

БАЛАНС ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК ПАМЯТИ КАК ОСНОВА ВЫРАБОТКИ УСТОЙЧИВОЙ ИММУННОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ ПРИ ПЕРЕСАДКЕ ОРГАНОВ (АНАЛИЗ ПРОБЛЕМЫ НА ПРИМЕРЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ)

Артамонов С.Д., Великий Д.А., Онищенко Н.А., Башкина Л.В., Никольская А.О., Крашенинников М.Е., Иванов И.М.

ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова»
Минздравсоцразвития России, г. Москва

В статье представлен анализ механизмов и способов выработки иммунной толерантности в организме при воздействии антигенных нагрузок различной природы.

Показано, что состояние устойчивой толерантности достигается путем воссоздания баланса взаимодействия эффекторных и регуляторных клеток во врожденной и адаптивной иммунной системе. Однако из-за высокого риска отторжения трансплантата при разных способах выработки толерантности возникает необходимость разработки надежных диагностических и прогностических методов контроля уровня и степени индивидуальной устойчивости толерантности.

Ключевые слова: острое и хроническое отторжение, иммунная толерантность, аллотрансплантация.

THE BALANCE OF EFFECTORY AND REGULATORY MEMORY CELL INTERACTIONS AS A BASE FOR PRODUCING OF STEADY IMMUNE TOLERANCE STATE AFTER ORGAN TRANSPLANTATION (ANALYSIS OF PROBLEM AT THE LIVER TRANSPLANTATION EXAMPLE)

Artamonov S.D., Velikiy D.A., Onischenko N.A., Bashkina L.V., Nikolskaya A.O., Krashennnikov M.E., Ivanov I.M.

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

In this article the main mechanisms and methods of immune tolerance producing under influence of different antigenic loads in organism were considered.

It was shown that the state of steady tolerance was produced by making the balance of effectory and regulatory cell interactions into innate and adaptive immunities. But because of a high risk of transplant rejection at different methods of tolerance producing it is necessary to work out safe diagnostic and prognostic methods for controlling of an individual level and power tolerance stability.

Key words: acute and chronic rejection, immune tolerance, allotransplantation.

Статья поступила в редакцию 05.03.12 г.

Контакты: Великий Дмитрий Алексеевич, к. м. н., научн. сотр. лаб. биотехнологии стволовых клеток.

Тел. 499 190 45 31, e-mail: dim_vel@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Стратегия иммунологической защиты трансплантата при выработке устойчивой толерантности опирается на современные представления о механизмах селективности выбора организмом амплитуды и мощности реакции на антиген, являющихся основой иммунной регуляции. Селективность иммунных реакций обеспечивается включением значительного количества сетей распознавания антигена во врожденной и адаптивной подсистемах иммунитета. Взаимодействие врожденных и адаптивных реакций определяет судьбу каждого антигена путем формирования и сохранения в организме основных параметров ответа на него в виде определенного стереотипа, основу которого составляют взаимодействия многочисленных эффекторных и регуляторных клонов лимфоцитов, в том числе лимфоцитов иммунологической памяти.

Пересадка органа характеризуется привнесением в организм значительного количества так называемых аллогенных антигенов, способных при недостаточной иммуносупрессии вызывать развитие острого или хронического отторжения – эффекторного ответа иммунной системы реципиента – и приводить к образованию соответствующих клонов клеток памяти. Иногда возможна предсуществующая сенсибилизация организма аллоантигенами, и тогда эффекторные клетки памяти уже имеются, и они способны организовать сверхострое отторжение органа. В течение жизни реципиента после пересадки, даже в том случае, когда в результате адекватной иммуносупрессии клетки памяти к аллоантигенам не образовались, нагрузка организма чужеродными (ксеногенными) белками (вирусы, бактерии, грибы или просто всасываемые в кишечнике пищевые белки) может в результате эффекторной реакции на них приводить к образованию лимфоцитарных клонов, способных перекрестно распознавать в том числе и клетки трансплантата [25, 28], вызывая реакцию острого либо, после образования клеток памяти, хронического отторжения. Все эти процессы весьма вероятны и практически всегда реализуются в посттрансплантационном периоде. Однако оказалось, что при отмене иммуносупрессивных препаратов, на достаточно поздних сроках после трансплантации, орган отторгается не у всех и значительный процент пациентов, например с пересадкой печени, может продолжать жить без иммуносупрессии (до 20%). На свойстве организма самостоятельно предотвращать острое и хроническое отторжение аллогенного органа, используя те же самые наборы клонов клеток иммунологической памяти в условиях постоянной антигенной нагрузки, исходящей из самого трансплантата и сопутствующих экологических факторов, основана стратегия выработки иммунологической защиты трансплантата.

1. Практические результаты выработки устойчивой иммунной толерантности к трансплантату печени в клинике

Выработкой устойчивой толерантности по разработанному протоколу (протокол основан на постепенном снижении доз иммуносупрессивных препаратов и последующем полном отказе от их применения) давно и серьезно занимаются два трансплантационных центра: Центр, возглавляемый Т. Старзлом, в Питтсбурге (США), и Университет в Киото (Япония). Совместно у них под наблюдением находится порядка 150 больных, из которых более 100 реципиентов – дети со спонтанной толерантностью к трансплантату печени и максимальным сроком жизни более 30 лет.

По результатам трансплантационного центра в Питтсбурге из группы пациентов, оперированных в период с 1966-го по 1981 год ($n = 210$), более 25 лет прожили 35 больных, из которых практически у половины (16 пациентов) возникла спонтанная толерантность [39]. Центр в Киото располагает опытом наблюдения за 87 пациентами с толерантностью к трансплантату печени, из которых 54 перед началом выработки толерантности находились на протокольном приеме иммуносупрессивных препаратов, а у 33 иммуносупрессия была отменена в результате развития инфекционных осложнений [15].

По результатам этих наблюдений было констатировано, что процент реципиентов, способных выйти на толерантность, среди детей достигает порядка 40% [29, 43], тогда как процент выхода на толерантность у взрослых реципиентов, отобранных по жестким критериям (отсутствие аутоиммунных заболеваний у реципиента, стабильный без осложнений посттрансплантационный период в течение длительного срока (до нескольких лет) и т. п.), составляет примерно 20% [10, 22]. В других центрах имеются единичные наблюдения спонтанной толерантности у реципиентов, которая диагностировалась либо при отмене иммуносупрессии по показаниям, либо при несоблюдении режима иммуносупрессии самим больным. Всего в мире на сегодняшний день живет более 200 реципиентов печени без применения иммуносупрессии [31]. При неудаче выведения больного на устойчивую толерантность к трансплантату, по данным вышеуказанных центров, практически всегда удается сохранить трансплантат, вернув больного на медикаментозную иммуносупрессию [39].

