

ИНДИВИДУАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ СТЕРЕОТИПОВ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ И СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНОВ (ИММУНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОБЛЕМЫ)

Онищенко Н.А., Артамонов С.Д., Крашенинников М.Е., Башкина Л.В., Никольская А.О.
 Лаборатория биотехнологии стволовых клеток (зав. – проф. Н.А. Онищенко)
 ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова»
 Министерства здравоохранения РФ (директор – академик РАМН, проф. С.В. Готье), Москва,
 Российская Федерация

Авторы обосновывают варианты иммунного реагирования организма при трансплантации органов существованием индивидуальных специфических программ реагирования на аллоантигены, которые, используя естественные активационные и тормозные механизмы, формируют различную степень устойчивости двух физиологических стереотипов «поведения иммунной системы» – эффекторного и толерогенного. Для идентификации индивидуального доминирующего стереотипа иммунного реагирования реципиента на трансплантат и прогнозирования изменений иммунного гомеостаза в организме авторы предлагают использовать показатели реактивности иммунной системы – консервативность и пластичность, которые могут быть выявлены подбором соответствующих биомаркеров. В настоящее время широко используется система маркеров, характеризующих воспалительные реакции (инфекции/воспаления), для выявления отторжения и сопутствующих осложнений. Для прогнозирования индивидуального доминирующего стереотипа реагирования при иммунологически спокойном течении посттрансплантационного периода авторы предлагают изучать систему информационно значимых клеточных маркеров адаптивного иммунитета и использовать их для формирования комплексных информативных иммуно-клеточных диагностических модулей.

Ключевые слова: стереотипы иммунного ответа, трансплантация органов, биомаркеры.

INDIVIDUAL STABILITY OF STEREOTYPES OF IMMUNE REACTING AND MODERN POSSIBILITIES OF THEIR DIAGNOSTIC IN ORGAN TRANSPLANTATION (IMMUNE-PHYSIOLOGICAL ANALYSIS OF A PROBLEM)

Onischenko N.A., Artamonov S.D., Krashennnikov M.E., Bashkina L.V., Nicol'skaya A.O.
 Laboratory stem cells biotechnology (Head – prof. N.A. Onischenko) Academician V.I. Shumakov
 Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs (Head – academician of RAMSci,
 prof. S.V. Gautier), Moscow, Russian Federation

The authors prove variants of immune reacting of a human organism in organ transplantation by existence of individual specific programs of reacting on alloantigens which, using natural activatory and inhibitory mechanisms, form various degree of stability of two physiological stereotypes of “behavior of immune system” – effectoric and tolerogenic. For identification of an individual predominant stereotype of recipient immune reacting on a graft and for forecasting changes of an immunological homeostasis in a human organism, authors suggest to use indexes of reactance of immune system – conservatism and plasticity which can be taped by selection of the conforming biomarkers. Now the system of markers characterizing inflammatory reactions (infections/inflammation) for recognition organ rejection and related complications, is widely used. For forecasting of an individual dominant stereotype of reacting in immunologically quiet post-transplant follow-up authors suggest to study a system of informative cellular markers of adaptive immunity and to use them for a formation of complex informative diagnostic immuno-cellular modules.

Key words: stereotypes of the immune reacting, organ transplantation, biomarkers.

За прошедшее десятилетие, после того как Национальный институт здоровья и Ассоциация по толерантности США в 2003 году призвали к активному внедрению толеризирующих методов в клиническую практику [1], определились основные направления разработки таких методов, появились некоторые успехи их клинического использования, но также возникли новые проблемы применения толерогенных протоколов ведения пациентов. По меткому выражению доктора P. Tzoufopoulos из центра в Майями (США), наблюдавшего около 7 лет 23 взрослых пациентов, выведенных на толерантность после пересадки печени, основной проблемой стали «бессонные ночи» [2]. Ограниченная практика использования протоколов толерогенного ведения пациента, слабая диагностика и значительные периоды времени пребывания пациента вне клиники, отсутствие критериев длительного прогноза состояния функции пересаженного органа при постоянно сохраняющейся вероятности отторжения органа в условиях отказа от иммуносупрессии не делают такой способ ведения пациента популярным у врачей. Между тем, судя по фактам, приведенным в указанной работе, за время наблюдения качество жизни обследуемых пациентов было явно лучше, чем у пациентов в контрольной группе с иммуносупрессией, а эпизодов хронического отторжения было достоверно меньше (без отторжения органа было 95% пациентов в группе с толерантностью и только 73% в группе с иммуносупрессией). Отмечено также, что 21 пациент из этого исследования вышли на толерантность с первой попытки, а двое пациентов решились на повтор процедуры после возвращения их на иммуносупрессию и вышли на толерантность со второй попытки. Вышеизложенные результаты убеждают, что «бессонные ночи», очевидно, стоили таких благоприятных результатов. Актуальность проблемы повышения длительности и качества жизни пациентов, особенно детей с пересаженным органом, делают подобные клинические испытания все более частыми [3]. Ниже приводим результаты одного из последних испытаний выведения на толерантность у детей после

пересадки печени, по результатам которого было впервые рекомендовано использование данного метода в клинической практике [4]. Напомним, что оперативная или устойчивая толерантность формируется естественным образом самим организмом пациента при отмене иммуносупрессии. В данном испытании дозы единственного иммуносупрессора – такролимуса ежегодно снижали на треть, при условии сохранения в конце года клинически стабильного состояния ребенка. Описываемое испытание было проведено несколькими центрами в США [4], в него по специальным критериям (возраст более 5 лет, хорошая функция пересаженной печени, отсутствие кризов отторжения в течение года, согласие родителей) отобрали 20 детей после пересадки левой доли печени и по принятому протоколу отмены иммуносупрессии вывели их на устойчивую (естественную) толерантность. Испытание было успешным у 12 детей (толерантность больше года), 8 детей вернули на прием иммуносупрессии в течение первых 9 месяцев. Во время испытания у толерантных детей было выполнено по четыре плановые пункции в течение 2 лет, не считая диагностических исследований, ферменты печени измерялись еженедельно или раз в месяц. Никто из детей не потерял пересаженный орган уже в течение нескольких лет после выведения на толерантность. Исследование ставит вопрос: как быть дальше? И позволит ли используемая диагностика заменить постоянную иммуносупрессию? Следует заметить, что в клинических испытаниях по выведению на толерантность четко прослеживается основной принцип – индивидуальный подход к пациенту. Между тем реализация такого подхода сопряжена в настоящее время с преодолением значительных диагностических, экономических и организационных проблем. Пути преодоления хотя бы части этих проблем связаны с развитием новых научных технологий в диагностике и в применении корректирующих воздействий на организм. Базовым объектом применения таких технологий является иммунная система реципиента, особенности функционирования которой сформировались под

Онищенко Нина Андреевна – проф., зав. лабораторией биотехнологии стволовых клеток ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России (директор – академик РАН, проф. С.В. Готье), Москва, Российская Федерация. *Артамонов Сергей Дмитриевич* – к. м. н., с. н. с. той же лаборатории. *Крашенинников Михаил Евгеньевич* – к. б. н., с. н. с. той же лаборатории. *Башкина Людмила Валентиновна* – к. м. н., с. н. с. той же лаборатории. *Никольская Алла Олеговна* – к. б. н., с. н. с. той же лаборатории.

