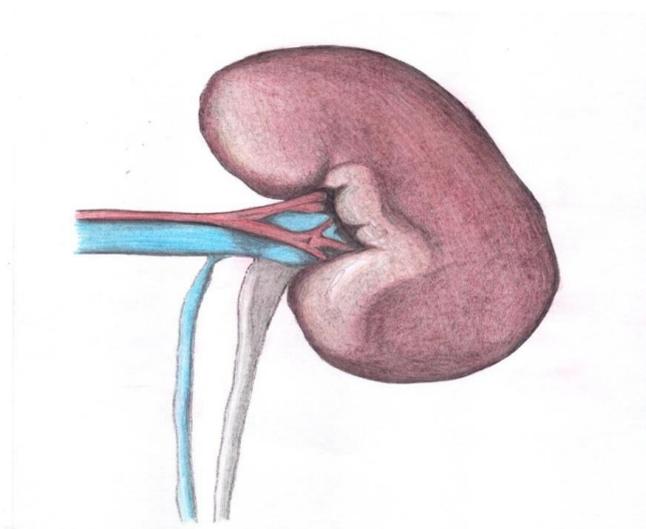


Рисунок 14. - Этап эксплантации донорской почки с сохранением гонадной вены

Далее на этапе имплантации донорской почки после включения её в кровотоки и после реперфузии органа мы забирали из гонадной вены 10 мл венозной крови для её оценки (рисунок 15).

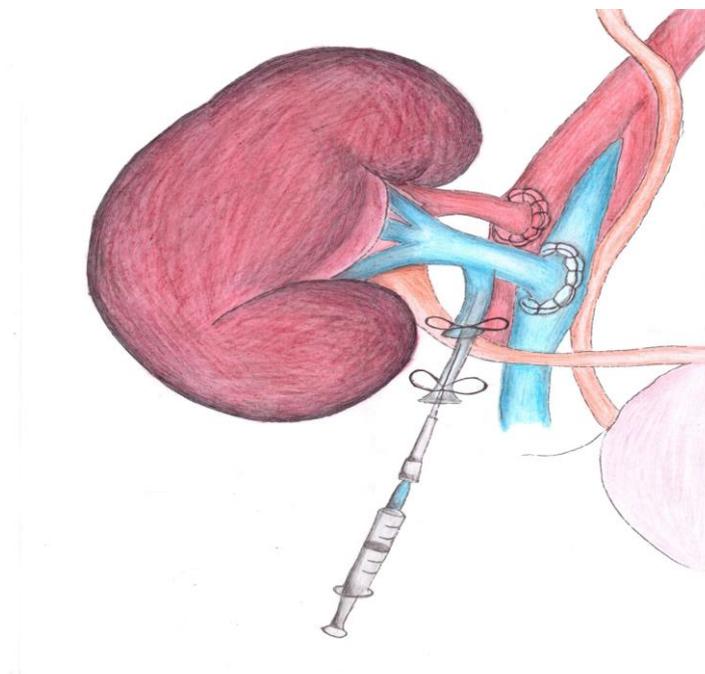


Рисунок 15. - Этап имплантации донорской почки реципиенту с канюлированной гонадной веной для забора венозной крови после реперфузии трансплантата

Донорам выполнялась открытая нефрэктомия. Для холодной перфузии и хранения почек использовали раствор Custodiol®НТК (Tramedico, Weesp, Нидерланды). Средний период холодной ишемии составил в среднем 177 ± 17 мин. После имплантации трансплантата в сохраненную гонадную вену был введен катетер размером 5 Fr. Кровь забирали через 30 сек, 1, 3, 5, 10, 20 и 30 минуте после реперфузии. Парные образцы артериальной крови получали через 30 сек, 3, 5, 10, 20 и 30 минуте после реперфузии почки из артерии для сравнения. Для выявления артерио-венозной разницы проб крови проводили анализ газов крови артериальной и венозной аппаратом КИЭС ABL 80, Radiometer (Дания).

5.2. Анализ полученных данных хирургического способа оценки почечного трансплантата на этапе имплантации реципиенту при трансплантации почки от живого родственного донора

Нами изучены артериальные и венозные почечные концентрации IL-6 в плазме крови после реперфузии трансплантата. Цитокиновый ответ после реперфузии определялся местным высвобождением IL-6. Уровни IL-6 были значительно повышены в крови из почечной вены ($p < 0,001$), достигая пика сразу после реперфузии. Высвобождение IL-6 было специфическим для ИРП, поскольку контрольные измерения вне ишемической почки у донора не показали разницы в уровнях IL-6. Это указывает на то, что высвобождение IL-6 не является следствием манипуляции с почкой во время операции или реакцией на анестетики (таблица 25).

Таблица 25. - Концентрации IL-6 нг\л в ОАК и почечной вене реперфузированной почки в течение первых 30 минут ($M \pm m$)

Время после реперфузии	А\кровь	В\кровь из гонадной вены трансплантата	А-В разница%	р
30 сек	2,02±0,1	15,4±2,8	↑600	<0,001
1 мин	3,5±0,1	19,6±0,3	↑400	<0,001
3 мин	4,2±0,11	18,2±0,3	↑335	<0,001
5 мин	6,1±0,12	18,9±0,3	↑350	<0,001
10 мин	7,5±0,15	27,5±0,4	↑265	<0,001
20 мин	10,0±0,2	35,0±0,45	↑250	<0,001
30 мин	18,1±0,3	41,2±0,5	↑128	<0,001

Примечание: р – статистическая значимость различий между показателями артериальной и венозной кровью у больных с ИРП после трансплантации почек (по U-критерию Манна-Уитни)

Анализ концентрации IL-6 по ОАК и почечной вене реперфузированного трансплантата с отсроченной функцией показал, что с увеличением времени после реперфузии растет концентрация IL-6 в крови от почечной вены трансплантата и концу 30 минуты после реперфузии достигает концентрации

41,2±0,5 нг\л. При этом артерио-венозная разница сокращается и составляет 128 % ($p<0,001$), что было значимо статистически.

Так, исследование по концентрации IL-6 на 30 секунде после реперфузии в А\крови концентрация составляла 2,02±0,1 нг\л, а венозной - 15,4±0,4 нг\л при разнице А-В 600% ($p<0,001$). Исследование по концентрации IL-6 на 1 минуте после реперфузии показало, что концентрация в А\крови концентрация составляла 3,5±0,1 нг\л, а венозной - 19,6±0,3 нг\л, при этом А\В разница составила 400% ($p<0,001$). На 3 минуте концентрация А\кровь составляла 4,2±0,11 нг\л, а венозной - 18,2±0,3 нг\л, при этом А\В разница составила 335 % ($p<0,001$). На 5 минуте концентрация А\ крови составляла 6,1±0,12 нг\л, а венозной - 18,9±0,3 нг\л, при этом А\В разница составила 350% ($p<0,001$). На 10 минуте концентрация А\крови составляла 7,5±0,15 нг\л, а венозной - 27,5±0,4 нг\л, при этом А\В разница составила 265% ($p<0,001$). На 20 минуте концентрация А\крови составляла 10,0±0,2 нг\л, а венозной - 35,0±0,45 нг\л, при этом А\В разница составила 250% ($p<0,001$).

Таким образом, важным маркером отсроченной функции почечного трансплантата в результате острого криза отторжения для ранней интраоперационной диагностики можно считать концентрацию IL-6 в венозной крови, из гонадной вены почечного трансплантата.

Далее в своём исследовании мы выявили ещё один маркер, влияющий на отсроченную функцию почечного трансплантата при ишемически-реперфузионном синдроме. Этим маркером оказалось потребление кислорода почечным трансплантатом.

Известно, что кислород почка расходует вдвое больше чем другая ткань для реабсорбции натрия. При ишемическо-реперфузионном синдроме, когда почка неспособна усваивать кислород вследствие нарушения реабсорбции натрия из крови и перехода с анаэробного метаболизма в аэробный, следовательно разница по концентрации кислорода в артериальной и венозной крови должно оставаться минимальным, что говорит о нарушении процесса аэробного пути метаболизма (таблица 26).

Таблица 26. - Потребление кислорода почечной тканью реперфузированной почки в течение первых 30 минут ($M \pm m$)

Время реперфузии	A\кровь	B\кровь из гонадной вены трансплантата	P
1 мин	33,9±16,1	31,9±15,1	>0,05
5 мин	33,9±16,1	30,9±14,8	>0,05
20 мин	33,9±16,1	32,1±15,9	>0,05
30 мин	33,9±16,1	31,1±17,2	>0,05

Примечание: p – статистическая значимость различий между показателями артериальной и венозной крови у больных с ИРП после трансплантации почек (по U-критерию Манна-Уитни)

Для выяснения этого мы использовали анализатор газов крови и КЩС для анализа PCO_2 , PO_2 , pH, избытка основания и HCO_3^- для расчета кислотно-основного гомеостаза. Потребление кислорода почечной тканью рассчитывали по формуле $(PO_2 \text{ (артериальный)} - PO_2 \text{ (венозной из гонадной вены трансплантата)}) \times A/V$ разницы/г.

Данные таблицы показывают, что потребление кислорода почечной тканью реперфузированной почки при ишемически-реперфузионном синдроме начиная с 1 минуты реперфузии до 30 минут менялись незначительно и составляли в среднем по артерио-венозной разнице - 5, 23%.

Таким образом, важным маркером отсроченной функции почечного трансплантата для ранней интраоперационной диагностики можно считать потребление кислорода почечной тканью реперфузированной почки, полученной из венозной крови гонадной вены почечного трансплантата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хронической болезнью почек (ХБП) на сегодня страдает 10% населения мира [78]. Распространенность болезни, скорее всего, вырастет в течение следующего десятилетия из-за увеличения численности пожилого населения и увеличения заболеваемости сахарным диабетом и гипертонией [51]. В Республике Таджикистан более 5000 взрослого населения страдают ХБП в том числе в 5 стадии до 12-15%, при этом отмечаются процессы ежегодной тенденции к их увеличению [1, 8]. Риск развития острого отторжения при трансплантации почек остается важной проблемой, которая тесно связана с определением подходов к повышению эффективности этого метода. Сенсбилизация у реципиента почечного трансплантата приводит к увеличению времени ожидания трансплантации на гемодиализе, осложнений после переливания крови для коррекции анемии, воздействию неблагоприятных эффектов иммунодепрессантов, и в конечном итоге к отторжению трансплантата [133]. Важным фактором иммунологических нарушений до трансплантации почки является предсенсбилизационный фон и факторы риска, которые способствуют его появлению. Одним из таких факторов является количество родов и перенесённых беременностей женщин с ХБП 5 стадии находящимися на гемодиализе [138].