Ниже приводим описание конкретного примера успешного выведения реципиента на устойчивую толерантность после трансплантации аллогенной печени, выполненной в трансплантационном центре г. Питтсбурга после гепатэктомии по поводу опухоли печени (гемангиоэндотелиома). Перед реваскуляризацией трансплантата больная получила анти-

тимоцитарный глобулин (ATG, или thymoglobulin) в дозе 5 мг/кг. Далее больная была переведена на ежедневную терапию Tacrolimus (ТАС) по протоколу. На 100-е сутки после трансплантации ежедневную дозу ТАС стали применять через день, а с 10-го месяца перешли на применение ТАС 1 раз в неделю. Через 22 месяца после пересадки у больной была отменена медикаментозная иммуносупрессия, и без иммуносупрессии больная живет уже более 11 лет. Билирубин сыворотки крови и другие показатели функции паренхиматозных клеток печени в течение всего срока наблюдения оставались в пределах нормы. Значение печеночных ферментов в крови (SGOT – сывороточная глутаминово-щавелево-уксусная трансаминаза; GGTP – гамма-глутамил-транспептидаза) были устойчивы, но колебались в верхнем диапазоне нормальных значений или даже немного превышали его, начиная с 6-го месяца, когда путем биопсии трансплантата был диагностирован криз отторжения, потребовавший применения метилпреднизолона в дозе 1 г (стероидная болюсная терапия). В последующих биоптатах, полученных через 12 и 22 месяца после трансплантации, кризы отторжения (клеточная инфильтрация) не диагностировались, и иммуносупрессивная терапия была отменена [39].

Клинические наблюдения, таким образом, подтверждают возможность выработки иммунной толерантности в организме к пересаженной печени, и одновременно они позволили сформулировать ряд общепризнанных закономерностей, сопутствующих ее выработке:

- изменение анатомических условий регуляции гомеостаза в пересаженной печени (в том числе и иммунного), вызванных денервацией органа, изменением нормальной циркуляции лимфоидных клеток (в связи с иссечением анатомических путей лимфооттока от органа) и т. п., не служит принципиальным препятствием для развития спонтанной иммунной толерантности и длительного сохранения параметров структуры и функции органа на уровне, близком к нормальному;
- иммунная толерантность к аллоантигенам ткани печени может сохраняться длительно и стабильно, без участия центральных (тимусных) механизмов селекции наивных лимфоцитов реципиента, специфичных по аллоантигенам;
- фоновые и пиковые антигенные нагрузки, способные вызвать процессы воспаления в печени, могут эффективно контролироваться (супрессироваться) регуляторными клетками памяти реципиента, специфичными по аллоантигенам донорской печени (возможно также и другими, не до конца пока понятыми механизмами иммунной регуляции);
- медикаментозная иммуносупрессия, обязательная для лечения пациента на ранних сроках после пересадки органа, не является принципиально необходимой на более поздних сроках после пересадки печени, по крайней мере, для значительной части пациентов; однако для отбора больных на отмену медикаментозной иммуносупрессии отсутствуют четкие прогностические критерии.

Очевидно также, что выбор организмом типа иммунологической реакции (отторжение или толерантность) определяется конкретной ситуацией в конкретный момент, а длительное сохранение выбора определяется механизмами иммунологической памяти. Эти механизмы вполне можно использовать в клинической практике для выработки толерантности, и такая стратегия получила название window of opportunity for immune engagement (WOFIE), что означает «использование благоприятного периода для иммунокорректирующего вмешательства» [22].

Опора на «пожизненный костыль» иммуносупрессии как общепринятая практика регуляции аллоиммунитета, по мнению Starzl, Lakkis (2006), не единственная возможность избежать отторжения пересаженного органа для всех реципиентов, так как возможности системы гомеостатической регуляции в организме, выработанные в филогенезе и онтогенезе, способны обеспечивать иммунный баланс без приема иммуносупрессоров, подобно тому как это происходит каждодневно в организме большинства людей [39].

Однако возможно ли на практике обеспечить высокую степень надежности и устойчивости спонтанной толерантности при пересадке печени, должно показать время. На настоящий момент заложено до десятка программ и в США, и в Европе, по которым толерантность при пересадке печени создается и исследуется под повышенным клиническим контролем, способным предотвратить возможные осложнения [22].

2. О механизмах и способах выработки состояния иммунной толерантности в организме при воздействии антигенных нагрузок различной природы

2.1. Воздействие аутоантигенов апоптотической гибели клеток (аутоантигенные белки)

В организме в процессе жизнедеятельности происходит постоянное обновление клеток различных тканей. В окончившей свой срок жизни клетке, а также при развитии ее дистрофии вырабатывается состояние апоптоза, которое приводит к синтезу и презентации на поверхности этих клеток соответствующих апоптозных белков. При распознавании их незрелыми дендритными клетками и при последующем фагоцитозе апоптозных клеток обычно вырабатывается

состояние толерантности к содержащимся в апоптозных структурах антигенам, так как дендритные клетки презентуют эту информацию соответствующим наивным Т-лимфоцитам, которые превращаются в регуляторные Т-клетки (Трег), ответственные за толерантность. Врожденная иммунная система, к которой относятся и макрофаги, и дендритные клетки, при такой ситуации в отсутствии некроза и вирулентных ксеноантигенов не выделяет соответствующих провоспалительных сигналов, давая таким образом добро на реакцию толерантности и поддержание необходимого количества Т-регуляторных клеток иммунологической памяти [26, 50].

Эффекторные реакции лимфоцитов адаптивной иммунной системы, которые при воспалении заканчиваются клеточным апоптозом, также могут служить сигналом к активации регуляторных клеток, способствующих завершению эффекторной реакции и переходу к этапу регенерации с восстановлением состояния толерантности (спокойного состояния). Окончательный спектр сигналов, возникший на регенерационное ремоделирование обновляющейся ткани, будет определять выраженность восстановительных процессов в ткани и процессов ее фиброобразования. Апоптоз, по-видимому, способствует восстановительной регенерации, некроз, как известно, обычно ведет к развитию соединительной ткани, то есть к заместительной регенерации [12, 23, 24, 41, 44, 51].

2.2. Воздействия аутоантигенов некротической гибели клеток и ксенопатогенов среды обитания, контролируемых врожденной системой иммунитета

Врожденная система иммунитета в процессе эволюции выработала способность неспецифически реагировать на два основных фактора, поставляющих антигены – разрушение собственных клеток путем некроза и появление особого типа молекулярных структур вирулентных ксенопатогенов: флагелин жгутиковых, ДНК и РНК вирусов, липополисахариды (ЛПС), а также липопротеины бактерий, вирусов, грибов и т. п. Появление в организме этих факторов распознается рецепторами врожденной системы антигенпрезентирующих клеток (АПК), а также рецепторами специализированных клеток, контактирующих с внешней средой (кератиноциты кожи, эпителий дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта). Распознавание рецепторами этих факторов приводит к активации сигнальных метаболических путей в тех же специализированных клетках и синтезу в них соответствующих провоспалительных цитокинов.

На рисунке для примера представлена схема активации рецепторного аппарата кератиноцитов кожи – важнейшей системы защиты организма от проникновения в него ксенопатогенов.