Для корреспонденции: Крашенинников Михаил Евгеньевич. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел.: 8 903 593 29 84. E-mail: krashen@rambler.ru

Onischenko Nina Andreevna – doct. of med. sci, Head of laboratory stem cells biotechnology Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs (Head – academician of RAMSci, prof. S.V. Gautier), Moscow, Russian Federation. *Artemonov Sergey Dmitrievich* – cand. of med. sci, senior Research Fellow at the same lab. *Krashennnikov Mikhail Evgenievich* – cand. of biol. sci, senior Research Fellow at the same lab. *Bashkina Lyudmila Valentinovna* – cand. of med. sci, senior Research Fellow at the same lab. *Nicolskaya Alla Olegovna* – cand. of biol. sci, senior Research Fellow at the same lab.

For correspondence: Krashennnikov Mikhail Evgenievich. Address: Russia, 123182, Moscow, Schukinskaya st., 1. Phone: +7 903 593 29 84. E-mail: krashen@rambler.ru

воздействием индивидуальных наследственных характеристик индивида и прижизненного воздействия на него иммунозависимых факторов внешней среды.

I. ВЛИЯНИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ И ИММУНОЗАВИСИМЫХ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА

1.1. Реактивность как фактор индивидуального реагирования иммунной системы

Общеизвестно, что состояние иммунного гомеостаза в организме поддерживается за счет взаимодействия врожденного и адаптивного иммунитета, причем в адаптивном звене иммунитета баланс клеточно-молекулярного взаимодействия достигается с помощью активационных (эффektorных) и тормозных (толерогенных) механизмов.

Аналогичным образом гомеостаз в организме должен поддерживаться и при трансплантации органов, хотя биологически кажется противоестественным включение толерогенных механизмов на внедренный аллоантиген. Тем не менее следует признать, что толерантность является необходимым условием нормального функционирования иммунной системы, и степень участия этого механизма в поддержании гомеостаза при трансплантации органов, по-видимому, определяется индивидуально сложившимися способами реагирования иммунной системы на аллоантигенный стресс, которые сформировались в фило- и онтогенезе, а также в процессе жизни организма при его непрерывном взаимодействии с окружающей средой (на инфекции, антигены после переливания крови, вакцинации, беременности и др.). Современный опыт трансплантации органов подтверждает, что реципиенты действительно неодинаково реагируют на аллотрансплантат. После сравнительно короткого периода адаптации с помощью иммуно-супрессивных препаратов [5] одна часть реципиентов способна выйти на толерантность и не отторгать трансплантат при отмене иммуносупрессии (например, толерантность к трансплантату печени у детей достигает 60% [3, 4, 6], у взрослых – 20% [2, 7], тогда как у большей части реципиентов избежать отторжения удается лишь при постоянном применении медикаментозной иммуносупрессии [5, 8].

Анализ причин различного реагирования иммунной системы реципиентов на трансплантат заставляет нас связать их с индивидуально сложившейся в их организме реактивностью иммунной системы. Реактивность как биологическая категория представляет

собой защитно-приспособительное свойство организма индивидуально реагировать на воздействие факторов окружающей среды либо в сторону повышения восприимчивости к патогенным агентам, либо в сторону резистентности к ним. Оба направления реагирования, или оба стереотипа, определяются состоянием включающихся при этом регуляторных (защитных) механизмов: либо недостаточностью их функционирования, либо их усилением [9]. Применяя направленные регуляторные воздействия на эти механизмы, можно менять сложившиеся стереотипы поведения системы в организме, в том числе и иммунной системы. В зависимости от конкретной клинической ситуации, применяя чаще всего медикаментозные препараты, врач перепрограммирует сложившиеся стереотипы «поведения» иммунной системы, меняя их от консервативности реагирования к пластичности или обратно; иногда организм способен выбрать нужный стереотип сам, в других случаях необходимо найти способы помочь ему сделать это. Под консервативностью следует понимать исторически (эволюционно) сложившийся стереотип иммунного ответа (в нашем случае ответ на аллоантигены пересаженного органа активацией эффektorного звена); под пластичностью следует понимать способность иммунной системы перепрограммировать работу своих регуляторных механизмов под давлением информационной среды в сторону резистентности (толерантности). Обе категории реактивности – неотъемлемое свойство сложных живых систем (организмов). Практический смысл их использования для оценки состояния иммунной системы появляется лишь тогда, когда они становятся характеристикой стереотипа индивидуального иммунного ответа, что позволило бы с их помощью прогнозировать устойчивость (надежность) появления и сохранения естественной (оперативной) толерантности у конкретного пациента, например для оптимизации иммунокоррекции.

1.2. Физиологические принципы формирования стереотипов иммунного реагирования

В терминах современной информатики реакция клеток иммунной системы на восприятие текущей информации и сохраняющуюся в них индивидуальную память об антигене предполагает существование в организме специализированных структур и специализированных программ реагирования. Выполнение этих программ обеспечивает избирательные действия иммунной системы относительно каждого попадающего или имеющегося в организме антигена и формирует, таким образом, стереотип индивидуального иммунного реагирования каждого человека, определяя среди антигенов его «друзей и врагов».

Следует особо подчеркнуть, что индивидуальный стереотип иммунного реагирования на антиген в значительной степени определяется присутствием в организме клеток иммунологической памяти. Поэтому индивидуальный стереотип иммунологического реагирования можно характеризовать как результат возникновения и сохранения на длительный срок после взаимодействия клеток иммунной системы с антигеном соответствующих специализированных структур (стереотипов) и/или специализированных программ (динамических стереотипов), которые определяют характер (выживаемость) последующего реагирования организма на конкретный антиген.

Стереотипы иммунного реагирования большей частью представляют собой не что иное, как фенотипическое иммуно-клеточное проявление генетической памяти, выработанной в филогенезе либо в онтогенезе в предшествующие периоды жизни для сохранения целостности организма в рамках иммунного гомеостаза. При этом в геноме сохраняются не программы воспроизводства стереотипов иммунных реакций, а программы воспроизводства белков, составляющих основу структурных стереотипов, на основе которых формируются программы более сложных динамических стереотипов путем востребования информационных (сигнальных), функциональных и структурных белков в нужном месте, в необходимой последовательности, в нужное время и в необходимом количестве. Факты свидетельствуют, что сами гены у людей внутри вида отличаются слабо; гораздо сильнее различаются программы востребования аллельных вариантов генов, что определяет процентное соотношение вариантов одних и тех же функциональных белков и создает тем самым индивидуальные различия метаболизма, а следовательно, и фенотипические различия между людьми внутри вида. Ярким примером, сохранения генетической памятью стереотипов иммунологических структур в филогенезе служат, в частности, Толл-подобные рецепторы, имеющиеся как у человека, так и у всех позвоночных животных. Эти рецепторы способны распознать биологические молекулы большинства опасных патогенов [10], модифицируя реакцию на них в сторону эффекторного ответа, и тем самым осуществить выбор между толерантностью и эффекторным ответом в сторону эффекторного ответа, в том числе при отторжении пересаженного органа [11]. Примером генетически сохраненной программы иммунного ответа может служить различная чувствительность к инфекции *Leishmania major* – возбудителю лейшманиоза у двух линий мышей. Это очень популярная в экспериментальной иммунологии модель для изучения соотношения различных видов программ сохранения иммунологических стереотипов и программной пластичности [12, 13]. У одной из