Анализ нутритивного статуса у больных с ХБП 5 стадии на гемодиализе (ГД), является немаловажной особенностью предоперационной подготовки до трансплантации почки [83]. Серьезным препятствием, является недоедание, для длительной выживаемости у пациентов, находящихся на поддерживающем гемодиализе. Это может быть связано с плохим социально-экономическим статусом и связанным с этим последствием, неспособностью позволить себе адекватное питание на гемодиализе. Распространенность недоедания у больных с ХБП 5 стадии варьирует от 30 до 75%, способствуют развитию следующих осложнений: снижению клиренса цитокинов, окислительному стрессу, накоплению конечных продуктов гликирования, инфекционному осложнению и осложнениям непосредственно связанных с гемодиализом:

бионесовместимость мембраны фильтров, инфекции сосудистого доступа и воздействие эндотоксина, который стимулирует воспалительный ответ путем активации выработки воспалительных цитокинов [94, 170].

Отсутствуют стандартизированные методы оценки и стратификации иммунологического риска. Понимание структуры независимых факторов риска потери ренального трансплантата необходимо для определения эффективных стратегий ведения пациентов высокого иммунологического риска после трансплантации для обеспечения максимальной продолжительности функционирования пересаженного органа [63, 136].

Имеется множество факторов которые могут влиять на иммунный статус реципиента почки, но только количество несоответствий человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) сейчас признано несомненным фактором риска, а относительная важность других факторов часто остается неопределенной. Антитела к лейкоцитарным антигенам человека формируются при помощи воздействия чужеродных молекул HLA, таких, как продукты крови, чужеродные ткани и органы во время трансплантации, беременность, роды и др [38, 177].

В результате проведенных нами исследований получены данные, которые представляются значимыми для оптимизации ИСТ у больных с ХБП 5 стадии нуждающихся в трансплантации почки. Объектом исследования являлись 100 больных с ХБП5 стадии, которые были распределены на 3 группы в зависимости от степени иммунологического риска острого отторжения до трансплантации почки. Степень иммунологического риска оценивалась по совместимости HLA-антигенами количеству предшествующих антител PRA. Так, совместимость по 1 классу HLA - A* локусу составляла 35,0%, а по HLA-V* локусу - 75,0%. Совместимость по 2 классу HLA по DR* локусу процент совместимости составлял 13,0% по DP* локусу 58,0% и по DQ* локусу 29,0%.

Распределение больных с ХБП 5 стадии по группам риска острого отторжения в зависимости от процента PRA антител показал, что PRA=0%-

имелось у 35 больных, что составило 35,0%, с PRA>0%-30% составило 33(33,0%), а с PRA>30%-80%-32(32,0%).

Далее нами проведен ретроспективный и проспективный анализ историй болезней и диализных карт больных с ХБП 5 стадии, находившихся на заместительной почечной терапии. Проведен анализ и оценка некоторых факторов, влияющих непосредственно на иммунный статус у больных с ХБП 5 стадии: ГД (количество, качество, сосудистые доступы, объем перфузии крови за сеанс и фактическая доза ГД и др.); тяжесть анемии Брайта и ее коррекция (степень тяжести анемии, доза эритропоэтина и количество его приемов, количество доноров по компонентам крови (эритромаcсы и плазмы)); количество родов и перенесённых беременностей женщин с ХБП 5 стадии; оценка питания больных с ХБП 5 стадии на диализе. Анализ по такому критерию, как количество сеансов ГД, показал, что из 100% больных только 25,0% больных получали по 3 сеанса ГД в неделю, а 25,0% – по 2 сеанса ГД и 50,0% – по 1 сеансу в неделю. Таким образом, проведенный анализ по количеству сеансов ГД показал, что большая часть больных (75,0%) получали 1-2 сеансов гемодиализа в неделю.

Поэтому первой особенностью в нашем исследовании у жителей Республики Таджикистан, страдающих ХБП 5 стадии является то, что проведение 3-х сеансов гемодиализа недоступно большинству больным нашей республики виду его доступности и недостаточной обеспеченностью в нашей республике диализными центрами, отсутствия финансирования диализных служб, социально-экономическим статусом самих больных, а также приказа № 600 МЗ и СЗН РТ о сооплате за оказание медицинских услуг.

Второй особенностью является неадекватный объем перфузии крови за сеанс. При оценке качества объема перфузии крови у больных с ХБП 5 стадии за сеанс показано, что из 100% больных только у 21,0% объем перфузии крови за сеанс составлял 70 - 80 л, у 61% – 60-70л, у 25%–50-60л крови за сеанс. Анализ по качеству объема перфузии крови у больных с ХБП 5 стадии показал что у 86,0% больных объем перфузии несоответствовал критериям нормы,

ввиду того, что большей части больным использовался артерио-венозный, вено-венозный доступ для проведения сеансов гемодиализа из-за доступности и меньшей экономической затраты на них.

Третьей особенностью является фактическая доза ГД. При анализе фактической дозы ГД для оценки качества гемодиализа у больных с ХБП 5 стадии было показано, что адекватную дозу ГД из 100% больных получали только 17,0% больных, у остальных 81,0% больных сеанс ГД был неадекватным, из них 57% при $spKt/V \geq 1,2$ или $eKt/V \geq 1,0$, и 24,0% с $spKt/V \geq 1,0$ или $eKt/V \geq 0,8$.

Учитывая критерий фактической дозы ГД на него влияют две особенности в нашей стране о которой мы говорили выше, и несомненно снижение адекватности диализа виду, несоответствия качества диализа и устаревших аппаратов гемодиализа и систем водоочистки и особенностях менталитета и социального статуса предопределяют ряд факторов которые несомненно влияют и на исход трансплантации ренального трансплантата в будущем, виду неадекватности и низкого качества ГД и уремии, которая обуславливает вторичные иммунологические нарушения.

Известно, что у больных с ХБП 5 стадии развивается уремическая анемия, или анемия Брайта. Хотя данное патологическое состояние многофакторное, одним из звеньев его патогенеза является уремический эндотоксикоз. Важной особенностью лечения больных с ХБП 5 стадии является именно коррекция анемии, при этом правильная тактика лечения наряду с преемственной работой врача-нефролога и трансплантолога являются самым важным и ответственным звеном в предоперационной подготовке больных, так как качественная предоперационная подготовка больных до трансплантации почки определяет во многом и исход самой трансплантации [31, 79].

При проведенном анализе наших больных на зависимость тяжести анемии Брайта и ее коррекции у больных с ХБП 5 стадии по группам на гемодиализе выявлены следующие факторы predisposing появлению

сенсibilизации до трансплантации почки. Так, при анализе группы больных по степени тяжести анемии Брайта по гемоглобину в крови было выявлено, что из 100% больных у 39,0% анемия была легкой степени, у 32,0% больных анемия была средней степени и у 29,0% - тяжелой степени. При этом по оценке групп риска по дозе эритропоэтина видно, что соответствующие нормам дозы принимали только лишь 19,0% больных, а у остальных 81,0% доза была не соответствующей, из них 53,0% получали 4000МЕ и 28,0% получали 2000МЕ. При анализе по количеству доноров по эритроmasсе и плазме на ГД было установлено, что более 10 доноров было у 24,0% больных из 100%, 37% было у 4-7 доноров и у 64,1% больных было 1-4 доноров по эритроmasсе и плазме.

Таким образом, коррекция анемии на этапе подготовки к трансплантации также является важным фактором, предрасполагающий к сенсibilизации наших больных, которая не соответствует критериальным нормам по названным выше причинам. Несомненно, важным фактором иммунологических нарушений до трансплантации почки также является количество перенесённых беременностей и родов у женщин с ХБП 5 стадии находящихся на гемодиализе. Нами изучено количество родов и перенесённых беременностей женщин с ХБП 5 стадии. при анализе риска больных женщин с ХБП 5 стадии по группам на гемодиализе по количеству родов в анамнезе было установлено, что у 15,9% женщин в трех группах было более 5 родов, при этом у 54,5% в трех группах количество родов составило от 3 до 4 и у 29,5% оно составило 1-2 родов. При оценке количества перенесённых беременностей из 100% больных у 15,9% больных в анамнезе было более 8 беременностей, у 59,1% больных количество беременностей составило от 4 до 7 и у 27,3% количество беременностей в анамнезе составило 1-3. Нами установлено, что большинство женщин исследуемых групп имели факторы, предрасполагающие к сенсibilизации, которая непосредственно будет сказываться на дальнейших результатах трансплантации почки, а также выборе протокола десенсibilизации и поддерживающей иммуносупрессии.

Оценка нутритивного статуса у больных с ХБП 5 стадии показало, что благоприятный статус по питанию на гемодиализной терапии в трех группах имели лишь 15,0% пациентов, средневыраженная недостаточность питания отмечена в 69,0% случаях, а тяжелая недостаточность у 16,0% больных. При этом анализ 1 группы выявил благоприятный статус по питанию у 17,1% больных, умеренно-средневыраженную недостаточность питания у 74,3%, а выраженную недостаточность - 8,6%. Таким образом у пациентов на ГД терапии средневыраженная недостаточность питания отмечена в 69% случаев, что непосредственно приводит к синдрому воспалительного состояния тесно связанная с недоеданием, анорексией и белковой недостаточностью, которая, в свою очередь, коррелирует с анемией и будет коррегироваться переливанием компонентов крови, что в дальнейшем будет сказываться на появление сенсibilизации до трансплантации почки.

Дисфункция иммунной системы индуцируемая в уремической среде, как негативное нарушение, и, как потенциальная причина преждевременной смерти при ХБП 5 стадии, не всегда изучалась. Следует отметить, что дисфункция иммунного статуса при уремии связана с изменениями в двух основных её ветвях-врожденной и адаптивной системе иммунитета. С одной стороны, гиперцитокинемия является типичной особенностью при уремии, вероятно из-за накопления провоспалительных цитокинов вследствие снижения почечной элиминации и повышенной генерации уремических токсинов после индукции их окислительным стрессом и сопутствующими заболеваниями. С другой стороны, уремия связана с иммуносупрессией из-за воздействия уремической среды на иммунокомпетентные клетки [123, 167].