Из рисунка видно, что Толл-подобные рецепторы (TLR) врожденной системы присутствуют

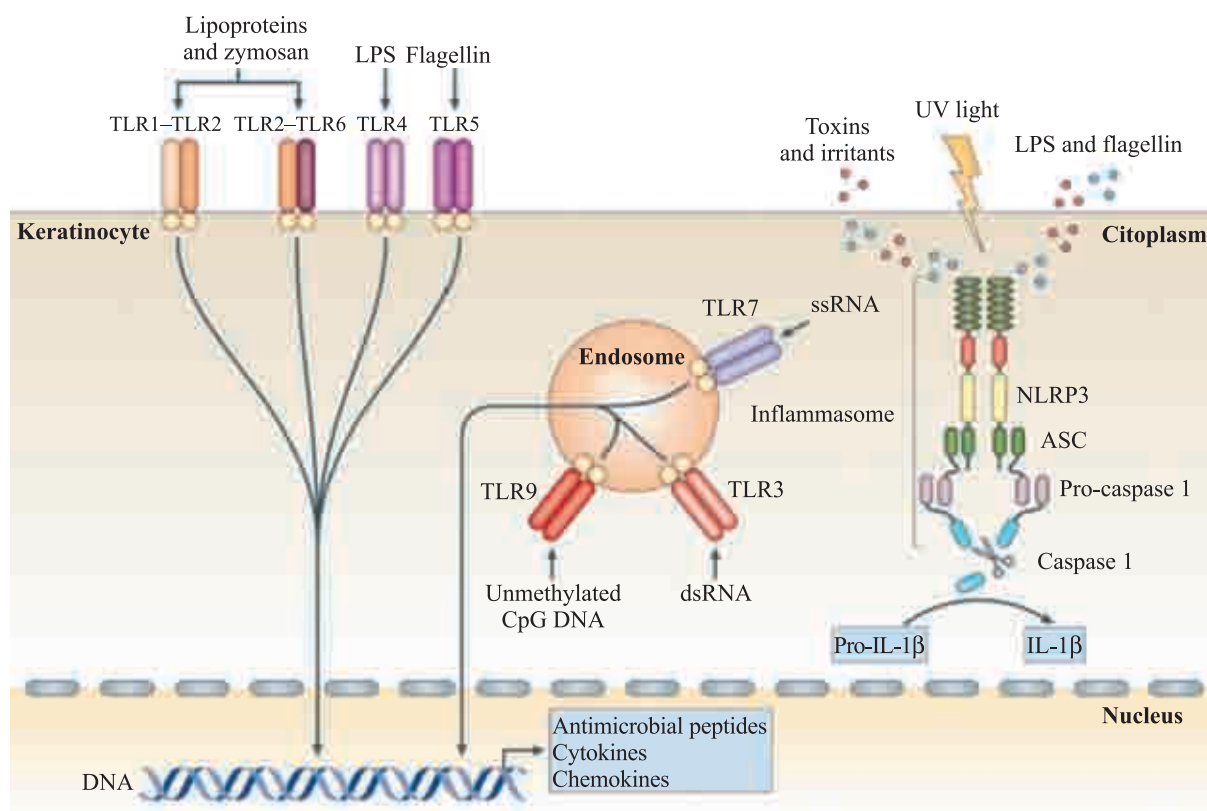


Рис. Схема рецепторного аппарата и сигнальных метаболических путей, активирующихся в кератиноците при воздействии ксенопатогенов [30]

на наружной поверхности кератиноцитов и на поверхности ее эндосомальных компартментов. Распознавание этими TLR патогенов – биополимеров микробного, вирусного и паразитарного происхождения (ЛПС, флагелин и т. п.), а также токсинов активирует в клетке сигнальные метаболические пути, которые формируют запуск врожденных и адаптивных иммунных ответов с участием антимикробных пептидов, цитокинов и хемокинов. Выработке провоспалительных цитокинов в клетке способствует также экспрессия генов семейства ядерноподобных рецепторов NLR. Образующиеся NLRP3 белки в составе мультимерного комплекса, так же как TLR, выявляют молекулярные системы микробного происхождения в цитоплазме, что активирует ферменты – инфламасому и прокаспазу-1 с образованием каспазы-1, которая превращает проинтерлейкин-1 β (про-ИЛ-1 β) в биологически активный интерлейкин-1 β [30].

При распознавании ксенопатогена, а тем более, если оно усилено повреждением и некрозом клеток, начинают работать эффекторные механизмы. Часть этих механизмов, в частности выработка провоспалительных цитокинов, приводит к созреванию дендритных клеток, которые при поступлении в ближайший лимфоузел начинают интенсивно формировать эффекторный ответ адаптивной системы, презентирова антигены – пептиды биополимеров патогена в комплексе с молекулой HLA T-рецепторам наивных CD4 и CD8 T-лимфоцитов в соответствующих T-зонах селезенки и лимфоузлов [48]. В результате иммунной реакции происходит пролиферация лимфоцитов, их созревание и поступление через кровеносную систему в ткань (хоуминг), подвергшуюся инфицированию, с развитием на месте специфического эффекторного ответа на патоген. Реакция заканчивается гибелью патогена и образованием соответствующих лимфоцитов памяти, часть из которых длительно в течение примерно полугодия патрулируют соответствующие ткани (так называемые эффекторные клетки резидентной памяти). Другая часть лимфоцитов (лимфоциты центральной памяти) остается в лимфоузле в соответствующей «нише», и может жить там неопределенно долго, давая при повторной антигенной стимуляции начало новому пулу резидентных лимфоцитов памяти [42]. При вторичном ответе, допустим, на проникновение вируса гриппа, резидентные T-лимфоциты памяти и долгоживущие тканевые плазматические клетки слизистой, организуя быструю эффекторную реакцию в ткани подслизистой оболочки, выбивают зараженные клетки эпителия слизистой апоптозом, поэтому никакой клинической реакции врожденной системы на месте входных ворот (насморк, кашель и пр.) не наступает, болезнь не диагностируется. Примерно

такая же реакция происходит на поздних сроках после трансплантации органа при спровоцированном вирусом (или другим патогеном) хроническом отторжении, когда клоны лимфоцитов, образовавшиеся как реакция на вирус, при перекрестном распознавании соответствующих антигенов на молекулах HLA I клеток пересаженного органа образуют резидентные клетки памяти, которые распознают клетки аллогенной печени как зараженные вирусом и уничтожают их [32]. При пункционной биопсии печени в таких случаях обнаруживаются в пределах портальной триады и эпителия желчных протоков не только зрелые T-лимфоциты и плазмциты, но и бластные формы, которые при делении могут образовывать эффекторные клетки резидентной памяти [3]. С другой стороны в процессе эволюции ряд микроорганизмов – такие как бактерии комменсалы кишечника, условно патогенные вирусы типа вируса Эпштейна–Барр и т. п. – обеспечили свое выживание, используя возможности системы толерантности организма, вплоть до привлечения клеток регуляторной памяти [16].

Для того чтобы оптимизировать отношения со средой обитания, непрерывно поставляющей антигены, в организме существует мощная система регуляции амплитуды и силы эффекторного ответа, участники которой также способны образовывать клетки памяти. Ключевыми клетками этой системы являются так называемые T-регуляторные лимфоциты (Трег), которые могут регулировать в том числе и количество и активность клеток эффекторной памяти [17, 35]. По тем же принципам они селективно блокируют избыточные ответы либо даже запрещают их. Баланс эффекторной и регуляторной систем – основа нормального функционирования организма и сохранения его иммунного гомеостаза. Организм таким образом индивидуально в процессе жизни выбирает себе «друзей» и «врагов», формируя соответствующие «библиотеки» иммунной памяти, что предопределяет успешность его существования в соответствующей экологической среде.