линий – C57BL/6 – развивается Th1 – опосредованный клеточный ответ на инфекцию. Эта линия была резистентной к лейшманиозу. У другой линии мышей – BALB/C – вырабатывается Th2 – зависимый антительный ответ на патоген; животные этой линии погибают (*Leishmania major* для них смертельно опасна), и такой исход является ошибкой иммунитета. Но существуют ли механизмы, с помощью которых можно сломать (изменить, переключить) стереотипную программу реагирования на антиген? И тем самым преодолеть генетическую консервативность? Оказалось, что, воздействуя на дендритные клетки, ответственные за выбор специализации наивных Т-лимфоцитов – хелперов, определяющих тип иммунного ответа (гуморального или клеточного), можно инициировать изменения стереотипной программы, провоцируя в чувствительной линии мышей собственный клеточный ответ на возбудитель лейшманиоза, который делает животных резистентными к заболеванию. Более того, оказалось, что, ликвидировав клетки выработанной Т-лимфоцитарной хелперной памяти, можно снова вернуть мышей в прежний стереотип, вызывающий гибель животного [14, 15]. Примером слома (нарушения) стереотипной, жестко контролирующей физиологический аутоиммунитет программы толерантности являются аутоиммунные заболевания. Показано, что к таким сломам имеется генетическая предрасположенность, и связана она со многими генами. Снижение барьера надежности стереотипа, допустим, к заболеванию сахарным диабетом первого типа у детей-европейцев, связано в первую очередь с определенными аллельными вариантами генов главного комплекса гистосовместимости второго класса DR3/DR4, DQ2/DQ8. Однако генетическая предрасположенность у людей к аутоиммунному диабету реализуется лишь в небольшом проценте случаев, и только если в анамнезе действовали разрешающие факторы среды, которые способствовали заболеванию (например, перенесенное матерью заболевание во время беременности), так как привели к уменьшению высоты барьера надежности толерантного стереотипа. По статистике, люди, не имеющие генов предрасположенности к сахарному диабету (японцы или китайцы), диабетом I типа болеют очень редко [16].

Приведенные примеры показывают, что репертуары индивидуально сложившихся стереотипов иммунного реагирования в организме могут не только длительно сохраняться и поддерживаться, но и изменяться под воздействием поступающей и меняющейся информации из окружающей среды. В результате наряду с консервативными программами (стереотипами) иммунного реагирования в организме проявляются новые стереотипы, опирающиеся на существующие стереотипные программы, от-

ответственные за иммунную пластичность, назначение которых – уравновешивать консервативность сложившихся стереотипов иммунной памяти. Использование множественных параллельных и альтернативных вариантов реагирования в большинстве случаев дает выигрыш при адаптации к быстро меняющимся условиям среды. Пластичность чаще всего необходима при тонких настройках регуляции, когда требуется программа адаптации и коррекции. Потребность в иммунной пластичности всегда существует при текущем непрерывном взаимодействии организма с окружающей информационной средой. Например: выработка толерантности к микробам-комменсам кишечника, вирусоносительство, вынашивание плода при беременности и т. д. В то же время пластичность может являться и основой патологии и нежелательных реакций. Так, превращение Т-лимфоцитов – регуляторов, обеспечивающих толерантность по аутоантигенам, в Th17-хелперы стимулирует быстрый эффекторный ответ по конкретному антигену, что является, по современным представлениям, одной из основных причин аутоиммунных заболеваний, а также одной из причин развития хронического отторжения пересаженного органа [17, 18].

Программы пластичности, реагируя на информацию среды, под контролем памяти формируют опережающий ответ, используя принципы текущего прогноза и коррекции по промежуточному результату, что является общим принципом использования памяти в работе интегративных систем, в том числе в работе иммунной и центральной нервной системы [19]. Как прямую аналогию можно использовать принципы нашего поведения при передвижении: используя долговременную память, мы при получении информации из внешней среды осуществляем текущий прогноз, на основании его включаем опережающие программы коррекции стереотипа и пластично решаем проблемы, обходя препятствия. Таким образом, существование стереотипных программ пластичности представляет собой резерв имеющихся в организме возможностей регуляции иммунного статуса, которые могут быть задействованы для выведения иммунной системы реципиента на толерантность к аллоантигенам. Включение в организме программ пластичности для регуляции иммунного статуса, очевидно, основано на использовании уже готовых, ранее наработанных, индивидуальных стереотипов, так как иммунная система как часть гомеостаза организма должна поддерживать баланс программ, обеспечивающих необходимые соотношения между активационными и тормозными механизмами, где основной критерий – максимально эффективное сохранение целостности системы.

В то же время в разных организмах варианты наработанных программ разные, о чем свидетельс-

твует приведенный выше пример с чувствительностью к лейшмании у разных линий мышей, а среди вариантов стереотипов существует иерархия, есть базовые варианты, доминирующие в данном организме, но отсутствующие в другом. Поэтому индивидуальные особенности соотношения программ пластичности и консервативности служат пока непреодолимым препятствием для выработки надежной характеристики сложившегося в организме стереотипа индивидуального иммунного реагирования на конкретный антиген.

Между тем контроль над процессами иммунного реагирования для обеспечения текущего и долгосрочного прогноза, а также управление активностью иммунного ответа стали основной проблемой трансплантологии, перед которой на современном этапе стоит задача обеспечения индивидуального подхода к назначению, изменению (коррекции) или отмене иммуносупрессивной терапии на фоне клинически спокойного течения посттрансплантационного периода. Однако в настоящее время информация для изменения протокола иммуносупрессии обычно поступает слишком поздно в виде осложненного течения посттрансплантационного периода [20].

1.3. Иммунобиологические закономерности формирования стереотипов иммунного реагирования при трансплантации

Пересадка органов инициирует иммунный конфликт между организмом реципиента и донорским органом, который без адекватной иммуносупрессии заканчивается развитием эффекторного ответа и отторжением органа. Однако отмечено, что при пересадках печени у реального процента пациентов (примерно у 20% взрослых и 60% детей) при грамотно проведенной иммуносупрессии в раннем послеоперационном периоде (до 6 месяцев) формируется стереотип так называемой спонтанной оперативной толерантности, при котором иммуносупрессивные препараты можно отменить без последующего отторжения органа. Между тем в основном в первые три месяца после пересадки эпизоды острого отторжения органа во многих случаях неизбежны. Они отмечаются в среднем в 50% наблюдений [7], и для их возникновения существует несколько основных причин.

1. Массовая гибель клеток, связанная с хирургическим вмешательством, ишемией и реперфузией пересаженного органа. Эти процессы активируют систему врожденного иммунитета, создавая в организме провоспалительную информационную среду [11, 21].

2. Наличие лейкоцитов-пассажира – профессиональных антигенпрезентирующих, в основном дендритных, клеток донора. У антигенпрезенти-

рующих клеток (АПК) донора и реципиента имеет место разное генетически обусловленное строение белковых молекул HLA, на которых презентуются антигены Т-лимфоцитам. Поэтому АПК донора и реципиента презентуют Т-лимфоцитам реципиента разные процессированные антигенные пептиды, полученные из одних и тех же белков, все равно, донора или реципиента, так как белки внутри вида мало чем отличаются у донора и реципиента [22, 23]. Донорские АПК обеспечивают презентацию большинства аллоантигенов, процессированных из белков донора или реципиента наивным CD4 и CD8 Т-лимфоцитам реципиента, тем самым вызывая реакцию классического острого отторжения по прямому метаболическому пути. Донорские АПК живут в организме реципиента 3–6 месяцев, определяя кривую вероятности острого отторжения по прямому метаболическому пути.