Оценка иммунологического статуса у 3-х групп, которые были распределены нами в зависимости от степени иммунологического риска реакции острого отторжения до трансплантации почки показало, что при анализе по субпопуляциям циркулирующих лимфоцитов у 100% больных с ХБП 5 стадии до трансплантации почки по сравнению со здоровыми, наблюдается выраженное снижение по всем субпопуляциям циркулирующих

лимфоцитов. Можно заключить, что у пациентов наблюдается более выраженное вторичное иммунодефицитное состояние, связанное с глубоким подавлением гомеостатического поддержания уровня Т- и В- лимфоцитов на периферии, а в целом выявленный цитокиновый спектр свидетельствует о явной активации провоспалительных механизмов у пациентов.

Существует много доказательств в оптимальной иммуносупрессии в первый год, только немногочисленные проспективные данные из нескольких крупных рандомизированных исследований предоставляют некоторые доказательства для поддерживающего периода, который был бы важен при длительной иммуносупрессии [89]. Многие центры продолжают тройную поддерживающую терапию, другие нацелены на двойную иммуносупрессивную стратегию, а некоторые пациенты из группы низкого риска даже получают монотерапию.

Недавние успехи в лечении отторжения почек после трансплантации, включая разработку новых иммунодепрессантов, привели к значительному улучшению краткосрочных результатов. Тем не менее, реципиенты и клиницисты, которым приходится полагаться на препараты с ограниченным терапевтическим окном, попадают в выбор между отторжением и побочными эффектами самих препаратов, таких как инфекция, токсичность и лимфопролиферативные заболевания. Чувствительность индивидуумов к иммунодепрессантам требует необходимости в анализах, которые могут непосредственно оценивать иммунный ответ и предоставлять больше информации об иммунологическом статусе реципиента [46].

В зависимости от степени иммунологического риска и особенностей иммунного статуса до трансплантации почки больным с ХБП 5 стадией была конкретизирована схема иммуносупрессии до трансплантации почки. С целью проведения сравнения мы разделили 1 группу реципиентов почек на две подгруппы 1a и 1b в зависимости от протокола иммуносупрессии.

При анализе иммунного статуса было выявлено, что наблюдается значительные изменения в субпопуляции циркулирующих лейкоцитов в

зависимости от протокола иммуносупрессии. У больных 1b подгруппы наблюдается повышение следующих субпопуляций лейкоцитов, таких как CD2x109/л - 50,0%, CD3x109/л - 25,0%, CD4x109/л - 25,0%, CD8 x109/л -60,0%, CD19x109/л-24,5%, и CD25 x109/л -10%, по сравнению с подгруппой 1a ($p<0,001$), что говорит об чрезмерности иммуносупрессии приводящей к депрессии Т и В клеточного звена.

При межгрупповом анализе фагоцитарного звена иммунитета и иммуноглобулинов у больных 1a и 1b подгрупп не наблюдаются статистически значимые изменения по уровню ЦИК 4% - 0,64%, ЦИК 6% - 0,7% ($P>0,001$). Анализ по показателям фагоцитоза, фагоцитарному числу и НСТ-тесту и, НСТ стим %, в подгруппе 1b по сравнению с подгруппой 1a также не выявил статистически значимых изменений, при этом имелось незначительное снижение уровней иммуноглобулинов IgA-2,76%, IgG-7,47% IgM-2,5%, - в подгруппе 1b по отношению к подгруппе 1a ($p>0,001$). При этом у обеих подгрупп имелись статистические значимые изменения по отношению к контрольной в сторону как депрессии, так и увелечения по ряду показателей.

При анализе подгрупп по уровню цитокинов между подгруппами 1a и 1b, статистически значимых изменений также не было выявлено.

В посттрансплантационном периоде после трансплантации почки в обеих подгруппах с одинаковой частотой встречалась отсроченная функция трансплантата, так в 1a подгруппе частота составила 1(7,69%) и в 1b 1(8,33%) ($p>0,05$)

В посттрансплантационном периоде после трансплантации почки в обеих группах с одинаковой частотой встречалась, отсроченная функция трансплантата так в 1a подгруппе частота составила 1 (7.69%) и в 1b – 1 (8.33%) $p>0,001$. Развитие криза острого отторжения также встречалось с одинаковой частотой 1 (7.69%) в 1a и 1 (8.33%) в1b подгруппах. Потеря трансплантата, вследствие криза отторжения в обеих группах небыло. Однако при анализе в группах 1a и 1b по количеству осложнений, так в1a группе оно составило 30% против 10% в 1b. Что говорит нам о том, что примененная

оптимизированная схема иммуносупрессии позволила снизить количество инфекционных осложнений на 20%.

При анализе кумулятивной доли выживаемости реципиентов в подгруппах 1a и 1b было выявлено, что в 1 год после трансплантации почки выживаемость в 1a подгруппе пациентов составила 90,2% против 96,0% ($p < 0,05$). 3-х летняя кумулятивная выживаемость в группе 1a составила 84%, а в группе 1b - 91%. 5 летняя кумулятивная выживаемость в подгруппе 1a составила 69%, а в подгруппе 1b - 91% ($p < 0,05$).

Далее нами была изучена особенность иммунного статуса в 2 группе, и в зависимости от протокола иммуносупрессии мы также ее разделили на две подгруппы 2a и 2b. При межгрупповом анализе по разнице по субпопуляциям циркулирующих лейкоцитов у больных 2a и 2b подгруппах, имелись статистически значимые изменения по субпопуляциям лейкоцитов: $CD_{28} \times 10^9/л$ были увеличены на 33,3%, $CD_3 \times 10^9/л$ - 28,5%, $CD_4 \times 10^9/л$ - 28,3%, $CD_8 \times 10^9/л$ - 13,3%, $CD_{19} \times 10^9/л$ - 35,4%, $CD_{25} \times 10^9/л$ - 35% по сравнению с подгруппой 2a ($p < 0,001$), что говорит о присутствии чрезмерной иммуносупрессии в подгруппе 2a по сравнению с подгруппой 2b, что в последующем будет сказываться на появление инфекции и связанных с ней осложнений в виду чрезмерного снижения иммунитета. При межгрупповом анализе фагоцитарного звена иммунитета и иммуноглобулинов у больных в 2a и 2b подгруппах не наблюдаются статистически значимых изменений по уровню ЦИК 4%, ЦИК 6%, Фагоцитозу,%, Фаг.числу,шт, НСТ, %, НСТ стим.,%, при этом были несколько повышены уровни иммуноглобулина IgA-20,5% ($3,1 \pm 0,16$ против $2,5 \pm 0,06$ в подгруппе 2a), IgG-12% ($8,9 \pm 3,5$ против $8,0 \pm 3,2$ в подгруппе 2a), Ig M- 15% ($2,1 \pm 2,5$ против $1,9 \pm 2,4$ в подгруппе 2a. Анализ цитокинов в подгруппах 2a и 2b выявил значимые различия по уровню ИЛ - 1 - 18,5% ($254,4 \pm 7,3$ против $300,1 \pm 9,3$ ($p < 0,001$)), ИЛ - 2 - 20,3 % ($80,7 \pm 16,2$ против $97,08 \pm 17,4$ $p < 0,01$) ИЛ - 4 - 32,6% ($0,95 \pm 0,09$ против $1,26 \pm 0,12$ $p < 0,001$) в сторону увеличения последних в подгруппе 2b и со снижением TNF-a- 33,1% по сравнению с подгруппой 2a.

Кумулятивная доля выживаемости реципиентов на фоне оптимизированного протокола иммуносупрессии в подгруппах 2a и 2b в 1 год после трансплантации почки составила 89,2% против 95,0%, $p=0,210$.

После 3 лет трансплантации почки кумулятивная выживаемость в подгруппе 2a составила 80%, а в подгруппе 2b - 94% ($p<0,05$) После 5 лет трансплантации почки кумулятивная выживаемость реципиентов 2a составила 67%, а в группе 2b - 88% ($p<0,05$). Со стороны осложнений виде отсроченной функции трансплантата 2a наблюдалась в 2(13.33%), а 2b 1(5.88%) $P>0,001$, криз острого отторжения в 2a происходил в 2(13.33%), а в подгруппе 2b в 2(11.76%). Потери трансплантата также небыло.

Далее нами проведено сравнение результатов 3 группы иммунологического риска с результатами в подгруппах 1a, 1b. При анализе осложнений в подгруппах 1a, 1b наблюдалась отсроченная функция трансплантата в 5 (33.3%), против 2 (11.76%) в 3 группе, при этом криз острого отторжения 2 (13.33%) против (11.76%) $P<0,001$ происходил с одинаковой частотой. При исследовании реципиентов на фоне различных протоколов иммуносупрессии, частота встречаемости кризов острого отторжения встречалась с одинаковой долей во всех исследуемых подгруппах.

Кумулятивная доля выживаемости реципиентов на фоне оптимизированного протокола иммуносупрессии в подгруппах 1a и 2a с 3 группой в 1 год после трансплантации почки составила 89,2% против 95,0% ($p<0,01$). При этом, 3-летняя кумулятивная выживаемость в подгруппе 1a составила 84%, в подгруппе 2a - 80%, а в 3 группе - 97%, 5-летняя кумулятивная выживаемость в подгруппе 1a составила 69%, в подгруппе 2a - 67%, а в 3 группе- 93% ($p<0,01$).

При исследовании типа острого отторжения было выявлено, что смешанный тип острого отторжения встречался в 8 случаев, гуморальный тип острого отторжения встречался в 4 случаев, а клеточный тип острого отторжения встречался в 5 случаев. При этом в анализе иммунного статуса по субпопуляциям циркулирующих лимфоцитов, фагоцитарного звена, уровней

IgA, IgM, IgG, ЦИК, и состава цитокинов были выявлены характерные изменения для каждого типа острого отторжения которые коррелировали с гистологической картиной при биопсии трансплантата. На основании проведенного исследования нами совершенствован диагностико-лечебный алгоритм. Также нами на основании выявленных особенностей в иммунном статусе проведена селективная терапия кризов острого отторжения в зависимости от выявленного нами его типа на иммунограмме в качестве сравнения нами сравнивалась группа в которой в независимости от типа отторжения применялась терапия Тимоглобулином. Примененная селективная антикризовая терапия показала следующие результаты: утрата трансплантата, вследствие криза отторжения ненаблюдалось не в одной из групп. Хотя спектр осложнений, а именно инфекционных преобладал в группе Тимоглобулина 69,0% против 13,3% Ритуксимаб и 2,0% Симулект. Смерти реципиентов от инфекционных осложнений преобладали в группе Тимоглобулина, что составляло 20,0%.