2.3. Воздействие аллоантигенов трансплантированных органов, контролируемых адаптивной системой иммунитета.

Для оптимизации условий выработки толерантности к аллоантигенам требуется понимание роли всех патогенетических факторов, участвующих в отторжении аллогенных органов.

2.3.1. Принципы распознавания аллоантигенов

Рецепторы распознавания во врожденной системе иммунитета взаимодействуют с конкретным набором молекул биополимеров в структурах патогенов. В адаптивной системе рецепторы распознают белки. Принцип работы этих рецепторов на B-лимфоцитах

не отличается от принципа распознавания антигенных детерминант на молекулах белка антителами, синтезируемыми плазматическими клетками. Практическое использование моноклональных антител показало огромные возможности такого распознавания, так как моноклональные антитела можно вырабатывать практически к любому белку за счет рекомбинации генов легких цепей иммуноглобулинов при образовании В-лимфоцитов в костном мозге. При делении взрослых форм В-клеток специфичность антител сохраняется, что позволяет получать их в большом количестве. Очень сложны и не до конца понятны механизмы регуляции антителообразования к собственным белкам организма, однако считается, что помимо изначальной селекции антител в костном мозге основную роль в этом процессе играют CD4 Т-лимфоциты хелперы [1].

Принципы работы Т-рецепторов на Т-лимфоцитах близки к таковым у В-лимфоцитов, причем рекомбинация генов при образовании Т-клеток также создает практически неограниченное количество вариантов их распознающей части. Однако в отличие от рецепторов В-лимфоцитов Т-рецепторы распознают только молекулы HLA в комплексе с презентуемым антигенным пептидом [14]. Количество таких пептидов, которые могут распознаваться молекулами HLA в антигенпрезентирующих клетках (АПК) и презентироваться ими Т-лимфоцитам, на порядки меньше разнообразия самих Т-рецепторов. Поэтому возникает ситуация, когда одна и та же молекула HLA в комплексе с пептидом на поверхности АПК (рецептор АПК), распознает (активирует) значительное количество разных Т-лимфоцитарных клонов. Эти клоны различаются степенью сродства к рецептору АПК, что определяется как аффинность. Только в учебниках один рецептор Т-лимфоцитов распознает один рецептор на антигенпрезентирующей клетке. В реальности существуют поля рецепторов на лимфоците и антигенпрезентирующей клетке, которые составляют тысячи, а иногда и десятки тысяч молекул, образующих между собой контакты, причем более выраженные контакты создают рецепторы с высокой аффинностью [34, 36]. Чем выше активность лимфоцитов и степень зрелости дендритных клеток, тем обширнее рецепторные поля, тем выше вероятность, что сработают и менее аффинные лимфоциты (регуляция амплитуды и мощности иммунного ответа). Активность участников иммунного процесса определяется также микроокружением, в основном спектром провоспалительных цитокинов, которые поставляют клетки врожденной иммунной системы. Цитокиновое окружение также регулируется Т-лимфоцитами хелперами, имеющими поверхностные маркеры CD4.

Селекция, которая осуществляется тимусом, отбирает Т-лимфоциты по двум параметрам: по

способности распознать рецептор HLA (положительная селекция, определяющая профессиональную пригодность клеток) и на следующем этапе по способности не распознавать презентируемые на антигенпрезентирующих клетках пептиды из собственных белков организма (отрицательная селекция, выбивающая лимфоциты, способные вызвать аутоиммунное повреждение). Низкоаффинные к собственным антигенам Т-лимфоциты поступают в кровотоки и носят название наивных лимфоцитов. Они образуют репертуар Т-лимфоцитов данного конкретного человека. Следовательно, репертуар Т-лимфоцитов полностью зависит от присущих данному человеку комплексов молекулы HLA с антигенным пептидом (рестрикция по HLA) [11]. Данный механизм носит название центральной (тимусной) толерантности.

2.3.2. Причины развития острого отторжения аллогенных органов. Возможности выработки толерантности

Активация прямого метаболического пути.

Разные люди обладают различающимся набором генов главного комплекса гистосовместимости (МНС), и поэтому их молекулы HLA на АПК имеют различную форму распознающей части, и соответственно, различные антигенные пептиды презентуются Т-клеточному рецептору.

Только у людей с аналогичными генами МНС, определяющими синтез соответствующих молекул белков HLA, репертуар аутоантигенных белков, из которых путем процессинга в АПК образуется репертуар презентуемых на молекулах HLA аутоантигенных пептидов, совпадает. Структурно и функционально белки у всех людей внутри вида практически одинаковы (об исключениях см. ниже), но аутоантигенные свойства белков и получаемых из них пептидов, зависящих от набора генов МНС, разные. Это положение иллюстрирует известная ситуация с «лимфоцитами-пассажирами», при которой дендритные клетки донора вместе с пересаживаемым органом попадают в организм реципиента и мигрируют в лимфатические узлы хозяина. Там путем процессинга белков реципиента дендритные клетки образуют аллоантигены, привычно используя аналогичные белки, которые являются аутоантигенными для донора. По образующимся аллоантигенам (по крайней мере, по значительной их части) тимусной селекции в организме реципиента не происходит, и поэтому значительная часть циркулирующих наивных Т-лимфоцитов реципиента (до 10%) оказывается высокоаффинной к комплексу HLA донора плюс аллогенный пептид на АПК донора. Такой путь активации иммунного ответа приводит к острому отторжению органа, и его принято называть прямым метаболическим путем.

Через несколько месяцев при адекватной иммуносупрессии дендритные клетки донора исчезают из организма реципиента из-за окончания срока их жизни, и наивным лимфоцитам реципиента, способным распознать молекулы HLA на донорских АПК, некому представить аллоантигены – прямой метаболический путь перестает функционировать. Это означает, что клетки аллогенного донорского органа со временем становятся источником в основном не алло-, а только аутоантигенов для дендритных клеток реципиента, у которых существует рестрикция по HLA (центральная толерантность). Пересаженный орган по основной массе антигенов перестает быть «чужим» и становится полноценно ауто толерантным.

Из практики пересадки печени у детей следует, что суммарная вероятность острого отторжения трансплантата печени достигает 50,6% в течение года и 56,1% в течение двух лет [9].

У взрослых средняя вероятность эпизодов острого отторжения (в условиях стандартной иммуносупрессии) также оценивается в этих сроках приблизительно в 50% [10, 20], причем основная часть эпизодов острого отторжения у них, так же как у детей, происходит в течение первых 3 месяцев.

Факторы, провоцирующие развитие острого отторжения

Клинический опыт показывает, однако, что вышеприведенные цифры вероятности возникновения эпизодов отторжения преимущественно на ранних сроках после трансплантации справедливы лишь при условии, что в организме реципиента не осталось соответствующих резидентных лимфоцитов памяти, которые способны мигрировать в ткань донорского органа и использовать в качестве АПК уже не дендритные клетки или другие лейкоциты донора, которые элиминированы, а факультативные АПК ткани донорского органа (обычно это эндотелий сосудов и эпителий желчных протоков), обновление которых идет за счет стволовых/прогениторных клеток донорского органа [1, 7, 41, 44].