3. Наличие клеток памяти, которые, по последним данным, играют значительную роль в развитии острого отторжения органа, образуя так называемую гетерологическую, или анамнестическую, составляющую прямого метаболического пути отторжения [24–26]. Эти клетки запускают ранний деструктивный ответ, начинающийся уже в течение первых суток, в отличие от классического иммунного ответа, развивающегося через 4–6 дней [27]. Ранний ответ вызван клетками памяти, сохранившимися после перенесенных инфекций, прививок, переливания крови, беременности и т. п., и перекрестно распознающими аллоантигены трансплантата. По динамике он может быть и классическим сверхострым отторжением, однако часто, к примеру, до 38% [28] в исследуемой группе с пересадкой почки, ответ оказывается менее интенсивным, и это вызвано наличием низкоаффинно распознающих аллоантиген лимфоидных клеток памяти.

Итак, в раннем посттрансплантационном периоде развитие реакции классического острого отторжения наступает в результате презентации донорскими АПК процессированных ими антигенов из белков донора или реципиента наивным CD4 и CD8 лимфоцитам реципиента. Часть аллоантигенов (до 10%) не имеет тимусной центральной толерантности, которая есть на аутоантигены (рестрикция по HLA). Вследствие этого они являются «чужими» для организма реципиента, и лимфоциты, примированные этими антигенами с помощью донорских АПК, организуют эффекторный ответ на аллоантигены, представленные на молекулах HLA первого класса клеток пересаженного органа [29]. Фактически в организме воспроизводится стереотип иммунного реагирования, сходный со стереотипом на вирусную агрессию. Другими словами, иммунная система в условиях провоспалительной среды и презентированных на клетках трансплантата аллоантигенах

воспринимает их как бы зараженными вирусом. Такова иммунологическая основа развития прямого метаболического пути отторжения трансплантата. Как показали исследования последних лет, лейкоциты-пассажиры (АПК донора), вышедшие из трансплантата, могут из-за нарушения нормальной циркуляции лимфы контактировать с CD8 Т-лимфоцитами резидентной памяти из других органов. В результате распознавание ими аллоантигенов на АПК донора может приводить к изменению их трафика и к хоумингу этих Т-клеток тканевой (резидентной памяти) в пересаженный орган, следствием чего становится усиление реакции отторжения. Этот дополнительный компонент прямого пути отторжения получил название анамнестической, или гетерологической, составляющей [26].

Большинство Т-лимфоцитов реципиента, имеющих хоуминг в пересаженный орган и основное место пребывания в нем, удаляются вместе с аналогичным реципиентским органом, и поэтому не участвуют в реакциях отторжения. В случае прямого распознавания аллоантигенов на клетках эндотелия донорского органа (комплекса молекулы HLA I класса с аллоантигенным пептидом) наивными Т-лимфоцитами реципиента, имеющимися в циркуляции, происходит анергия и затем гибель апоптозом этих наивных Т-лимфоцитов из-за недостатка ко-стимулирующих молекул [30, 31]. Поэтому при грамотно проведенной иммуносупрессии в организме не сохраняется стереотип клеток высокоаффинной иммунологической памяти и после регенерации органа, а также элиминации АПК донора (вероятность острого отторжения как раз характеризует срок их жизни), процесс распознавания донорских антигенов и формирование иммунного стереотипа начинается как бы заново. Именно на этом новом (спустя 6 мес. после трансплантации) этапе создаются условия для формирования толерогенного стереотипа иммунного реагирования.

Известно, что АПК реципиента способны по определению презентировать только пептидные аутоантигены, процессированные как из белков донора, так и реципиента, но при условии, что у донорского органа отсутствуют белки, которых нет у реципиента, либо в сходных белках нет иммунологически значимой разницы. Активация непрямого метаболического пути отторжения связана с презентацией в значительном количестве на поверхности АПК реципиента только аллоантигенов, процессированных из белковых молекул HLA клеток пересаженного органа. Если встречаются другие отличия в белках донорского органа и реципиента (они составляют около 0,1% всего генетического материала) [22], то из отличающихся иммуногенных белков донора процессируются так называемые малые (слабые) аллоантигены. Презентация таких типов аллоанти-

генов АПК реципиента активирует классический непрямой метаболический путь отторжения, чаще всего хронического, клинически значимого в основном после острого периода и в отдаленные сроки.

На этом этапе для активации гетерологических клеток памяти и вновь образовавшихся лимфоцитов памяти непосредственно к антигенам донора бывает достаточно презентации аллоантигена на непрофессиональных АПК, которыми могут стать неиммунные клетки донорского органа, например, эндотелий сосудов или эпителий желчных протоков и т. п. [32], так как эти клетки слабо нуждаются в костимуляции [33], при особых условиях провоспалительной иммунной среды. Клетки памяти, как показано в работе [34], устойчивы к стероидам, что обычно бывает при позднем остром отторжении. После острого периода ксеноантигены, естественно, могут также поступать в составе белков-патогенов и вызывать перекрестную реакцию с аллоантигенами, так как в организме постоянно остаются те наивные лимфоциты, которые могут перекрестно распознавать и антигены вируса, и аллоантигены, представленные на молекулах HLA первого класса на соматических клетках пересаженного органа. Этот механизм перекрестного иммунного ответа, вызывающий при сохранении клеток памяти хроническое отторжение, длительно сохраняется наряду с классическим непрямым путем отторжения [29]. Клетки памяти по аллоантигенам могут либо удаляться современной иммуносупрессией [25], либо спонтанно регулироваться самим организмом, с помощью наследственно сложившегося стереотипа пластичности с развитием толерантности. Очевидно, во всех случаях после острого периода картина иммунологического статуса будет определяться соотношением и устойчивостью сложившихся стереотипов. Они, как показывает практика, разные не только для реципиентов, но и для разных органов. Так, при пересадке почек развитие толерантности у реципиентов в условиях применения современных методов иммуносупрессии составляет менее 1% от всей популяции [7], тогда как при пересадке печени достигает 20% и более. Наиболее выражена возможность выработки оперативной толерантности у детей с пересадкой печени [3, 35].

Однако для выявления таких реципиентов и оправданного отказа от иммуносупрессивной терапии необходима надежная диагностика выработки устойчивого толерогенного стереотипа у реципиентов с трансплантированными органами.

II. ДИАГНОСТИКА ДОМИНИРУЮЩЕГО СТЕРЕОТИПА ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ НА ТРАНСПЛАНТАТ

Многочисленные маркеры, предназначенные для оценки индивидуальных динамических харак-

теристик иммунологического статуса у пациентов с трансплантацией органов, проходят испытания в ведущих клиниках мира. Однако пока не была доказана их пригодность для индивидуального контроля доминирующего стереотипа у реципиентов. Пока единственно реальным диагностическим методом, который не вызывает сомнения, остается гистологическое и иммуногистологическое исследование биоптата из трансплантата. Только с результатами его исследования, и естественно, с функцией пересаженного органа коррелирует информативность всех прочих биомаркеров. Отсюда термин «пункционно подтвержденное отторжение» [36]. Между тем из-за рисков, связанных с выполнением пункционной биопсии, эту манипуляцию проводят нечасто, преимущественно в диагностических целях и совсем редко в плане прогнозирования дальнейшей судьбы трансплантата (плановые исследования). Этим объясняется, что во многих случаях только резкий подъем концентрации маркерных ферментов трансплантата в крови после его пересадки служит основанием для вмешательства в текущий протокол ведения пациента [37, 38].