Таким образом, примененная селективная нами терапия кризов острого отторжения помогает выявить тип острого отторжения и применить соответствующую терапию криза острого отторжения еще до выявления гистологической картины при биопсии почки, что в свою очередь позволяет снизить риск утраты трансплантата и риск смерти пациентов. Прибегая к селективной терапии криза острого отторжения в зависимости от его типа позволяет применять препараты с селективным действием на иммунную систему, что также снижает риск инфекционных осложнений после трансплантации почки.

Такой фактор, как время холодовой ишемии является хорошо документированным фактором риска потери трансплантата после трансплантации почки, поскольку каждый дополнительный час холодовой ишемии увеличивает риск отторжения трансплантата. Было подсчитано, что 30 часов гипотермического консервирования увеличивает потерю трансплантата на 40% по сравнению с шестью часами [97].

Влияние увеличенного времени холодовой ишемии возникает из-за ишемическо-реперфузионного повреждения и большего риска замедленной функции трансплантата (ЗФТ), а не из-за усиленного иммунологического ответа реципиента. Поскольку ЗФТ является установленным фактором острого отторжения, длительное время холодовой ишемии может косвенно повлиять на риск его возникновения [100, 116, 117].

У реципиентов получающих почку от живых доноров, холодовая ишемия больше 8 часов также влияет на процент ЗФТ [103]. С точки зрения оценки иммунологического отторжения, ЗФТ оказывается более значимым фактором риска острого отторжения.

Нами разработан способ оценки донорской почки на этапе имплантации реципиенту, который позволил выявить маркеры ишемическо-реперфузионного синдрома на этапе имплантации почки реципиенту от живого родственного донора. При этом нами установлено что важным маркером отсроченной функции почечного трансплантата в результате острого криза отторжения для ранней интраоперационной диагностики можно считать концентрацию IL-6 в венозной крови из гонадной вены почечного трансплантата и потребление кислорода почечной тканью реперфузированной почки в венозной крови, также полученной из гонадной вены почечного трансплантата. Нами изучены артериальные и венозные почечные концентрации IL-6 в плазме крови после реперфузии трансплантата. Цитокиновый ответ после реперфузии определялся местным высвобождением IL-6. Уровни IL-6 были значительно повышены в крови из почечной вены ($p < 0,001$), достигая пика сразу после реперфузии. Высвобождение IL-6 было специфическим для ИРП, поскольку контрольные измерения вне ишемической почки у донора не показали разницы в уровнях IL-6. Анализ концентрации IL-6 по ОАК и почечной вене реперфузированного трансплантата с отсроченной функцией показал, что с увеличением времени после реперфузии растет концентрация IL-6 в крови от почечной вены трансплантата и концу 30 минуты после реперфузии достигает концентрации

41,2±0,5 нг\л. При этом артерио-венозная разница сокращается и составляет 128 % ($p<0,001$), что было значимо статистически.

Так, исследование по концентрации IL-6 на 30 секунде после реперфузии в А\крови концентрация составляла 2,02±0,1 нг\л, а венозной - 15,4±0,4 нг\л при разнице А-В 600% ($p<0,001$). Исследование по концентрации IL-6 на 1 минуте после реперфузии показало, что концентрация в А\крови концентрация составляла 3,5±0,1 нг\л, а венозной - 19,6±0,3 нг\л, при этом А\В разница составила 400% ($p<0,001$). На 3 минуте концентрация А\кровь составляла 4,2±0,11 нг\л, а венозной - 18,2±0,3 нг\л, при этом А\В разница составила 335 % ($p<0,001$). На 5 минуте концентрация А\ крови составляла 6,1±0,12 нг\л, а венозной - 18,9±0,3 нг\л, при этом А\В разница составила 350% ($p<0,001$). На 10 минуте концентрация А\крови составляла 7,5±0,15 нг\л, а венозной - 27,5±0,4 нг\л, при этом А\В разница составила 265% ($p<0,001$). На 20 минуте концентрация А\крови составляла 10,0±0,2 нг\л, а венозной - 35,0±0,45 нг\л, при этом А\В разница составила 250% ($p<0,001$).

Известно, что кислород почка расходует вдвое больше чем другая ткань для реабсорбции натрия. При ишемическо-реперфузионном синдроме, когда почка неспособна усваивать кислород вследствие нарушения реабсорбции натрия из крови и перехода с анаэробного метаболизма в аэробный, следовательно разница по концентрации кислорода в артериальной и венозной крови должно оставаться минимальным, что говорит о нарушении процесса аэробного пути метаболизма.

Наши данные показывают, что потребление кислорода почечной тканью реперфузированной почки при ишемическо-реперфузионном синдроме начиная с 1 минуты реперфузии до 30 минут менялись незначительно и составляли в среднем по артерио-венозной разнице - 5, 23%.

Таким образом, важным маркером отсроченной функции почечного трансплантата для ранней интраоперационной диагностики можно считать потребление кислорода почечной тканью реперфузированной почки, полученной из венозной крови гонадной вены почечного трансплантата.

Результаты проведённого нами исследования убедительно доказали, что оптимизированная ИСТ в зависимости от степени иммунологического риска поддинамическим контролем показателей системы иммунитета, позволяет улучшить результаты трансплантации почки. Внедрённые изменения позволили поновому решать многие проблемы совершенствования оказания помощи больным с ХБП 5стадии, что имеет не только медицинские, но и социальные аспекты.

ВЫВОДЫ

1. Факторами и особенностями нарушения иммунного статуса у жителей Республики Таджикистан, страдающих ХБП 5 стадии, являются качество и количество гемодиализа, неправильная коррекция анемии на гемодиализной терапии, нарушенный нутритивный статус, большое количество родов и беременностей в анамнезе.
2. У пациентов с ХБП 5 стадии с нарушенной иммунорегуляцией при уремии приводит к активации воспаления при помощи врожденного иммунитета, синтеза цитокинов и снижению поддержания уровня гомеостатических механизмов лимфоцитов и цитокинов в крови, снижение уровней Т и В лимфоцитов, что, в свою очередь, меняет фагоцитарную активность.
3. Усовершенствованный диагностико-лечебный алгоритм для оптимизации коррекции ИСТ на основании изменений иммунного статуса больных до- и после трансплантации почки позволил сократить частоту осложнений и летальность после трансплантации почки.
4. Примененная нами селективная терапия кризов отторжения помогает выявить тип острого отторжения и применить соответствующую терапию криза острого отторжения еще до выявления гистологической картины при биопсии почки, что, в свою очередь, позволяет снизить риск утраты трансплантата и риск смерти пациентов. Селективная терапии криза острого отторжения в зависимости от его типа позволяет применять препараты с селективным действием на иммунную систему, что также снижает риск инфекционных осложнений после трансплантации почки от 20-30% .
5. Разработанный хирургический способ оценки почечного трансплантата на этапе имплантации реципиенту от живого донора позволяет выявить причину замедленной и отсроченной функции почечного трансплантата и прибегнуть к немедленной терапии и корректировки протокола иммуносупрессии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. К факторам риска развития осложнений после трансплантации почки, таким, как инфекционные осложнения, криз острого отторжения трансплантата необходимо отнести женщин, имеющих в анамнезе от 3-4 и более беременностей и родов, качество и количество гемодиализа, переливание компонентов крови, нутритивный статус, которых необходимо рассматривать как группы среднего и высокого иммунологического риска.

2. Для стратификации риска острого отторжения мы рекомендуем использовать усовершенствованный нами диагностико-лечебный алгоритм, который должен быть включен в протокол обязательного обследования для выявления групп, подверженных острому отторжению до и после трансплантации почек с целью применения селективной иммуносупрессивной терапии.

3. Снижение фагоцитарной активности иммунитета необходимо рассматривать как фактор, который предрасполагает к инфекционным осложнениям после трансплантации почки.

4. Пациенты с низким иммунологическим риском должны получать двухкомпонентную основную иммуносупрессивную терапию вместо трех или четырех компонентной терапии.

5. Для предотвращения острого отторжения у пациентов в группе среднего и высокого риска целесообразно проводить десенсибилизирующее лечение с учетом параметров иммунограмм.

6. При кризе острого отторжения в зависимости от его типа на иммунограммах необходимо применять препараты с селективным действием на иммунную систему, что снижает риск инфекционных осложнений после трансплантации почки.

7. При отсроченной и замедленной функции почечного трансплантата для ранней интраоперационной диагностики ИРП можно считать потребление кислорода определенной на аппарате анализатора газов крови и КЩС по

венозной крови, полученной из гонадной вены почечного трансплантата и уровень интерлейкина 6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллоев, С.М. Клинико-эпидемиологические особенности и факторы риска развития хронической болезни почек в Республике Таджикистан / С.М. Абдуллоев, М.К. Гулов // Здравоохранение Таджикистана.-2019. -№ 2.- С. 5–13.
2. Алексеев, А.В. Современные биомаркеры острого повреждения почек / А.В. Алексеев, А.Ж. Гильманов, Р.С. Гатиятуллина, И.Г. Ракипов // Практическая медицина. – 2014. – № 3 (79). – С. 22-27.
3. Арзуманов, С.В. Трансплантология, Фармакотерапия без ошибок / С.В, Арзуманов, В.М. Захаревич, И.Г. Ким; Под ред. С.В. Готье, Я.Г. Мойсюк. — М.: E-noto, 2014. - С. 81-106.
4. Беркос, А.С. Механизм развития гуморального иммунного ответа на аллогенную трансплантацию органов / А.С. Беркос, Г.В. Николаев // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19, № 2. – С. 139-151.
5. Ватазин, А.В. Патогенетические механизмы развития ишемического и реперфузионного повреждения почки как перспективные мишени специфической терапии / А.В. Ватазин, И.В. Нестеренко, А.Б. Зулкарнаев [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 17, № 1. – С. 147-156.
6. Готье, С.В. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2017 году. X сообщение регистра Российского трансплантологического общества / С.В. Готье, С.М. Хомяков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20, № 2. – С.
7. Гулов, М.К. Эпидемиология, факторы риска и диагностика хронической почечной недостаточности / М.К. Гулов, Х.К. Рафиев, С.М. Абдуллоев // Вестник Авиценны. 2018. № 2–3 (20). С. 190–197.
8. Гулов, М.К. Причины дисфункции трансплантата почки и методы её коррекции / М.К. Гулов, Б.С. Пиров // Вестник Авиценны.- 2017. -№ 14 (19).-С. 532–536.
9. Дмитриева, Н.Г. Система гистосовместимости при трансплантации почки / Н.Г. Дмитриева, О.Н. Яковчик, А.В. Ватазин [и др.] // Альманах клинической

медицины. – 2014. - № 31. - С. 83-87.9. Дмитриева, Н.Г. Система гистосовместимости при трансплантации почки /

10. Зыблева, С.В. Иммунологические механизмы активации врожденной и адаптивной систем иммунитета при аллотрансплантации / С.В. Зыблева, С.Л. Зыблев // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 2. – С.11-23.