Кроме того, при пересадке печени собственные регионарные лимфоузлы органа утрачиваются (анатомически они расположены вне печени), и миграция дендритных клеток и других лейкоцитов донора происходит из-за нарушения лимфодренажа, ретроградно через сосудистое русло во все лимфоузлы и селезенку [8], способствуя генерализации сенсibilизации организма к аллоантигенам [47]. Сенсibilизация реципиента к аллоантигенам сопровождается созреванием и повышением активности дендритных клеток из ткани трансплантатированной печени, особенно на ранних сроках после операции. Этому способствует также выброс провоспалительных цитокинов, вызванный серьезной

хирургической травмой, ишемией и реперфузионным повреждением трансплантата, что при отсутствии иммуносупрессии приводит к неминуемому острому отторжению. Между тем, известно, что у грызунов трансплантированная печень не отторгается, и это связывают с тем, что у них, как и у людей, дендриты в печени находятся преимущественно в незрелом состоянии, но при выходе из печени они в отличие от людей по каким-то причинам не созревают и не участвуют в развитии иммунного ответа в остром периоде, способствуя возникновению у грызунов толерантности к печеночным аллоантигенам. Введение животным в эксперименте дендритных клеток из печени, у которых ингибировано созревание (толерогенные дендритные клетки), обеспечивает возможность приживания у них не только печени, но и других органов от того же донора, например сердца [45]. Аналогичные эффекты наступают при введении толерогенных дендритных клеток, полученных по определенной технологии из предшественников клеток костного мозга донора [27]. В клинике подобные технологии, как известно, применялись до появления современной иммуносупрессивной терапии, но в связи с их слабой технологичностью (введение просто мононуклеарных клеток крови донора) и слабой предсказуемостью результата в острый период эти технологии постепенно ушли в историю [39]. Тем не менее в Питтсбурге в прошлом году группа исследователей продолжила испытания эффекта толерогенных дендритов на приматах в острый период [45]. В настоящее время практическое применение толерогенных дендритных клеток в остром (раннем) посттрансплантационном периоде остается ограниченным из-за недостаточной надежности метода в сравнении с методами современной медикаментозной иммуносупрессии. Наоборот, в позднем периоде (через год или несколько лет) применение толерогенных клеточных технологий может способствовать решению многих проблем, связанных с выработкой устойчивой толерантности. В первую очередь терапия толерогенными дендритными клетками донора может оказаться полезной при пересадке печени от живого донора, поскольку отсутствует проблема длительного хранения дендритных клеток для применения их в нужный момент.

Дискуссионной остается проблема влияния ранних иммунологических осложнений, возникших в течение первых 3–6 месяцев после трансплантации, на развитие толерантности в отдаленном периоде [3]. К таким осложнениям относят инфекцию, онкологические заболевания, в частности лимфопролиферативные процессы разной степени тяжести, и острое отторжение. При пересадке печени эти осложнения являются основной причиной смертности или потери трансплантата [9]. Инфек-

ция и лимфопролиферативные заболевания служат основной причиной отмены медикаментозной иммуносупрессии, однако примечательно, что именно вынужденная отмена иммуносупрессии при развитии тяжелых инфекций привела к пониманию отсутствия необходимости осуществления постоянной иммуносупрессии. Так, в работе Питтсбургской группы, вышедшей в 1994 году [19], приводятся данные по 31 пациенту с тяжелыми инфекционными осложнениями, возникшими в среднем через 140 дней после трансплантации печени и потребовавшими отмены иммуносупрессии. Тринадцать из этих пациентов умерли от осложнений, связанных с инфекцией; оставшиеся восемнадцать длительно (в течение нескольких недель) жили без иммуносупрессии, и только у двоих отмечались признаки хронического отторжения. Все реципиенты были возвращены на иммуносупрессию по мере нормализации состояния. Результаты этих наблюдений послужили основанием для прецизионного изучения возможности выведения на толерантность пациентов с пересаженной печенью. Итоги проведенного исследования представлены в работе Mazariegos et al. (1997), из которой следует, что перенесенная инфекция не является противопоказанием для выведения больных на толерантность [21].

Еще более важным нам представляется получение ответа на вопрос о возможности формирования состояния толерантности у больных, перенесших острые ранние или поздние кризы отторжения, которые ведут к образованию клеток памяти к аллоантигенам. Для пересадки почки показано, что при трансплантации органа от живого донора частота развития хронического отторжения составляет 0,8% среди реципиентов без эпизодов отторжения и 20 и 43% для тех, кто перенес острое отторжение в сроках до и после 60 дней трансплантации органа соответственно. При трансплантации трупной донорской почки частота развития хронического отторжения в аналогичных группах составляла 0, 36, и 63% соответственно [49]. Приведенные цифры свидетельствуют о длительной сохранности образовавшихся клеток иммунологической памяти при трансплантации, несмотря на проводимую иммуносупрессию. В то же время приведенный выше пример выведения на толерантность пациентки с пересаженной печенью (см. раздел 1 настоящей статьи) показывает, что, несмотря на случившийся эпизод острого отторжения, у нее выработалось состояние устойчивой толерантности, и этот факт свидетельствует о возможности регуляции функции эффекторных клеток памяти, по крайней мере, в случае пересадки печени. Сохранность эффекторных клеток иммунологической памяти после острого периода является одним из критических рисков при проведении процедур выведения на толерантность.

Из вышеизложенного следует, что технология выведения больных на толерантность путем постепенной отмены иммуносупрессии нуждается в методах контроля и нейтрализации возможного негативного эффекта ее на пациента.

2.3.3. Причины хронического отторжения аллогенных органов. Возможности выработки толерантности

Активизация непрямого метаболического пути как основной механизм развития хронического отторжения

Вышеуказанное утверждение, что белки тканей у людей внутри вида практически не различаются, имеет ряд исключений. Генетические различия выражаются цифрами порядка 0,1% всего генетического материала (без учета ситуации с различиями по полу). Это могут быть единичные замены аминокислот в схожих белках, замена отдельных фрагментов первичной структуры белков или даже отсутствие белка целиком в результате делеции гена. Примерами могут служить отрицательный резус-фактор или нулевая группа крови. Если такой белок донора, который отличается от белка реципиента или которого у реципиента нет, презентуется молекулами HLA на АПК реципиента в результате его процессинга этими клетками (приобретение аутоантигенных свойств), а рестрикции в тимусе соответствующих клонов Т-лимфоцитов по данному антигену нет, то у реципиента начинается развитие эффекторной реакции, приводящей к хроническому отторжению. Фактически возникает ситуация, схожая с аутоиммунным заболеванием. Для пересаженной печени эту ситуацию хорошо иллюстрирует развивающийся *de novo* так называемый аутоиммунный гепатит, который фактически представляет собой вариант хронического отторжения, но клинически он не отличается от рецидива аутоиммунного гепатита, в случаях, когда причиной пересадки является аутоиммунное заболевание печени. Остальные варианты хронического отторжения, такие как дуктопеническое отторжение, центральный перивенулит, идеопатический гепатит и т. п., которые классифицируются по клинической картине, и в частности по результату пункционной биопсии ткани печени, отличаются от приведенного примера только специфичностью аллоантигена. Гены, которые контролируют синтез таких белков, принято называть слабыми (малыми) генами гистосовместимости. В основном игра вероятностей действительно приводит к слабому иммунологическому ответу на такие варианты белков у донора и реципиента, однако пример групп крови и резус-фактора свидетельствует, что так дело обстоит не всегда. Известны случаи острого отторжения у реципиентов, получивших орган от неоднойцевой брата или сестры,

которые получили от родителей одинаковые гены главного комплекса гистосовместимости. Практика показывает, что белками с антигенными свойствами, способными вызвать хроническое отторжение, часто оказываются сами молекулы HLA, которые различаются у донора и реципиента и количества которых достаточно, чтобы организовать иммунный ответ. Антигенная роль молекул HLA и образование к ним антител часто вызывает путаницу в понимании сути прямого и непрямого метаболических путей. Слабую изученность ответов по непрямому метаболическому пути хорошо иллюстрирует ситуация с переливанием крови, при котором обычно не проводится подбор пар по HLA. Известны случаи, когда пересадка органа выполнялась по жизненным показаниям, несмотря на несовпадение групп крови у донора и реципиента, но при этом всегда выполнялась под защитой иммуносупрессии [46].