В то же время разработка систем надежных показателей по результатам исследования крови продолжается [39–44], так как кровь в клиническом плане наиболее доступная и насыщенная информационной среда, а индустрия современной диагностики имеет практически неограниченные возможности, так как позволяют определить в крови концентрацию практически любой значимой молекулы [41].

Однако многочисленные способы диагностики с применением моноклональных антител (методы ELISA, ELISPOT или цитофлуориметрия) или диагностики генетическими методами с помощью ПЦР для обнаружения конкретных информационных ДНК и РНК практически еще не вошли в клиническую практику трансплантологии в качестве протокольных методов, так как до настоящего времени не найдены информационно значимые маркеры для диагностики и прогноза состояния трансплантата. Между тем выигрыш при выявлении таких маркеров, в частности для прогнозирования возможности создания толерантности к трансплантату печени у детей, может быть велик [4].

Используемые в настоящее время диагностические маркеры могут быть разделены на несколько групп.

2.1. Маркеры метаболизма в трансплантате

Маркеры метаболизма в трансплантате отражают связь между нарушением метаболизма и развитием дисфункции трансплантированного органа, т. е. служат маркером его отторжения. Идеальным вариантом такого маркера может служить недав-

но показанная в эксперименте связь концентрации цитрулина в крови и острого или хронического отторжения при интестинальной и мультивисцеральной пересадке органов [43]. Установлена критическая концентрация цитрулина для острого (10 мкМ/л) и для хронического (20 мкМ/л) отторжения. Определение таких или подобных маркеров при толерантном ведении реципиента можно было бы использовать для индивидуального контроля с помощью прибора типа глюкометра, применяемого больными с диабетом. Воплощение на практике идеи индивидуального контроля самим пациентом метаболической функции пересаженного органа, как первого и основного доклинического показателя, может оказаться полезной при толерантных протоколах ведения реципиента или при назначении им индивидуальной непостоянной иммуносупрессии.

2.2. Клеточные маркеры (лимфоциты), специфические по антигену, или метод ELISPOT

Метод представляет собой современное воплощение в клинике известной реакции взаимодействия клеток в смешанной культуре лимфоцитов донора и реципиента. Метод устанавливает количество в крови эффекторных и регуляторных лимфоцитов, специфических по аллоантигенам, на сто тысяч клеток в лунке и тем самым позволяет судить о доминирующем стереотипе иммунного реагирования в организме. Метод требует наличия донорских антигенов, что не составляет проблемы при пересадке органа от живого донора и требует забора и хранения донорской крови при пересадке трупного органа [28]. Полагают, что сочетанное измерение в крови соотношения конкретных иммунных клеток, отражающих надежность сохранения стереотипов иммунного статуса и показателей антигенспецифичного взаимодействия у конкретного пациента (наличие клеток памяти на аллоантигены и профиль производимых ими цитокинов, в частности таких, как интерферон гамма или интерлейкин-10), измеренные методом ELISPOT, могут дать надежный протокол конкретных действий с высокой предсказуемостью результатов и на длительные сроки [28, 38, 44].

2.3. Системные маркеры иммунного статуса

Это самая сложная система маркеров, так как ее назначение не столько диагностировать текущее состояние системы взаимодействия пересаженного донорского органа и организма реципиента, сколько прогнозировать динамику (устойчивость) этого взаимодействия на длительный срок. Прогнозирование

при использовании толерогенных протоколов ведения реципиентов должно обязательно опираться на вызывающую доверие систему показателей, так как в противном случае вышеописанная ситуация «бессонных ночей» будет сохраняться. В настоящее время поиск системных информативных показателей ведется в рамках методов геномики и протеомики. В геномике определение склонных к толерантности больных уже называют получением «отпечатков пальцев» или «подписью» толерантности [40], имея в виду набор тех генетических признаков, который присущ толерантным пациентам [45]. В рамках протеомики такие системы менее разработаны, однако работы в этой области активно ведутся [42]. Одной из таких систем, использующих растворимые показатели крови, является системная оценка воспалительной реакции организма.

2.3.1. Использование биомаркеров системной воспалительной реакции организма

В цикле работ, выполненных под руководством проф. О.П. Шевченко, подробно изучена диагностическая значимость главным образом провоспалительных маркеров (маркеров системной воспалительной реакции), коррелирующих с отторжением трансплантата, инфекцией, воспалением и развитием осложнений, например, с развитием васкулопатии трансплантированного сердца [46–51]. В этих работах, а также в исследованиях других авторов [52, 53] показано, что информационно значимыми при трансплантации сердца, печени и почек являются такие маркеры, как неоптерин (НП), секретируемый макрофагами, белки острой фазы воспаления (С-реактивный белок – СРБ, церуллоплазмин), растворимая форма лиганда CD40 (sCD40L), являющаяся членом суперсемейства TNF и секретируемая в кровотоке активированными Т-клетками и тромбоцитами, растворимая форма рецептора CD30 (sCD30), являющегося членом суперсемейства рецептора TNF, секретируемого активированными Т-лимфоцитами. Впервые в работах О.П. Шевченко была показана маркерная и информационно значимая роль PAPP-A-протеина плазмы А, ассоциированного с беременностью и представляющего собой цинк-содержащую металлопротеиназу, которая активирует инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР-1) и характеризует активность процессов эндогенной деструкции тканей; показана также значимая роль плацентарного фактора роста PIGF, являющегося представителем суперсемейства эндотелиальных факторов роста (VEGF), который, как и при атеросклерозе, инициирует воспалительный процесс в сосудистой стенке [54].

Анализ этих и ряда дополнительных маркеров, в частности проатерогенных и тромбогенных маркеров – АЛК – на антитела к кардиолипину,

маркер ГЦ – гомоцистеина, маркер SVCAM-1 со- судистых молекул клеточной адгезии, маркеров Fas- опосредованного апоптоза (sFas/ sFasL) и т. д. позво- лил установить высокую информативность этих показателей как при диагностике особенностей исходного состояния реципиентов (у значительной части больных в предтрансплантационном периоде уже повышен уровень провоспалительных марке- ров), так и в диагностике рисков развития отторже- ния и других осложнений на разных сроках пост- трансплантационного периода. Так, при развитии отторжения и/или инфекционных (вирусных) ос- ложнений повышаются значения провоспалитель- ных (СРБ, НП) маркеров; при развитии васкулопа- тии или болезни коронарных артерий трансплантата сердца повышаются не только провоспалительные, но и проатерогенные и протромбогенные марке- ры (АЛК, ГЦ, SVCAM). Повышенный уровень sCD40L ($\geq 0,32$ нг/мл), PAPP-A (≥ 11 мМЕ/л) и PIGF (≥ 12 пг/мл) у больных до и в первый год после трансплантации сердца коррелирует с риском ран- него развития васкулопатии пересаженного сердца, а также с развитием рестеноза после ангиопласти- ки коронарных артерий трансплантата. Между тем, несмотря на достаточно высокую чувствительность и специфичность этих маркеров, а также диагно- стическую значимость результатов, полученных с их помощью при развитии провоспалительных ослож- нений, используемый набор провоспалительных маркеров при раздельном анализе их в условиях клинически спокойного течения посттранспланта- ционного периода, и тем более в отдаленные сроки, не позволяет пока с требуемым уровнем достовер- ности индивидуально прогнозировать судьбу транс- плантата и вносить изменения в протокол терапии реципиента иммуносупрессантами. Однако исполь- зование этой группы взаимосвязанных показателей и показателей, изученных другими высокотехноло- гическими методами, должно служить разработке информационно более значимого суммарного сис- темного показателя, прогнозирующего формиро- вание и степень устойчивости толерантности реципи- ента к пересаженному органу.