11. Колбин, А.С. Клинико-экономический анализ тимоглобулина для профилактики и лечения отторжения трансплантата при пересадке почки / А.С. Колбин, А.А. Курылёв, А.В. Прасолов // Качественная клиническая практика. - 2013. - № 1. - С. 15-26.

12. Коротков, С.В. CD4+ Т-клетки и их субпопуляции как прогностический маркер острого отторжения при трансплантации почки / С.В. Коротков, А.В. Носик, В.В. Смольникова [и др.] // Наука и инновации. – 2016. – Т. 8, № 162.

13. Мойсюк, Я.Г. Современные технологии и клинические исследования в трансплантации почки / Я.Г. Мойсюк, А.И. Сушков, А.В. Шаршаткин [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. - Т. 16, № 3. - С. 63-75.

14. Москалёв, А.В. Хемокины, их рецепторы и особенности развития иммунного ответа / А.В. Москалёв, А.С. Рудой, В.Я. Апчел // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2017. – № 2. – С. 182-187.

15. Столяревич, Е.С. Эволюция представлений о причинах поздней дисфункции трансплантированной почки / Е.С. Столяревич, Н.А. Томилина // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 17, № 2. – С. 113-115.

16. Столяревич, Е.С. Морфологические особенности позднего отторжения трансплантированной почки и их прогностическое значение / Е.С. Столяревич, Л.Ю. Артюхина, И.Г. Ким [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. - Т. 16, № 2. - С. 30-.

17. Столяревич, Е.С. Поздняя дисфункция трансплантированной почки: причины, морфологическая характеристика, подходы к профилактике и лечению / Е.С. Столяревич, Н.А. Томилина // Вестник трансплантологии и

искусственных органов. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 114-1.

18. Строков, А.Г. Лечение пациентов с хронической болезнью почек 5 стадии (ХБП 5) методами гемодиализа и гемодильтрации: клинические рекомендации / А.Г. Строков [и др.] // Нефрология. 2017. -№ 3,(21).- С. 92–111.

19. Строков, А.Г. Коррекция статуса питания у пациентов на программном гемодиализе: клинические рекомендации. Научное общество нефрологов России, Ассоциация нефрологов России / А.Г. Строков , К.Я. Гуревич , Е.М. Шилов . — М.: - 2014. — С. 14.

20. Томилина, Н.А. Заместительная терапия терминальной хронической почечной недостаточности в Российской федерации с 2010 – 2015 гг. / Н.А.Томилина, А.М. Андрусев, Н.Г. Перегудова [и др.] // Нефрология и диализ. –2017. – Т. 19, № 4 (приложение). – С.1-95.

21. Храброва, М.С. Прогноз выживаемости почечного трансплантата: иммунологический риск и тип отторжения / М.С. Храброва, В.А. Добронравов, А.В. Набоков [и др.] // Нефрология. – 2015. – Т. 19, № 4.

22. Хубутя, М. Ш. Прогностические факторы риска развития ранних дисфункций трансплантата после родственной пересадки почки / М.Ш. Хубутя, М.К. Гулов, С.С. Исмоилов [и др.] //Здравоохранение Таджикистана. – 2016. – № 4. – С. 51-59.

23. Acherukuri, A. Post-transplant donor specific antibody is associated with poor kidney transplant outcomes only when combined with both T-cell-mediated rejection and non-adherence /A. Acherukuri, [et al.] // Kidney international. 2019.- N 1 (96). - P.202–213.

24. Abramowicz, D. Recent advances in kidney transplantation: a viewpoint from the Descartes advisory board /D. Abramowicz [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation. 2018. -N 10 (33). -P.1699–1707.

25. Akgul, S. U. Association between hla antibodies and different sensitization events in renal transplant candidates / S. U. Akgul [et al.] // Transplantation Proceedings. 2017. N 3 (49).-P.425–429.

26. Andrade-Sierra, J. immunosuppressive minimization strategies in kidney

transplantation / J. Andrade-Sierra [et al.] //Organ Donation and Transplantation - Current Status and Future Challenges. 2018.-Vol 45.-P.325–429.

27. Angeletti, A. looking into the graft without a biopsy: biomarkers of acute rejection in renal transplantation /A. Angeletti, P. Cravedi //Contributions to Nephrology. 2017.- Vol 190. -P.181–193.

28. Ashoor, I. standardization and cross validation of alloreactive ifny elispot assays within the clinical trials in organ transplantation consortium / I. Ashoor [et al.]// American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2013. -N 7 (13).- P.1871–1879.

29. Atif, M. Regulatory T cells in solid organ transplantation / M. Atif [et al.] // Clinical & Translational Immunology.-2020.-N 2 (9).

30. Azarpira, N. Soluble CD30 in renal transplant recipients: is it a good biomarker to predict rejection?/ N. Azarpira, M. H. Aghdaie, Z. Malekpour // Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation. 2010. -N 1 (21).- P.31.

31. Babitt, J. L. Mechanisms of anemia in CKD / J. L. Babitt, H. Y. Lin // Journal of the American Society of Nephrology : JASN. -2012. -N 10 (23). -P.1631.

32. Barberis, M. Simulation of stimulation: cytokine dosage and cell cycle crosstalk driving timing-dependent t cell differentiation / M. Barberis, T. Helikar, P. Verbruggen // Frontiers in Physiology.- 2018.-P.879.

33. Baron, D. Reconsidering the detection of tolerance to individualize immunosuppression minimization and to improve long-term kidney graft outcomes / D. Baron, M. Giral, S. Brouard // Transplant International.- 2015. -N 8 (28). -P.938–959.

34. Behzadi, E. The role of toll-like receptors (TLRs) in urinary tract infections (UTIs) / E. Behzadi, P. Behzadi // Central European Journal of Urology. -2016.- N 4 (69). -P.404.

35. Berger, S. P. Low pretransplantation mannose-binding lectin levels predict superior patient and graft survival after simultaneous pancreas-kidney transplantation/ S. P. Berger [et al.] // Journal of the American Society of

Nephrology. -2007. -N 8 (18). -P.2416–2422.

36. Bhatti, A. B., Usman M. chronic renal transplant rejection and possible anti-proliferative drug targets / A. B. Bhatti, M. Usman // *Cureus*.- 2015. -N 11 (7).-P. 376

37. Bien, J. Role of uropathogenic escherichia coli virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage / J. Bien, O. Sokolova, P. Bozko // *International Journal of Nephrology*.- 2012.-Vol 2012. -P.15.

38. Bose, B. Transplantation antigens and histocompatibility matching / B. Bose, D. W. Johnson, S. B. Campbell // *Current Issues and Future Direction in Kidney Transplantation*. - 2013.-P.62–87.

39. Bouts, A. H. Immunoglobulins in chronic renal failure of childhood: Effects of dialysis modalities / A. H. Bouts [et al.] // *Kidney International*. -2000.-N 2 (58). -P.629–637.

40. Caccioppo A. Ischemia reperfusion injury: Mechanisms of damage/protection and novel strategies for cardiac recovery/regeneration / A. Caccioppo [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*.- 2019. -Vol 20.- N 20.

41. Cecka, J. M. HLA matching for renal transplantation: The last word? / J. M.Cecka [et al.] // *Transplantation*. -2016. -N 5 (100). -P.975–976.

42. Čejková, S. Monocyte adhesion to the endothelium is an initial stage of atherosclerosis development / S. Čejková, I. Králová-Lesná, R. Poledne // *Cor et Vasa*. -2016. -N 4 (58). P.419–425.

43. Chaplin, D. D. Overview of the immune response / D. D. Chaplin [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.- 2010. -N 2 SUPPL. 2 (125). -P.3-23.

44. Charles, A. Responses to alloantigens and transplant rejection / A Charles, Janeway J. [et al.] // *New York: Garland Science*.- 2001.-P.884

45. Cerskine, L. Determining optimal cytotoxic activity of human Her2neu specific CD8 T cells by comparing the Cr51 release assay to the xCELLigence system/ L. Cerskine [et al.] // *Journal of visualized experiments : JoVE*. -2012. -N 66. -P.1–6.

46. Claeys, E. Immunosuppressive drugs in organ transplantation to prevent allograft rejection: Mode of action and side effects / E. Claeys, K.Vermeire // *Journal of*

Immunological Sciences. -2019. N 4 -(3).-P. 2578-3009

47. Charlotte, M. M. Comprehensive phenotyping of t cells using flow cytometry / M. M. Charlotte [et al.] // Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology.- 2019. -N 6 (95).- -P.647–654.

48. Cohen, G. Immune dysfunction in uremia / Cohen, G. [et al.] // Toxins. 2020. VOL 12.- N 7.-P.439

49. Cohen, G. Immune dysfunction in Uremia-An update / G. Cohen, W. H. Hörl // Toxins. 2012. -VOL 4.- N 11.-P.962–990.

50. Colmont, C. S. Human peritoneal mesothelial cells respond to bacterial ligands through a specific subset of Toll-like receptors / C. S. Colmont [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation.- 2011. -N 12 (26).-P.4079–4090.

51. Corriere, M. Epidemiology of diabetes and diabetes complications in the elderly: An emerging public health burden / M. Corriere, N. Rooparinesingh, R. R. Kalyani // Current Diabetes Reports.- 2013.- N 6 (13). -P.805–813.

52. Coulliette, A. D. Hemodialysis and Water Quality / A. D. Coulliette, M. J. Arduino // Seminars in dialysis.- 2013. -N 4 (26). -P.427.

53. Cozzolino, M. Cardiovascular disease in dialysis patients / M. Cozzolino [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation.-2018.- Suppl 3 (33). -P.iii28–iii34.

54. Cravedi, P. Immunologic monitoring in transplantation revisited / P. Cravedi, P. S. Heeger // Current Opinion in Organ Transplantation. -2012.-N1 (17). -P.26.