Необходимость предотвращения развития непрямого метаболического пути презентации антигена определяется тем, что этот путь в отличие от прямого метаболического пути, который активируется временно в первые месяцы после трансплантации, присутствует постоянно, в течение всей жизни трансплантата, и этот факт ранее служил прямым показанием к пожизненной иммуносупрессии.

Факторы, провоцирующие развитие хронического отторжения

Хроническое отторжение имеет свою специфику, которая состоит в том, что процесс отторжения носит вероятностный характер и по механизмам очень близок к аутоиммунным нарушениям. Чаще всего фактором, провоцирующим его возникновение, служит инфекция, но может стать и токсин, вызывающий гибель клеток (для печени прием алкоголя), которые способствуют продукции соответствующего спектра провоспалительных цитокинов и появлению на факультативных АПК (эндотелии сосудов и эпителии желчных протоков трансплантата) молекул HLA II класса, отсутствующих на этих клетках в спокойном состоянии. Появление молекул HLA II способно запустить созревание и пролиферацию эффекторных клеток памяти с маркерами CD4 (реакция свидетеля), которые затем, в свою очередь, активируют эффекторные резидентные клетки-киллеры с маркерами CD8. Для печени нехарактерен гуморальный повреждающий ответ, однако активация В-лимфоцитов при этом также происходит: в крови появляются антитела к аллоантигенам, чаще всего к молекулам HLA донорских клеток. Однако аллоантигенами могут быть любые белки, которые различаются по структуре у донора и реципиента, в частности, для печени такими белками могут быть коллаген I, II и V типов, для сердца – миозин и виментин, для легкого – тубулин,

для почек – белок рецептора к ангиотензину и коллаген IV и VI типов [37]. Следует иметь в виду, что перечисленные белки, идентифицированные с помощью доступных моноклональных антител, не отражают всего спектра циркулирующих антигенных белков, который может сопровождать хроническое отторжение. Анализируя природу хронического отторжения, следует также различать отторжение и аутоиммунные реакции в донорской печени. Последние являются продолжением аутоиммунного заболевания, ставшего причиной пересадки печени, и характеризуются образованием аутоантител на те же аутоантигены, но только получаемые из белков клеток донорского органа. Активация аутоиммунитета чаще всего определяется особенностями нарушения регуляции иммунитета у данного пациента и связана, в частности, с генетической предрасположенностью, которая наиболее часто встречается у пациентов с генами гистосовместимости DR4 [38]. Отторжение – это все же иммунная реакция на донорские аллоантигены, то есть пептиды, презентируемые на молекулах HLA дендритных клеток реципиента, которые отличаются от репертуара аутоантигенов реципиента и по которым отсутствует в организме центральная толерантность.

Анализируя механизмы хронического отторжения, мы исходим из того, что в отдаленные сроки после трансплантации донорских лимфоидных клеток в организме реципиента нет и их место в инициации отторжения занимают эффекторные клетки памяти реципиента. Между тем микрохимеризм, то есть сохранение гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток донора в «нишах» реципиента, по нашему мнению, может играть значительную роль в пролонгировании жизни трансплантата путем снижения вероятности развития отторжения за счет возникновения толерантности [2]. Тестирование уровня микрохимеризма может служить и поэтому должно стать одним из прогностических тестов выработки устойчивой толерантности [40].

Для оптимизации тактики защиты трансплантата при хроническом отторжении важно иметь четкое представление о роли инфекции (ксенобелков) в механизмах инициации хронического отторжения. Дело в том, что антигенный пептид распознается с двух сторон: с одной стороны – молекулой HLA, а с другой стороны – рецептором Т-лимфоцита. Такой способ распознавания с двух сторон уникален для организма. Ксеноантигенный пептид распознается молекулой HLA реципиентской дендритной клетки при его процессинге и презентруется в лимфоузле наивным Т-клеткам, Т-рецептор которых способен распознать и пептиды вируса или бактерии, и донорский аллопептид на молекулах HLA I во всех клетках пересаженного органа. Таким образом, наивные Т-клетки, восприимчивые к аллоантигенам на

молекулах HLA I клеток донорского органа, созревают в лимфоузлах на пептидах вируса, презентированных на HLA-молекулах дендритных клеток, и поэтому дают эффекторную реакцию с последующим образованием клеток памяти как к аллоантигену, так и к вирусу. Понятно, что для разных групп пациентов, различающихся по генам гистосовместимости, инфекции, ведущие к перекрестному распознаванию, будут разные. Между тем вышеизложенное означает, что клетки эффекторной памяти могут и будут появляться в организме в течение всей жизни пациента, и поэтому во избежание индукции ими отторжения трансплантата по непрямому метаболическому пути эти клетки должны постоянно отслеживаться и нейтрализовываться либо за счет механизмов регуляции спонтанной толерантности путем применения современных клеточных технологий, обеспечивающих накопление регуляторных клеток памяти, либо путем обоснованного и своевременного медикаментозного иммунокорригирующего вмешательства. Для аллопересадок, при которых белки донора и реципиента практически неразличимы, хроническое отторжение обычно представляет хронический вялотекущий процесс.

При пункционной биопсии трансплантированной печени обычно видно, что участки воспаления перемежаются участками ткани, не затронутыми воспалением, а также участками фиброза. Такая мозаичность гистологического рисунка связана с тем, что процесс повреждения при хроническом отторжении всегда имеет две последовательные фазы – фазу деструкции и воспаления и фазу регенерации, а исход этого процесса – восстановление структурных элементов органа (регенерация) или их склерозирование (атипичная патологическая регенерация) – определяется состоянием местных (тканевых) факторов регенерации и особенностями их иммунной регуляции у конкретного пациента. Спецификой гистологической картины хронического отторжения печени является локализация его преимущественно в области триад и по периферии дольки, где наиболее уязвим эндотелий желчных протоков; редко воспалительный процесс протекает в области центральной вены и практически не затрагивает печеночную паренхиму. Динамика развития фиброза служит основным показателем адекватности течения посттрансплантационного восстановительного периода у пациента, вне зависимости от того, применяется или прекращена иммуносупрессия [5]. Со временем локальные эпизоды хронического отторжения (воспаления) и восстановления толерантности с исходами либо в фиброз, либо в нормальную структуру ткани печени формируют картину, позволяющую прогнозировать длительность жизни трансплантата и самого пациента [18]. Пункция дает локальную характеристику иммуно-

логического и регенерационного статуса печени, а клинические и иммунологические показатели крови позволяют судить о функции органа и сопровождающем его иммунологическом фоне. Очевидно, что чем выше уровень резистентности ткани трансплантированной печени к воспалению (характеризуется сниженным содержанием в ней эффекторных клеток памяти) и чем ниже вероятность инициации воспаления в ткани печени (характеризуется накоплением Т-регуляторных клеток памяти, регулирующих снижение амплитуды и мощности иммунного ответа), тем длительнее могут стать сроки адекватного функционирования трансплантата [6].