В основу разработки суммарного системного прогностического показателя, как мы полагаем, должен быть положен принцип отбора показателей, характеризующих индивидуальный доминирую- щий стереотипный ответ на конкретный антиген (или антигены). Аналогом такого показателя может являться индекс отторжения при оценке пункции по Банфффу, который в баллах (от 0 до 9) характеризует степень серьезности отторжения по совокупности параметров воспаления, и это делает его пригодным для принятия решения [55]. Индекс отторжения ха- рактеризует уже сложившуюся ситуацию, тогда как индекс доминирующего индивидуального стерео-

типного ответа, или прогностический индекс, дол- жен оценивать риски отторжения у конкретного па- циента и быть основой прогноза. Поскольку вывод пациента на оперативную толерантность обычно осуществляют через несколько лет после переса- дки органа, то динамический анализ биомаркеров за весь период после пересадки, отражающий индиви- дуальную историю изменения иммунного статуса по аллоантигенам, должен стать основой составле- ния прогностического индекса.

2.3.2. Поиск информативных биомаркеров среди показателей адаптивного иммунитета для диагностики и прогнозирования судьбы трансплантата. Принцип функционального модуля

Поиск в крови информационных клеточных био- маркеров, позволяющих оценивать степень актив- ности эффекторных и регуляторных иммунных кле- ток в трансплантате, представляется в настоящее время достаточно сложной задачей, так как конт- роль этих клеток проводится на фоне длительного применения иммуносупрессорных препаратов, пре- вращающих воспаление (хроническое отторжение) в местный вялотекущий процесс. В таких условиях наибольшую информационную значимость приоб- ретают исследования по разработке функциональ- ного модуля.

Понятие функционального модуля было введено [56], когда стало очевидно, что прежняя теория ре- гуляции иммунного ответа, определяющую роль в которой играло отношение Th1/Th2-хелперов, рух- нула под напором новых фактов, полученных сов- ременными методами исследования. Субпопуляци- онный состав Т-хелперных клеток оказался намного больше, и возможно, что они еще не все охарактери- зованы к настоящему времени. Кроме того, в пуле Т-лимфоцитов, характеризуемых маркером CD4, в 1995 году была идентифицирована принципиально иная группа клеток, названных Т-регуляторы. Эти клетки ответственны за поддержание толерантно- сти, и в настоящее время их имеется уже несколько субтипов [57]. Лимфоциты с маркером CD8 и В-лим- фоциты сохраняют свои позиции основных эффек- торных клеток, однако появляется все больше работ о субпопуляциях среди этих клеток с регуляторны- ми свойствами [58]. Кроме того, среди лимфоцитов с маркером CD4 находят субпопуляции, имеющие в цитозоле гранзимы и перфорин [59], т. е. фактически CD4-киллеры. Все эти находки органично привели разработчиков функционального диагностического модуля [56] к возникновению потребности совмести- ть каждый фенотип Т-клеток или каждый Т-лим- фоцитарный модуль с выполняемой ими специфи- ческой функцией (реакцией) в иммунном ответе, обеспечивающей или регуляторную функцию (на-

пример, Т или В-лимфоцитарную помощь или супрессию), или эффекторную функцию против различных типов патогенов (инфекционных агентов) [56]. Описание функции каждого модуля потребовало включения молекулярных и клеточных характеристик его, в терминах поляризованных маркеров, таких как индуцирующие дифференцировку и созревание цитокины, факторы транскрипции, рецепторы хоуминга, клетки мишени, а также перекрестная связь с другими иммунными или тканевыми клетками. По мнению авторов, каждый из показателей, характеризующих функциональный модуль, является существенным для специфического типа иммунного ответа, и поэтому, как мы полагаем, может быть использован не только в борьбе с инфекциями.

Привлекательность идеи использования соотношения функциональных модулей в качестве биомаркеров при прогнозировании иммунных стереотипов и эффективном вмешательстве в трансплантологии очевидна, и современные методы позволяют это сделать. Цитофлуориметрически можно охарактеризовать четыре-пять функционально значимых молекул на поверхности клетки и количественно определить соотношение клеток в одной пробе крови. Технология получения антител на магнитных бусах (шприц с пробой крови помещается в кольцевой магнит, и клетки, прилипшие к стенкам, затем смываются) позволяет сделать процедуру определения модулей в пробе крови еще более точной за счет комплексной характеристики клеток методами цитофлуориметрии, ПЦР (в его пригодных для клинического использования вариантах, допустим, таких как Epigenetic Immune Lineage Analysis (EILA) [60] и ELISPOT, уже в конкретном пуле клеток. Очень привлекательна идея использовать маркеры хоуминга в конкретный регион (орган) организма, что позволяет отличать в крови лимфоциты из печени или почек от лимфоцитов кишечника [61]. Клеточные маркеры рецепторов к цитокинам, а также измерение внутриклеточно синтезирующихся цитокинов, могут также свидетельствовать о событиях в органе, так как характеризуют информационную среду в органе, где цитокины выделяются паракринно. Существование маркеров зрелости лимфоцитов, таких как CD45RO – маркер клеток памяти, CD45RA-маркера наивных лимфоцитов у человека, маркеров активности лимфоцитов, таких как CD25, или CD127-маркеров дендритных клеток и пр., позволяют приступить к реализации идеи создания протокольных биомаркеров – информативных иммуно-клеточных функционально-диагностических модулей, которые будут определять тактику ведения пациентов с пересаженным органом.

Став частью протокола ведения пациента на длительных сроках, эти диагностические и прогностические методы позволят снять постоянный стресс

«бессонных ночей» и у пациента, и у ведущего его врача.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Варианты иммунного реагирования, выявляемые при трансплантации органов, особенно на отдаленных сроках, являются результатом сочетанного воздействия индивидуально сложившихся наследственных характеристик индивида и прижизненного воздействия на него факторов внешней среды (*circulum vitae*). Под влиянием указанных причин в организме формируются индивидуальные специфические программы реагирования на аллоантигены, которые, используя естественные эволюционно выработанные активационные и тормозные механизмы, формируют различную степень устойчивости двух физиологических стереотипов «поведения иммунной системы» – эффекторного и толерогенного.