55. Crespo, E. Post-transplant peripheral blood donor-specific IFN- γ ELISPOT assays differentiates risk of subclinical rejection and de novo donor-specific alloantibodies in kidney transplant recipients / E. Crespo [et al.] // Kidney international. -2017.- N 1 (92). -P.201.

56. Crespo, E. Biomarkers to assess donor-reactive T-cell responses in kidney transplant patients / E. Crespo, O. Bestard // Clinical Biochemistry.-2016. N 4–5 (49).-P.329–337.

57. Debout, A. Each additional hour of cold ischemia time significantly increases the risk of graft failure and mortality following renal transplantation / A. Debout [et al.] // Kidney International.- 2015.- N 2 (87). -P.343–349.

58. Dellepiane, S. T Cells and acute kidney injury: a two-way relationship / S. Dellepiane, J. S. Leventhal, P. Cravedi // *Frontiers in Immunology*.- 2020. -Vol 11.- P.1546.
59. Elena, C. Posttransplant peripheral blood donor-specific interferon- γ enzyme-linked immune spot assay differentiates risk of subclinical rejection and de novo donor-specific alloantibodies in kidney transplant recipients / Elena, C. [et al.] // *Kidney international*. -2017. -N 1 (92). -P.201–213.
60. Eikmans, M. Non-invasive Biomarkers of Acute Rejection in Kidney Transplantation: Novel Targets and Strategies / M. Eikmans [et al.] // *Frontiers in Medicine*. -2019.- N 1. -P.358.
61. Ejaz, N. S. Randomized controlled pilot study of B cell-targeted induction therapy in HLA sensitized kidney transplant recipients / N. S. Ejaz [et al.] // *American Journal of Transplantation*. 2013. -N 12 (13).- -P.3142–3154.
62. Ekramzadeh, M. Major barriers responsible for malnutrition in hemodialysis patients: Challenges to optimal nutrition / M. Ekramzadeh [et al.] // *Nephro-Urology Monthly*.- 2014. N 6 (6).- P.23158
63. Erdoğan, Ş. Immunologic risk assessment before kidney transplantation: An update / Ş. Erdoğan, Ş. Şengül // *Turkish Journal of Nephrology*.-2019.-N 3 (28).- P.216–224.
64. Espi, M. Chronic kidney disease-associated immune dysfunctions: Impact of protein-bound uremic retention solutes on immune cells / M. Espi [et al.] // *Toxins*. - 2020. -Vol 12.- N 5.
65. Francesco, L. Revised European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure / L. Francesco [et al.] // *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*.-2004.(19 Suppl 2).- P.ii1-47
66. Fox, S. Neutrophil apoptosis: relevance to the innate immune response and inflammatory disease / S. Fox [et al.] // *Journal of Innate Immunity*. -2010. -Vol 2. N 3.-P.216–227.
67. Gai, Z. Lipid accumulation and chronic kidney disease / Z. Gai [et al.] //

Nutrients. 2019. -Vol 11. -N 4.

68. Gandolfini, I. Impact of preformed T-cell alloreactivity by means of donor-specific and panel of reactive T cells (PRT) ELISPOT in kidney transplantation / I. Gandolfini [et al.] // PLOS ONE. -2018. -N 7 (13). -P.e0200696.

69. Gao, R. Elevated serum levels of soluble cd30 in ankylosing spondylitis patients and its association with disease severity-related parameters / R. Gao [et al.] // BioMed Research International. -2015. -P. 6

70. Garces, J. C. Antibody-mediated rejection: a review / J. C. Garces [et al.] // The Ochsner Journal.- 2017. -N 1 (17). -P.46.

71. Ghanta, M. Overview of immunosuppression in renal transplantation / M. Ghanta [et al.] // Current issues and future direction in kidney transplantation.- 2013.doi: 10.5772/54865

72. Girlanda, R. Complications of post-transplant immunosuppression / R. Girlanda [и др.] // Regenerative Medicine and Tissue Engineering. 2013.doi: 10.5772/55614

73. Gorantla, V. S. T Regulatory cells and transplantation tolerance / V. S. Gorantla [et al.] // Transplantation reviews (Orlando, Fla.).-2010.-N 3 (24)-P.147.

74. Granger, D. N., Leukocyte–endothelial cell adhesion / D. N. Granger, E.Senchenkova // San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences.- 2010.-P.854

75. Gabriela, V. Proteomic signatures in plasma during early acute renal allograft rejection / V. Gabriela [et al.] // Molecular & cellular proteomics : MCP. -2010. N 9 (9). -P.1954–1967.

76. Hadi, N. Development of an immune function assay by measuring intracellular adenosine triphosphate (iATP) levels in mitogen-stimulated CD4+ T lymphocytes / Hadi, N [et al.] // Journal of immunoassay & immunochemistry.-2016.-N 4 (37).- P.407–420.

77. Haas, M. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: Revised diagnostic criteria for chronic active T cell–mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials / M. Haas [et al.] // American Journal of Transplantation. -2018. -N 2 (18). -P.293.

78. Haileamlak, A. Chronic kidney disease is on the rise / A. Haileamlak // Ethiopian

- journal of health sciences. -2018.- Vol 28. N 6.- -P.681–682.
79. Hazin, M. A. Anemia in chronic kidney disease / M. A. Hazin // Revista da Associação Médica Brasileira.- 2020. -N 1 (66).- -P.s55–s58.
80. Himmelfarb, J. The current and future landscape of dialysis / J. Himmelfarb [et al.] // Nature Reviews Nephrology. -2020. -Vol 16. -N 10. -P.573–585.
81. Hoffman, W. Cells, antibodies, and more / W. Hoffman, F. G. Lakkis, G. B. Chalasani // Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN. -2016. -N 1 (11).-P.137.
82. Holanda, M. I. Soluble CD30, acute rejection, and graft survival: pre- and 6-month post-transplant determinations—when is the best time to measure? / M. I. Holanda [et al.] // Transplantation Proceedings. -2018. -N 3 (50). -P.728–736.
83. Hong S. H. Nutritional intervention process for a patient with kidney transplantation: a case report / S. H. Hong, E. M. Kim, M. Y. Rha // Clinical Nutrition Research.- 2019. -N 1 (8).-P.74.
84. Hori, S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3/ S. Hori, T. Nomura, S. Sakaguchi // Journal of Immunology. -2017. -N 3 (198). -P.981–985.
85. Hossain, M. Obesity and listing for renal transplantation: weighing the evidence for a growing problem /M. Hossain [et al.] // Clinical Kidney Journal.- 2017. -N 5 (10).-P.703.
86. Hu, M. Infiltrating Foxp3+ regulatory T cells from spontaneously tolerant kidney allografts demonstrate donor-specific tolerance /M. Hu [et al.] // American Journal of Transplantation. -2013. -N 11 (13).-P.2819–2830.
87. Hu, M. Regulatory T cells in kidney disease and transplantation / M. Hu [et al.] // Kidney International. -2016.- N 3 (90).-P.502–514.
88. Huang, Y. Expression of CD80 and CD86 on B cells during coxsackievirus B3-induced acute myocarditis / Y. Huang [et al.] // Central European Journal of Immunology. -2019.- N 4 (44).-P.364–369.
89. Jamal, B. The need for minimization strategies: current problems of immunosuppression / Jamal, B. [et al.] // Transplant international : official journal of

- the European Society for Organ Transplantation. -2015.- N 8 (28).- P.891–900.
90. Jath, N. Effect of cold ischaemia time on outcome after living donor renal transplantation / N. Jath [et al.] // *The British journal of surgery*.- 2016.- N 9 (103).- P.1230–1236.
91. Jadeja, Y. Protein energy wasting in chronic kidney disease: An update with focus on nutritional interventions to improve outcomes / Y. Jadeja, V. Kher // *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*.- 2012. -N 2 (16).-P.246.
92. Jae, S. Y. Relation of c-reactive protein, fibrinogen, and cardiorespiratory fitness to risk of systemic hypertension in men / S. Y. Jae [et al.] // *American Journal of Cardiology*. -2015.-N 12 (115).- P.1714–1719.
93. James, E. C. Evaluation and treatment of acute rejection in kidney allografts / E. C. James [et al.] // *CJASN*.- 2020.-N 3 (15).-P.430–438.
94. Jie-Hua, C. Role of advanced glycation end products in mobility and considerations in possible dietary and nutritional intervention strategies / Jie-Hua, C [et al.] // *Nutrition & metabolism*. -2018.- N1(15).-P.129
95. Joelsons, G. Non-invasive messenger RNA transcriptional evaluation in human kidneyallograft dysfunction / G. Joelsons, [et al.] // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*.- 2018. -N 7 (51).-P.6904.
96. JW, F. The impact of age on rejection in kidney transplantation / F. JW [et al.] // *Drugs & aging*.-2005.-N 5 (22).-P.433–449.
97. Kakaiya, R. M. Prevalence of HLA antibodies in remotely transfused or alloexposed volunteer blood donors / R. M. Kakaiya [et al.] // *Transfusion*.- 2010. N 6 (50).-P.1328–1334.
98. Kalantar-Zadeh, K. Inflammation and nutrition in renal insufficiency / Kalantar-Zadeh, K. [et al.] // *Saunders*- 2003.P.-155–169.
99. Kalluri, H. V. Current state of renal transplant immunosuppression: Present and future / H. V. Kalluri, K. L. Hardinger // *World Journal of Transplantation*.- 2012.-N 4 (2).-P.51.
100. Karahan, G. E. High soluble CD30 levels and associated anti-HLA antibodies in patients with failed renal allografts / G. E. Karahan [et al.] // *International Journal of*

Artificial Organs. -2016. -N 11 (39).- P.547–552.

101. Kartan, S. The spectrum of CD30+ T cell lymphoproliferative disorders in the skin / S. Kartan [et al.] // Chinese Clinical Oncology.-2019.-N 1 (8).-P.3–3.

102. Kato, S. Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease / Kato S. [et al.] // Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN.-2008. N 5 (3).-P.1526–33.

103. Kiechl, S. Toll-like Receptor 4 Polymorphisms and Atherogenesis/ Kiechl, S. [et al.] // NEJM.- 2009.- N 3 (347).- P.185–192.

104. Kim, J. U. Dendritic cell dysfunction in patients with end-stage renal disease / J. U. Kim [et al.] // Immune Network.- 2017. N 3 (17).-P.152–162.