Иммуносупрессия не меняет последовательность и соотношение фаз воспаления и регенерации в трансплантированном органе при хроническом отторжении; ее роль состоит в снижении инициации воспаления, что, соответственно, ведет к снижению выраженности иммунозависимой регенерации паренхимы органов (печени), регулируемой толерогенными механизмами.

Снижение активности как эффекторного (воспалительного), так и толерогенного звеньев иммунитета снижает участие иммунной системы в регуляции всех иммунозависимых процессов и создает при иммуносупрессии состояние относительного иммунодефицита, которое характерно для иммунной системы людей пожилого возраста; при хроническом иммунодефиците появляется склонность к торможению процессов ассимиляции и репаративной регенерации в тканях и создаются условия для активизации процессов их склерозирования и фибрирования. Развитие этих процессов в условиях иммуносупрессии ведет к постепенной, но необратимой гибели трансплантата.

Анализ причин развития дисфункции и гибели трансплантата в условиях длительной медикаментозной иммуносупрессии, обеспечивающей создание так называемой пассивной иммунной толерантности, способствовал поиску и изучению регуляторных возможностей новых, более физиологичных способов индукции устойчивой иммунной толерантности к трансплантационным аллоантигенам. Методы основаны на создании в организме реципиента баланса взаимодействия эффекторных и регуляторных клеток, в том числе регуляторных клеток памяти с помощью современных клеточных технологий. Полагают, что клеточные технологии должны активизировать естественные системы поддержания толерантности в организме, такие как толерирующие АПК, и в частности дендритные клетки [45], толерирующие клетки памяти, входящие в систему Т-регуляторных клеток [17], и стволовые клетки костного мозга; не исключается также возможность использования системы тимусной центральной толерантности [13].

Возможность разработки и использования метода минимальной иммуносупрессии для выведения пациента на спонтанную толерантность определяется реальными регуляторными возможностями врожденной и адаптивной систем иммунитета у каждого пациента. Разработка системы надежных тестов для характеристики индивидуальных особенностей иммунитета и прогнозирования возможности выработки пациентом толерантности к аллоантигенам, а также к антигенным нагрузкам окружающей среды, позволит обоснованно применять медикаментозную иммунокоррекцию с целью предотвращения хронического отторжения трансплантата и продления сроков жизни как органа, так и пациента [4, 33].

Мы полагаем, что сочетанное применение толерирующих клеточных технологий и снижающейся минимальной медикаментозной иммуносупрессии – это реальный и перспективный путь достижения устойчивой толерогенной стратегии в организме при трансплантации органов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выработку антигенспецифической толерантности в организме путем восстановления баланса между эффекторными и толерирующими реакциями во врожденной и адаптивной иммунной системе следует признать современной патогенетически обоснованной стратегией предотвращения как острого, так и особенно хронического отторжения. Эта стратегия предусматривает активацию естественных механизмов выработки толерантности как путем применения толерирующих клеток (АПК, Т-регуляторных клеток, стволовых клеток костного мозга и др.), пока преимущественно в экспериментальных исследованиях, так и путем постепенного снижения доз или отмены иммуносупрессоров, реципрокно активирующих толерогенные механизмы, в клинических исследованиях. Между тем даже при пересадках печени в клинике сохраняется высокий риск отторжения трансплантатов при полной отмене иммуносупрессивной терапии. Поэтому главным препятствием на современном этапе внедрения толерогенной стратегии в клиническую практику следует считать отсутствие надежных диагностических и прогностических методов как для оценки индивидуального уровня толерантности, так и степени устойчивости этого состояния под воздействием антигенных нагрузок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артамонов С.Д., Онищенко Н.А., Баикина Л.В. и др. Роль систем врожденного и адаптивного иммунитета в развитии деструктивного иммунного ответа организма на аллотрансплантат // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2010. Т. 12, № 3. С. 112–120.
2. Артамонов С.Д., Онищенко Н.А., Баикина Л.В. и др. Система ауто толерантности и ее функционирование при трансплантации аллогенных органов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2010. Т. 12, № 3. С. 121–128.
3. Adeyi O., Fischer S.E., Guindi M. Liver allograft pathology: approach to interpretation of needle biopsies with clinicopathological correlation // J. Clin. Pathol. 2010. Vol. 63. P. 47–74.
4. Azzi J., Sayegh M.H. Clinical Transplantation Tolerance: A myth no more, but // Am. J. Kidney. Dis. 2009. Vol. 54. P. 1005–1011.
5. Carey E., Carey W.D. Noninvasive tests for liver disease, fibrosis, and cirrhosis: Is liver biopsy obsolete? // Cleveland Clinic Journal of Medicine. 2010. Т. 77 (8). P. 519–527.
6. Codarri L., Vallotton L., Ciuffreda D. et al. Expansion and tissue infiltration of an allospecific CD4⁺CD25⁺CD45RO⁺IL-7R α ^{high} cell population in solid organ transplant recipients // J. Exp. Med. 2007. Vol. 204 (7). P. 1533–1541.
7. Dan Y.Y., Riehle K.J., Lazaro C. et al. Isolation of multipotent progenitor cells from human fetal liver capable of differentiating into liver and mesenchymal lineages // PNAS. 2006. Vol. 103 (26). P. 9912–9917.
8. Demirkiran A., Bosma B.M., Kok A. et al. Allosuppressive donor CD4⁺CD25⁺ regulatory T-cells detach from the graft and circulate in recipients after liver transplantation // The Journal of Immunology. 2007. Vol. 178. P. 6066–6072.
9. Feng S. Long-term management of immunosuppression after pediatric liver transplantation: is minimization or withdrawal desirable and/or possible? // Curr. Opin. Organ. Transplant. 2008. Vol. 13 (5). P. 506–512.
10. Girlanda R., Kirk A.D. Frontiers in nephrology: immune tolerance to allografts in humans // J. Am. Soc. Nephrol. 2007. Vol. 18. P. 2242–2251.
11. Goldrath A.W., Bevan M.I. Selecting and maintaining a diverse T-cell repertoire // Nature. 1999. Vol. 402. P. 255–262.
12. Hoehme S., Brulport M., Bauer A. et al. Prediction and validation of cell alignment along microvessels as order principle to restore tissue architecture in liver regeneration // PNAS. 2010. Vol. 107 (23). P. 10371–10376.
13. Kawai T., Cosimi A.B., Spitzer T.R. et al. HLA-Mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression // NEJM. 2008. Vol. 358 (14). P. 353–361.
14. Klein L., Sato A. The HLA system. First of two parts // Advances in Immunology. 2004. Vol. 84 (10). P. 702–709.
15. Koshiba T., Li Y., Takemura M. et al. Clinical, immunological, and pathological aspects of operational tolerance after pediatric living-donor liver transplantation // Transplant Immunology. 2007. Vol. 17 (2). P. 94–97.
16. Krams S.M., Martinez O.M. Epstein Barr virus, rapamycin, and host immune responses // Curr. Opin Organ Transplant. 2008. Vol. 13 (6). P. 563–568.
17. Li X.C., Turka L.A. An update on regulatory T-cells in transplant tolerance and rejection // Nat. Rev. Nephrol. 2010. Vol. 6. P. 577–583.