Для характеристики индивидуального доминирующего стереотипа и прогнозирования устойчивости, прежде всего толерантного стереотипа, предложено использовать показатели реактивности иммунной системы – консервативность и пластичность. Среди многочисленных диагностических маркеров, индивидуального доминирующего стереотипа наибольшую информационную значимость должны приобрести: биохимические маркеры, маркеры генной экспрессии, и маркеры функциональных клеточных модулей, связанных с регуляторным и эффекторным звеном в популяции CD4-T-лимфоцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sayegh M.H., Carpenter C.B.* Transplantation 50 Years Later – Progress, Challenges, and Promises. 2004 // *The New England Journal of Medicine*. 2004; 26; 351: 2761–2766. Phillip Scott 2005.
2. *Tryphonopoulos P., Ruiz P., Weppler D.* Long-term follow-up of 23 operational tolerant liver transplant recipients // *Transplantation*. 2010 Dec 27; 90 (12): 1556–1561.
3. *Hubscher S.* What Does the Long-Term Liver Allograft Look Like for the Pediatric Recipient? // *Liver Transplantation*. 2009; 15: S19–S24.
4. *Feng S., Ekong U., Lobritto D.* Complete Immunosuppression Withdrawal and Subsequent Allograft Function Among Pediatric Recipients of Parental Living Donor Liver Transplants // *JAMA*. January 18, 2012; 307 (3): 283–293.
5. *Sommerer C., Giese T., Meuer S., Zeier M.* Pharmacodynamic monitoring of calcineurin inhibitor therapy: Is there a clinical benefit? // *Nephro. Dial. Transplant*. 2009; 24: 21–27.
6. *Nafady-Hego H., Li Y., Ohe H., Zhao X., Satoda N.* The Generation of donor-specific CD4+CD25+CD45RA+ naive regulatory T-cells in operationally tolerant patients

- after pediatric living-donor liver transplantation // Transplantation. 2010; 90: 1547–1555.
7. *Girlanda R., Kirk A.D.* Frontiers in Nephrology: Immune Tolerance to Allografts in Humans // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; 18: 2242–2251.
 8. *Starzl T.E., Lakkis F.G.* The Unfinished legacy of liver transplantation // *Emphasis on Immunology Hepatology.* 2006; 43: 151–163.
 9. *Kryzhanovsky G.N.* The Basis of common pathophysiology. M.: Med. inform agency, 2011: 252.
 10. *Jin Bo, Sun Tao, Yu Xiao-Hong* The Effects of TLR Activation on T-Cell Development and Differentiation // *Clinical and Developmental Immunology 2012 Volume 2012, Article ID 836485:* 32.
 11. *Alegre M.-L., Goldstein D.R. and Chong A.S.* Toll-like receptor signaling in transplantation // *Curr. Opin. Organ. Transplant.* 2008 August; 13 (4): 358–365.
 12. *Louis J., Gumy A., Voigt H.* Experimental cutaneous Leishmaniasis: a powerful model to study *in vivo* the mechanisms underlying genetic differences in Th subset differentiation // *European J. of Dermatology.* 2002; 12 (4): 316.
 13. *Scott P.* Immunologic memory in cutaneous leishmaniasis // *Cell. Microbiol.* Dec. 2005; 7 (12): 1707–1713.
 14. *Okwor I., Liu D., Beverley S.M., Uzonn J.E.* Inoculation of killed *Leishmania major* into immune mice rapidly disrupts immunity to a secondary challenge via IL-10-mediated process // *PNAS.* 2009 August 18; 106 (33): 13951–13956.
 15. *Colpitts S.L., Scott P.* The early generation of a heterogeneous CD4+ T-cell response to *Leishmania major* // *J. Immunol.* 2010. August 15; 185 (4): 2416–2423.
 16. *Van Belle T.L., Coppieter K.T., Von Herrath M.G.* Type 1 Diabetes: Etiology, Immunology and Therapeutic Strategies // *Physiol. Rev.* 2011; 91: 79–118.
 17. *Heidt S., San Segundo D., Wood K.J.* The impact of TH17 cells on transplant rejection and the Induction of tolerance // *Curr. Opin. Organ. Transplant.* 2010. August; 15 (4): 456–461.
 18. *Seetharama A., Venkataswarup T., Mohanakumar T.* Alloimmunity and autoimmunity in chronic rejection // *Curr. Opin. Organ. Transplant.* 2010. August; 15 (4): 531–536.
 19. *Dudai Y.* Predicting not to predict too much: how the cellular machinery of memory anticipates the uncertain future // *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2009; 364: 1255–1262.
 20. *Gautier S.V.* Immunosuppression at transplantation of solid organs. M.: Triada, 2011: 470.
 21. *Zhai Y., Busuttill R.W. and Kupiec-Weglinski J.W.* Liver Ischemia and Reperfusion Injury: New Insights into Mechanisms of Innate-Adaptive Immune-Mediated Tissue Inflammation // *Am. J. Transplant.* 2011; 11: 1563–1569.
 22. *Mullally A., Ritz J.* Hematopoietic stem cell transplantation Beyond HLA: the significance of genomic variation for allogeneic // *Blood.* 2007, 15 February; 109, Number.
 23. *Keller M.R., Burlingham W.J.* Loss of tolerance to self after transplant *Semin Immunopathol.* 2011 March; 33 (2): 105–110.
 24. *Ford M.L., Kirk A.D., Larsen C.P.* Donor-Reactive T-Cell Stimulation History and Precursor Frequency: Barriers to Tolerance Induction // *Transplantation.* 2009 May 15; 87 (9 Suppl): S69–S74.
 25. *Krummey S.M., Ford M.L.* Heterogeneity within T-Cell Memory: Implications for Transplant Tolerance // *Front Immunol.* 2012; 3: 36–42.
 26. *D'Orsogna L.J., Roelen D.L., Doxiadis I.I.N., Claas F.H.J.* TCR cross-reactivity and allorecognition: new insights into the immunogenetics of allorecognition *Immunogenetics.* 2012; 64: 77–85.
 27. *Page A.J., Ford M.L., Kirk A.D.* Memory T-Cell-Specific Therapeutics in Organ Transplantation // *Curr. Opin. Organ. Transplant.* 2009 December; 14 (6): 643–649.
 28. *Augustinea J.J., Siua D.S., Clementeb M.J.* Pre-Transplant IFN- γ ELISPOTs Are Associated with Post-Transplant Renal Function in African American Renal Transplant Recipients // *Am. J. Transplant.* 2005; 5: 1971–1975.
 29. *Miller D.M., Thornley T.B., Greiner D.L., Rossini A.A.* Viral Infection: A Potent Barrier to Transplantation Tolerance // *Clinical and Developmental Immunology,* 2008, Article ID 742810, 14 pages doi:10.1155/2008/742810.
 30. *Benseler V., Warren A., Vo M.* Hepatocyte entry leads to degradation of autoreactive CD8 T cells // *PNAS.* October 4, 2011; 108 (40): 16735–16740.
 31. *Von Oppen N., Schurich A., Hegenbarth S.* Systemic Antigen Cross-Presented by Liver Sinusoidal Endothelial Cells Induces Liver-Specific CD8 T-Cell Retention and Tolerization // *Hepatology.* 2009; 49: 1664–1672.
 32. *Crispe N.I.* Liver Antigen-Presenting Cells // *Hepatology.* 2011 February; 54 (2): 357–365.
 33. *Jones N.D.* Memory T cells: How might they disrupt the induction of tolerance? // *Transplantation.* 2009 May 15; 87 (9 Suppl): S74–S77.
 34. *Pearl J.P., Parris J., Hale D.A.* Immunocompetent T-cells with a memory-like phenotype are the dominant-cell type following antibody-mediated T-cell depletion // *Am. J. Transplant.* 2005; 5: 465–474.
 35. *Ohe H., Waki K., Yoshitomi M.* Factors affecting operational tolerance after pediatric living-donor liver transplantation: impact of early post-transplant events and HLA match // *European Society for Organ Transplantation.* 2012; 25: 97–106.
 36. *Kurian S.M., Heilman R., Mondala T.S.* Biomarkers for Early and Late Stage Chronic Allograft Nephropathy by Proteogenomic Profiling of Peripheral Blood. *PLoS ONE.* July 2009; 4, Issue 7, e212, 1–11.
 37. *Demetris A.J., Lunz J.G., Randhawa P.* Monitoring of human liver and kidney allograft tolerance: a tissue/histopathology perspective 2008 European Society for Organ // *Transplantation.* 2009; 22: 120–141.
 38. *Reding R., Gras J., Truong D.Q.* The Immunological Monitoring of Alloreactive Responses in Liver Transplant Recipients: A Review // *Liver Transplantation.* 2006; 12: 373–383.
 39. *Najafian N., Albin M.J., Newell K.A.* How Can We Measure Immunologic Tolerance in Humans? // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: 2652–2663.
 40. *Martinez-Llordella M., Puig-Peya I., Orlando G.* Multiparameter Immune Profiling of Operational Tolerance in Liver Transplantation // *Am. J. Transplant.* 2007; 7: 309–319.