105. Konvalinka, A. Utility of hla antibody testing in kidney transplantation / A. Konvalinka, K. Tinckam // Journal of the American Society of Nephrology : JASN. - 2015. N 7 (26).-P.1489.

106. Kowalski, R. J. Assessing relative risks of infection and rejection: A meta-analysis using an immune function assay / R. J. Kowalski [et al.] // Transplantation.- 2006.- N 5 (82).- -P.663–668.

107. Kueht, M. Intra-operative kinetics of anti-HLA antibody in simultaneous liver-kidney transplantation / Kueht M. [et al.] // Molecular Genetics and Metabolism Reports.- 2021.-Vol 26.- P.100705.

108. Lachmann, N. Luminex® and its applications for solid organ transplantation, hematopoietic stem cell transplantation, and transfusion / N. Lachmann [et al.] // Transfusion Medicine and Hemotherapy.-2013.-N 3 (40).-P.182.

109. Lebranchu, Y. Pretransplant identification of acute rejection risk following kidney transplantation / Y. Lebranchu [et al.] // Transplant International. 2014.- N 2 (27).- P.129–138.

110. Lee, H. Macrophage polarization in innate immune responses contributing to pathogenesis of chronic kidney disease / H. Lee [et al.] // BMC Nephrology.- 2020. N 1 (21).-P.1–13.

111. Li, X. Recent advances in renal interstitial fibrosis and tubular atrophy after kidney transplantation / X. Li, S. Zhuang // Fibrogenesis and Tissue Repair.- 2014. –

Vol 7.- N 1.- -P.15.

112. Lisowska, K. A. The influence of a single hemodialysis procedure on human T lymphocytes / K. A. Lisowska [et al.] // *Scientific Reports*.-2019.-N 1 (9).-P.1–9.

113. Lo, D. J. Biomarkers for kidney transplant rejection / D. J. Lo, B. Kaplan, A. D. Kirk / D. J. Lo, B. Kaplan, A. D. Kirk // *Nature Reviews Nephrology*.- 2014.-N 4 (10).-P.215–225.

114. Lúcia, M. Preformed circulating HLA-specific memory B cells predict high risk of humoral rejection in kidney transplantation / M. Lúcia [et al.] // *Kidney International*.- 2015.- N 4 (88).-P.874–887.

115. Luque, S. Refinement of humoral immune monitoring in kidney transplantation: the role of “hidden” alloreactive memory B cells / S. Luque, M. Lúcia, O. Bestard // *Transplant International*.- 2017.- N 10 (30).-P.955–968.

116. Maguire, O. Flow Cytometry and Solid Organ Transplantation: A Perfect Match / Maguire O. [et al.] // *Immunological investigations*.- 2014. -N 8 (43).-P.756.

117. Malvezzi, P. Induction by anti-thymocyte globulins in kidney transplantation: a review of the literature and current usage / P. Malvezzi, T. Jouve, L. Rostaing // *Journal of Nephropathology*. -2015.- N 4 (4).-P.110.

118. Marino, J. Allorecognition by t lymphocytes and allograft rejection / J. Marino, J. Paster, G. Benichou // *Frontiers in Immunology*.- 2016. N12.-P.582.

119. Mas, V.R. Identifying biomarkers as diagnostic tools in kidney transplantation / V. R. Mas [et al.] // *Expert review of molecular diagnostics*.- 2011.- N 2 (11).-P.183.

120. Mehrotra, A. Monitoring T Cell Alloreactivity / A. Mehrotra, J. Leventhal, P. Cravedi // *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)*.- 2015.- N 2 (29).-P.53.

121. Mehrotra, S. Donor specific anti HLA sensitization is associated with inferior short term outcome in ABO- incompatible renal transplantation / S. Mehrotra [et al.] // *Transplantation Reports*. -2020.- N 3 (5).-P.100059.

122. Meneghini, M. Donor/Recipient HLA molecular mismatch scores predict primary humoral and cellular alloimmunity in kidney transplantation / M. Meneghini [et al.] // *Frontiers in Immunology*.- 2021.-P.3947.

123. Mihai, S. Inflammation-related mechanisms in chronic kidney disease

prediction, progression, and outcome / Mihai S. [et al.] // *Journal of Immunology Research*.- 2018.-P.16.

124. Mirzakhani, M. Soluble CD30, the immune response, and acute rejection in human kidney transplantation: a systematic review and meta-analysis / M. Mirzakhani [et al.] // *Frontiers in Immunology*. -2020. (11).-P.295.

125. Mjoen, G. HLA Mismatch and allograft survival / G. Mjoen, A. V. Reisaeter, D. O. Dahle // *Transplantation*.-2016.-N 9 (100).-P.e52.

126. Molina M. CD19+ B-cells, a new biomarker of mortality in hemodialysis patients / M. Molina [et al.] // *Frontiers in Immunology*.-2018.-N JUN (9).- P.1221.

127. Mota, M. A. Red cell and human leukocyte antigen alloimmunization in candidates for renal transplantation: a reality / Mota, M. A. // *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*.- 2013.- N 3 (35).- P.160.

128. Naik, R. H. Renal transplantation rejection / R. H. Naik, S. H. Shawar // *StatPearls Publishing*.- 2020. (01).- P.1.

129. Nasr, M. Advances in diagnostics for transplant rejection / M. Nasr, T. Sigdel, M. Sarwal // *Expert review of molecular diagnostics*.- 2016.- N 10 (16).- P.1121.

130. Neuen, B. L. Chronic kidney disease and the global NCDs agenda / B. L. Neuen [et al.] // *BMJ Global Health*.- 2017.- Vol 2.-P 2.

131. Niemczyk, L. Renal replacement modality affects uremic toxins and oxidative stress / L. Niemczyk, Malyszko J. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.- 2021. -Vol 2021.-P.10

132. O’Leary, J. G. The influence of immunosuppressive agents on the risk of de novo donor-specific hla antibody production in solid organ transplant recipients / J. G. O’Leary [et al.] // *Transplantation*.-2016.-N 1 (100).-P.39.

133. Obrador, G. T. Effect of red cell transfusions on future kidney transplantation / G. T. Obrador, I. C. Macdougall // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*.- 2013. -N 5 (8). -P.852–860.

134. Pavenski, K. HLA alloimmunization against platelet transfusions: Pathophysiology, significance, prevention and management / K. Pavenski, J. Freedman, J. W. Semple // *Tissue Antigens*.- 2012. -N 4 (79).-P.237–245.

135. Pérez-Sáez, M. J. Strategies for an expanded use of kidneys from elderly donors / M. J. Pérez-Sáez [et al.] // *Transplantation*.- 2017.- N 4 (101).- P.727.
136. Phanish, M. K. Immunological risk stratification and tailored minimisation of immunosuppression in renal transplant recipients / M. K. Phanish [et al.] // *BMC Nephrology*.- 2020. -N 1 (21).-P.12882
137. Phillips, B. L. The immunology of organ transplantation / B. L. Phillips, C. Callaghan // *Surgery - Oxford International Edition*.- 2020. -N 7 (38). -P.353–360.
138. Piccoli, G. B. What we do and do not know about women and kidney diseases; questions unanswered and answers unquestioned: Reflection on World Kidney Day and International Woman's Day / Piccoli G. B. [et al.] // 2018.- N 2 (38).- P.114–124.
139. Podkowińska, A. Chronic kidney disease as oxidative stress-and inflammatory-mediated cardiovascular disease / A. Podkowińska, D. Formanowicz // *Antioxidants*.- 2020. -Vol 9. -N 8.-P.1–54.
140. Podojil, J. R. Molecular mechanisms of T-cell receptor and costimulatory molecule ligation/blockade in autoimmune disease therapy/ J. R. Podojil, S. D. Miller // *Immunological Reviews*. -2009. -Vol 229. N 1.-P.337–355.
141. Poon, I. K. Apoptotic cell clearance: Basic biology and therapeutic potential / I. K. Poon [et al.] // *Nature Reviews Immunology*.- 2014. -Vol 14.- N 3.- P.166–180.
142. Poppelaars, F. Strong predictive value of mannose-binding lectin levels for cardiovascular risk of hemodialysis patients / F. Poppelaars // *Journal of Translational Medicine*.-2016.- N 1 (14).- P.236.
143. Poppelaars, F.The complement system in dialysis: A forgotten story? / F. Poppelaars [et al.] // *Frontiers in Immunology*.-2018.-Vol 9.-P.71.
144. Porrett, P. M. Biologic mechanisms and clinical consequences of pregnancy alloimmunization / P. M. Porrett // *American Journal of Transplantation*.- 2018.- N 5 (18). P.-1059–1067.
145. Prakash, J. Causes of death in renal transplant recipients with functioning allograft / J. Prakash [et al.] // *Indian Journal of Nephrology*.-2012.-N 4 (22).-P.264.
146. Prasad, N. Hemodialysis in Asia / N. Prasad, V. Jha // *Kidney Diseases*.- 2015.-

N 3 (1). -P.165–177.

147. Pratschke, J. Immunological risk assessment: The key to individualized immunosuppression after kidney transplantation / J. Pratschke [et al.] // *Transplantation Reviews*.- 2016.- Vol 30.-N 2.-P.77–84.

148. Quaglia, M. Recent Advances on Biomarkers of Early and Late Kidney Graft Dysfunction / M. Quaglia [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*.- 2020. -N 15 (21).-P.1–34.

149. Rob, H Pregnancy-induced HLA antibodies respond more vigorously after renal transplantation than antibodies induced by prior transplantation / H. Rob [et al.] // *Human immunology*.- 2015. -N 8 (76). -P.546–552.

150. Robert C. W. The Risk of Transplant Failure With HLA Mismatch in First Adult Kidney Allografts From Deceased Donors / C. W. Robert [et al.] // *Transplantation*. - 2016.- N 5 (100).-P.1094–1102.

151. Reardon, A. J. Fluorescence as an alternative to light-scatter gating strategies to identify frozen–thawed cells with flow cytometry / A. J. Reardon, J. A. Elliott, L. E. McGann // *Cryobiology*.-2014. N 1 (69).-P.91–99.

152. Rees, L. HLA sensitisation: can it be prevented? / L. Rees, J. J. Kim // *Pediatric Nephrology*.-2014.- N 4 (30).-P.577–587.