18. Magee J.C. Graft fibrosis in stable pediatric liver transplant recipients: What does it mean? // *Hepatology*. 2009. Vol. 49 (3). P. 726–728.
19. Mañez R., Kusne S., Linden P. et al. Temporary withdrawal of immunosuppression for life-threatening infections after live transplantation // *Transplantation*. 1994. Vol. 57 (1). P. 149–151.
20. Martinez O.M., Rosen H.R. Basic concepts in transplant immunology // *Liver Transplantation*. 2005. Vol. 11 (4). P. 370–381.
21. Mazariegos G.V., Reyes J., Marino I.R. et al. Weaning of immunosuppression in liver transplant recipients // *Transplantation*. 1997. Vol. 63 (2). P. 243–249.
22. Mazariegos G.V. Immunosuppression withdrawal after liver transplantation: what are the next steps? // *Transplantation*. 2011. Vol. 91. P. 697–699.
23. Michalopoulos G.K., De Frances M.C. Liver regeneration // *Science*. 1997. Vol. 276 (4). P. 60–66.
24. Michalopoulos G.K. Liver regeneration // *J. Cell. Physiol.* 2007. Vol. 213 (2). P. 286–300.
25. Miller D.M., Thornley T.B., Greiner D.L., Rossini A.A. Viral infection: a potent barrier to transplantation tolerance // *Clin. Dev. Immunol.* 2008; 2008: 742810.
26. Morelli A.E., Larregina A.T. Apoptotic cell-based therapies against transplant rejection: role of recipient's dendritic cells // *Apoptosis*. 2010. Vol. 15. P. 1083–1097.
27. Morelli A.E., Thomson A.W. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance // *Nat. Rev. Immunol.* 2007. Vol. 7 (8). P. 610–621.
28. Murphy S.P., Porrett P.M., Turka L.A. Innate immunity in transplant tolerance and rejection // *Immunol. Rev.* 2011. Vol. 241 (1). P. 39–48.
29. Nafady-Hego H., Li Y., Ohe H. et al. The Generation of donor-specific CD4+CD25+CD45RA+ naive regulatory T-cells in operationally tolerant patients after pediatric living-donor liver transplantation // *Transplantation*. 2010. Vol. 90. P. 1547–1555.
30. Nestle F.O., Meglio P.Di., Qin J-Z., Nickoloff B.J. Skin immune sentinels in health and disease // *Nat. Rev. Immunol.* 2009. Vol. 9 (10). P. 679–691.
31. Orlando G., Soker S., Wood K. Operational tolerance after liver transplantation // *Hepatology*. 2009. Vol. 50. P. 1247–1257.
32. Page A.J., Ford M.L., Kirk A.D. Memory T-cell-specific therapeutics in organ transplantation // *Curr. Opin Organ Transplant*. 2009. Vol. 14 (6). P. 643–649.
33. Reding R., Gras J., Truong D.Q. et al. The Immunological monitoring of alloreactive responses in liver transplant recipients: a review // *Liver Transplantation*. 2006. Vol. 12. P. 373–383.
34. Reinherz E.L., Tan K., Tang L. et al. The crystal structure of a T-cell receptor in complex with peptide and MHC class II // *Science*. 1999. Vol. 286. P. 1913–1921.
35. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M. et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T-cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25): Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases // *Immunol.* 1995. Vol. 155. P. 1151–1164.
36. Sebzda E., Mariathasan S., Ohteki T. et al. Selection of the T-cell repertoire // *Ann. Rev. Immunol.* 1999. Vol. 17. P. 829–874.
37. Seetharam A., Tiriveedhi V., Mohanakumar T. Alloimmunity and autoimmunity in chronic rejection // *Curr. Opin Organ Transplant*. 2010. Vol. 15 (4). P. 531–536.
38. Spada M., Riva S., Maggiore G. et al. Pediatric liver transplantation // *World J. Gastroenterol.* 2009. Vol. 15 (6). P. 648–674.
39. Starzl T.E., Lakkis F.G. The Unfinished legacy of liver transplantation // *Emphasis on Immunology Hepatology*. 2006. Vol. 43. P. 151–163.
40. Starzl T.E. Chimerism and tolerance in transplantation // *PNAS*. 2004. Vol. 101 (2). P. 14607–14614.
41. Strick-Marchand H., Masse G.X., Weiss M.C., Di Santo J.P. Lymphocytes support oval cell-dependent liver regeneration // *Immunol.* 2008. Vol. 181. P. 2764–2771.
42. Surh C.D., Sprent J. Homeostasis of naive and memory T-cells // *Immunity*. 2008. Vol. 29. P. 19848–19862.
43. Takatsuki M., Uemoto S., Inomata Y. et al. Weaning of immunosuppression in living donor liver transplant recipients // *Transplantation*. 2001. Vol. 72 (3). P. 449–454.
44. Tanaka M., Itoh T., Tanimizu N., Miyajima A. Liver stem/progenitor cells: their characteristics and regulatory mechanisms // *J. Biochem.* 2011. Vol. 149 (3). P. 231–239.
45. Thomson A.W. Tolerogenic dendritic cells: all present and correct? // *Am. J. Transplant*. 2010. Vol. 1, 10 (2). P. 214–219.
46. Tyden G., Kumlien G., Fehrman I. Successful ABO-incompatible kidney transplantations without splenectomy using antigen-specific immunoabsorption and rituximab // *Transplantation*. 2003. Vol. 76. P. 730–731.
47. Ueta H., Shi C., Miyanari N. et al. Systemic transmigration of allosensitizing donor dendritic cells to host secondary lymphoid organs after rat liver transplantation // *Hepatology*. 2008. Vol. 47 (4). P. 1352–1362.
48. Van Maren W.W.C., Jacobs J.F.M., de Vries I.J.M. et al. Toll-like receptor signalling on Tregs: to suppress or not to suppress? // *Immunology*. 2008. Vol. 124. P. 445–452.
49. Vella J., Neylan J. Why do we need induction therapy? // Sayegh M.H., Remuzzi G., eds. *Current and future immunosuppressive therapies following transplantation*. Netherlands, Kluwer academic publisher; 2001. P. 187–204.
50. Xia C-Q., Campbell K.A., Clare-Salzler M.J. Extracorporeal photopheresis-induced immune tolerance: a focus on modulation of antigen-presenting cells and induction of regulatory T-cells by apoptotic cells // *Curr. Opin Organ Transplant*. 2009. Vol. 14 (4). P. 338–343.
51. Zheng Z-Y., Weng S-Y., Yu Y. Signal molecule-mediated hepatic cell communication during liver regeneration // *World J. Gastroenterol.* 2009. Vol. 15. P. 46.