41. Perkins D., Verma M., Park K.J. Advances of genomic science and systems biology in renal transplantation: a review // *Semin. Immunopathol.* 2011; 33: 211–218.
42. Sigdel T.K., Sarwal M.M. Recent advances in biomarker discovery in solid organ transplant by proteomics // *Expert Rev. Proteomics.* 2011. December; 8 (6): 705–715.
43. Hibi T., Nishida S., Garcia J., Tryphonopoulos P. Citrulline Level Is a Potent Indicator of Acute Rejection in the Long Term Following Pediatric Intestinal/Multivisceral Transplantation // *Am. J. Transplant.* 2012; 12: S4. P. 27–32.
44. Siawaya J.F.D., Roberts T., Babb C. An Evaluation of Commercial Fluorescent Bead-Based Luminex Cytokine Assays. 2008 PLoS ONE 3 (7): e2535.
45. Mazariegos G.V. Immunosuppression withdrawal after Liver Transplantation; what are the next steps // *Transplantation.* 2011; 91: 697–699.
46. Бугров А.В. Клиническое значение лабораторных маркеров sCD30 и PAPP-A при трансплантации сердца: Автореф. дис. ... к. м. н. М., 2011: 26.
Bougrov A.V. Clinical importance of s CD 30 and PAAP-A markers at heart transplantation: Autoprecis of thesis ... on cand. med. sci. M., 2011: 26.
47. Орлова О.В. Роль маркеров воспаления, тромбообразования, неоангиогенеза и апоптоза в прогнозировании и развитии васкулопатии трансплантированного сердца: Автореф. дис. ... д. м. н. М., 2009: 50.
Orlova O.V. Role of markers of inflammation, trombosis, neoangiogenesis and apoptosis in prognostication of vasculopathy of transplanted heart: Autoprecis of thesis ... on doct. med. sci. M., 2009: 50.
48. Пищулин М. Диагностическое и прогностическое значение неоптерина и sCD30 при трансплантации печени: Автореф. дис. ... к. б. н. М., 2012: 25.
Pischulina M. Diagnostic and prognostic importance of neopterin and s CD-30 at liver transplantation: Autoprecis of thesis ... on cand. boil. sci. M., 2012: 25.
49. Шевченко О.П., Долгов В.В., Гичкун О.Е., Кунцевич Н.В., Цирульникова О.М., Готье С.В. Гомоцистеин при трансплантации печени детям раннего возраста // *Вестн. транспл. и искусств. орг.* 2012; (4): 44–47.
Shevchenko O.P., Dolgov V.V., Gichkun O.E., Kuncovich N.V., Tsirulnikova O.M., Gautier S.V. Homocysteine after liver transplantation in children // *Vestn. transpl. i iskus. org.* 2012; (4): 44–47.
50. Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Бугров А.В., Лурье Ю.Э., Цирульникова И.Е., Мнацаканян Д.С., Гичкун О.Е., Готье С.В. Инсулиноподобный фактор роста-1 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы // *Вестн. транспл. и искусств. орг.* 2012; (1): 50–55.
Shevchenko O.P., Tsirulnikova O.M., Bougrov A.V., Lourie Y.E., Tsirulnikova I.E., Mnatsakanyan D.S., Gichkun O.E., Gautier S.V. Insulin-like growth factor-1 after orthotopic liver transplantation in children with congenital and hereditary diseases of hepatobiliary system // *Vestn. transpl. i iskus. org.* 2012; (1): 50–55.
51. Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Гичкун О.Е., Макарова Л.В., Цирульникова И.Е., Ахаладзе Д.Г., Шмерко Н.П., Готье С.В. Прогностическое значение растворимой формы лиганда CD40 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы // *Вестн. транспл. и искусств. орг.* 2012; (2): 15–19.
Shevchenko O.P., Tsirulnikova O.M., Gichkun O.E., Makarova L.V., Tsirulnikova I.E., Akhaladze D.G., Shmerko N.P., Gautier S.V. Prognostic value of soluble CD40 ligand after liver transplantation in children with congenital and hereditary diseases of hepatobiliary system // *Vestn. transpl. i iskus. org.* 2012; (2): 15–19.
52. Kim K.H., Oh E.Y., Yung E.S. Evaluation of pre and post transplantation serum interferogamma and soluble CD30 for predicting liver allograft rejection // *Transplant. Proceed.* 2006; 38: 1429–1443.
53. Weimer R., Susal C., Ildiz S., Staak A., Pelzl S., Renner F., Dietrich H. Posttransplant sCD30 and neopterin as predictors of chronic allograft nephropathy: impact of different immunosuppressive regimens // *Am. J. Transplant.* 2006. Aug; 6 (8): 1865–1874.
54. Крыжановский Г.Н. Основы общей патофизиологии. М.: Мед. информ. агентство, 2011: 252.
Kryzhanovsky G.N. Bases of the general pathophysiology. M.: Med. inform. agency, 2011: 252.
55. Virmani R., Kolodgie F.D., Burke A.P. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage // *Arterioscler. thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 2054–2061.
56. Adeyi O., Fischer S.E., Guindi M. Liver allograft pathology: approach to interpretation of needle biopsies with clinicopathological correlation // *J. Clin. Pathol.* 2010; 63: 47–74.
57. Sallusto F., Lanzavecchia A. Heterogeneity of CD4 memory T-cells: Functional modules for tailored immunity // *Eur. J. Immunol.* 2009; 39: 2076–2082.
58. Sakaguchi S., Wing K., Miyara M. Regulatory T-cells – a brief history and perspective // *Eur. J. Immunol.* 2007; 37: S116–123.
59. Frommer F., Heinen T.J., Wunderlich T. Tolerance without Clonal Expansion: Self-Antigen-Expressing B-Cells Program Self-Reactive T-Cells for Future Deletion // *The Journal of Immunology.* 2008; 181: 5748–5759.
60. Marshall N.B., Swain S.L. Cytotoxic CD4 T-Cells in Antiviral Immunity // *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* 2011; 2011. Article ID 954602: 8.
61. Janson P.C., Linton L.B., Bergman E.A., Marits P. Profiling of CD4+ T-cells with epigenetic immune lineage analysis // *J. Immunol.* 2011. Jan 1; 186 (1): 92–102.
62. Schrage A., Wechsung K., Neumann K. Enhanced T-Cell Transmigration Across the Murine Liver Sinusoidal Endothelium Is Mediated by Transcytosis and Surface Presentation of Chemokines // *Hepatology.* 2008; 48: 1262–1272.