153. Requião-Moura, L. R. Ischemia and reperfusion injury in renal transplantation: hemodynamic and immunological paradigms / L. R. Requião-Moura [et al.] // *Einstein (São Paulo, Brazil)*.- 2015.-Vol 13. -N 1.-P.129–135.

154. Robertson, I. B. [et al.] . Latent TGF- β -binding proteins / I. B. Robertson [et al.] // *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology*.- 2015. - (47).-P.44.

155. Rocco, M. KDOQI Clinical practice guideline for hemodialysis adequacy: 2015 Update / M. Rocco [et al.] // *American Journal of Kidney Diseases*.- 2015.- N 5 (66).-P.884–930.

156. Roedder, S. Biomarkers in solid organ transplantation: establishing personalized transplantation medicine / Roedder, S. [et al.] // *Genome Medicine*.- 2011. -N 6 (3).-P.37.

157. Rojas, A. M. Pre-transplant donor-reactive IL-21 producing T cells as a tool to identify an increased risk for acute rejection / A. M. Rojas [et al.] // *Scientific Reports*.- 2021. -N 1 (11).-P.12445.
158. Ruiz, R. Long-Term Toxicity of Immunosuppressive Therapy / R. Ruiz, A. D. Kirk // *Transplantation of the Liver*.- 2015.-P.1354.
159. Saito, P. K. Complement-Dependent Cytotoxicity (CDC) to Detect Anti-HLA Antibodies: Old but Gold / P. K. Saito [et al.] // *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2014. N 4 (28). -P.275.
160. Sakaguchi, S. Foxp3+CD25+CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease / S. Sakaguchi [et al.] // *Immunological Reviews*.- 2006. (212). -P.8–27.
161. Sandwijk, M. S. van, Bemelman F. J., Berge I. J. M. ten Immunosuppressive drugs after solid organ transplantation / M. S. Sandwijk, F. J. Bemelman, I. J. Berge // *Netherlands Journal of Medicine*. -2013. -N 6 (71).- -P.281–289.
162. Sanghavi, K. Genotype-guided tacrolimus dosing in African American kidney transplant recipients / K. Sanghavi [et al.] // *The pharmacogenomics journal*. -2017.- N 1 (17).-P.61.
163. Santarlaschi, V. IL-1 and T helper immune responses / V. Santarlaschi [et al.] // *Frontiers in Immunology*.- 2013. -Vol 4.- N 6.-P.182.
164. Satomura A. [et al.] . Functional mannose-binding lectin levels in patients with end-stage renal disease on maintenance hemodialysis / A.Satomura [et al.] . // *Journal of Innate Immunity*. 2012. N 3 (4). -P.293–300.
165. Schinstock, C. Kidney Transplant with Low Levels of DSA or Low Positive B-Flow Crossmatch: An Underappreciated Option for Highly-Sensitized Transplant Candidates / Schinstock, C. [et al.] // *Transplantation*.- 2017.- N 10 (101).- -P.2429.
166. Schmitz, R. B cells in transplant tolerance and rejection: friends or foes? / R. Schmitz [et al.] // *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*.- 2020.- N 1 (33). -P.30.
167. Sharma, R. Association of IL-6, IL-10, and TNF- α gene polymorphism with malnutrition inflammation syndrome and survival among end stage renal disease

- patients / R. Sharma [et al.] // *Journal of Interferon and Cytokine Research*.- 2013. - N 7 (33).-P.384–391.
168. Sommerer, C. New concepts to individualize calcineurin inhibitor therapy in renal allograft recipients / C. Sommerer [et al.] // *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*.- 2010.- N 6 (21).-P.1030.
169. Sprangers, B. Risk factors associated with post–kidney transplant malignancies: an article from the Cancer-Kidney International Network / B. Sprangers [et al.] // *Clinical Kidney Journal*.- 2018.- N 3 (11).- P.315.
170. Stinghen, A. E. Uremic toxicity of advanced glycation end products in CKD / A. E. Stinghen [et al.] // *Journal of the American Society of Nephrology*. 2016.- N 2 (27).- P.354–370.
171. Stögerer, T. Innate immune sensing by cells of the adaptive immun system / T. Stögerer, S. Stäger // *Frontiers in Immunology*. -2020. -VOL 11.- -P.1081.
172. Subbiah, A. K., Cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease: a neglected subgroup / A. K. Subbiah, Y. K. Chhabra, S. Mahajan // *Heart Asia*.- 2016. -N 2 (8).-P.56.
173. Tracey, J.H. [et al.] . Immunosuppressive therapy for kidney transplantation in adults: a systematic review and economic model / J.H. Tracey [et al.] // *Health technology assessment (Winchester, England)*. -2016. -N 62 (20).-P.1–594.
174. Taber, D. J. Outcome Disparities between African Americans and Caucasians in Contemporary Kidney Transplant Recipients / D. J. Taber, L. E. Egede, P. K. Baliga // *American journal of surgery*. -2017. -N 4 (213).- P.666.
175. Tait, B. D. Detection of HLA antibodies in organ transplant recipients – triumphs and challenges of the solid phase bead assay / B. D. Tait // *Frontiers in Immunology*. 2016.- N 12(7).- P.1.
176. Tamandl, D. Modulation of toll-like receptor 4 expression on human monocytes by tumor necrosis factor and interleukin-6: tumor necrosis factor evokes lipopolysaccharide hyporesponsiveness, whereas interleukin-6 enhances lipopolysaccharide activity / D. Tamandl [et al.] // *Shock (Augusta, Ga.)*. -2003. -N 3 (20).-P.224–229.

177. Tinckam, K. J. Re-examining risk of repeated hla mismatch in kidney transplantation / K. J. Tinckam [et al.] // Journal of the American Society of Nephrology.- 2016. -N 9 (27).-P.2833–2841.
178. Tomita, M. A potential role for immune activation in hemodialysis hypotension / M. Tomita [et al.] // Renal Failure.- 2001. -N 5 (23).- P.637–649.
179. Townamchai, N. Immunologic monitoring in kidney transplant recipients / N. Townamchai, K. Safa, A. Chandraker // Kidney Research and Clinical Practice.- 2013.- N 2-P.32.
180. Trailin, A. V. Peritransplant soluble cd30 as a risk factor for slow kidney allograft function, early acute rejection, worse long-term allograft function, and patients' survival / A. V. Trailin [et al.] // Disease Markers.- 2017. –Vol 2017.- P.12.
181. Valenzuela, N. M. Antibodies in transplantation: The effects of HLA and non-HLA antibody binding and mechanisms of injury / N. M. Valenzuela, E. F. Reed // Methods in Molecular Biology.- 2013.- (1034).-P.41–70.
182. Vallianou, N. G. Chronic kidney disease and cardiovascular disease: is there any relationship? / N. G. Vallianou [et al.] // Current Cardiology Reviews. 2019.-N 1 (15).-P.55.
183. Vaziri, N. D. Effect of uremia on structure and function of immune system/ N. D. Vaziri [et al.] // Journal of Renal Nutrition.- 2012.-N 1 (22).- P.149–156.
184. Vijay, K. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future/ K. Vijay // International Immunopharmacology. -2018.- Vol 59.
185. Volovat, S. R. Oncogenic mechanisms in renal insufficiency /S. R. Volovat [et al.] // Clinical Kidney Journal.- 2021. N 2 (14).- P.507–515.
186. Wadström, J. Advancing transplantation: New questions, new possibilities in kidney and liver transplantation / J. Wadström [et al.] // Transplantation.- 2017. -N 2 (101).-P.S1–S41.
187. Wang, D. Pre- and post-transplant monitoring of soluble CD30 levels as predictor of acute renal allograft rejection / D. Wang [et al.] // Transplant Immunology. -2007.- N 4 (17). -P.278–282.

188. Weinstock, P. Human leucocyte antigen sensitisation and its impact on transfusion practice / C. Weinstock, M. Schnaidt // *Transfusion Medicine and Hemotherapy*.- 2019. -N 5 (46). -P.356.
189. Welsh, P. Targeting inflammation to reduce cardiovascular disease risk: a realistic clinical prospect? / P. Welsh [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. 2017.- N 22 (174).- P.3898.
190. Weyden, C. A. Understanding CD30 biology and therapeutic targeting: a historical perspective providing insight into future directions / Weyden, C. A.[et al.] // *Blood Cancer Journal*.- 2017.- N 9 (7). -P.e603–e603.
191. Whitehouse, G. From the Cover: IL-2 therapy restores regulatory T-cell dysfunction induced by calcineurin inhibitors / Whitehouse G. [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2017.- N 27 (114).-P.7083.
192. Williams, W. W. Clinical role of the renal transplant biopsy / W. W. Williams [et al.] // *Nature reviews. Nephrology*.- 2012.- N 2 (8). -P.110.
193. Xiaoyan, J. The difference of T cell phenotypes in end stage renal disease patients under different dialysis modality / J. Xiaoyan [et al.] // *BMC Nephrology*.- 2019.- N 1 (20).-P.1–7.
194. Yabu, J. M. Sensitization from transfusion in patients awaiting primary kidney transplant / J. M. Yabu [et al.] // *Nephrology Dialysis Transplantation*.- 2013.- N 11 (28).- P.2908.
195. Zachary, A. A. HLA Mismatching strategies for solid organ transplantation – a balancing act / A. A. Zachary, M. S. Leffell // *Frontiers in Immunology*.- 2016.- N 12 (7).-P.575.
196. Zahran, N. Neutrophil apoptosis: Impact of granulocyte macrophage colony stimulating factor on cell survival and viability in chronic kidney disease and hemodialysis patients / Zahran, N. [et al.] // *Archives of Medical Science*. 2013. -N 6 (9). -P.984–989.
197. Zha Y. Protein nutrition and malnutrition in CKD and ESRD / Y. Zha, Q. Qian // *Nutrients*. -2017.- Vol 9. -N 3.

198. Zhang W. Recent topics on the mechanisms of immunosuppressive therapy-related neurotoxicities / W. Zhang, N. Egashira, S. Masuda // *International Journal of Molecular Sciences*.- 2019.- N 13.-P.20.
199. Zhao, H. Ischemia-reperfusion injury reduces long term renal graft survival: mechanism and beyond / H. Zhao [et al.] // *EBioMedicine*.- 2018. (28).-P.31.
200. Zhu J. T helper 2 (Th2) cell differentiation, type 2 innate lymphoid cell (ILC2) development and regulation of interleukin-4 (IL-4) and IL-13 production / J. Zhu // *Cytokine*.- 2015.- VOL 75.- N 1.-P.14–24.