

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-4-130-138

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ TGF- β 1 У РЕЦИПИЕНТОВ С ДИСФУНКЦИЕЙ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ПОЧКИ

О.П. Шевченко^{1, 2}, С.О. Шарапченко¹, Д.А. Великий¹, О.Е. Гичкун^{1, 2}, Е.С. Столяревич¹, Н.П. Можейко¹, Д.А. Сайдулаев¹, Р.М. Курабекова¹, Е.А. Вакурова², А.А. Мамедова¹, М.А. Особливая¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Разработка методов малоинвазивной диагностики осложнений у реципиентов на основе анализа уровней молекулярных и генетических биомаркеров – актуальная задача современной трансплантологии. К числу потенциальных индикаторов осложнений относится трансформирующий фактор роста бета-1 (TGF- β 1), оказывающий множественные эффекты в организме. **Цель:** оценка диагностической значимости TGF- β 1, определяемого в сыворотке крови реципиентов, при дисфункции трансплантированной почки. **Материалы и методы.** В исследование включены 129 реципиентов почки в возрасте от 17 до 68 лет и 35 здоровых лиц. Концентрацию TGF- β 1 в сыворотке крови реципиентов определяли иммуноферментным методом. **Результаты.** В число реципиентов почки вошли 95 пациентов с лабораторными и клиническими признаками дисфункции трансплантата, которым была выполнена биопсия трансплантированной почки с последующим морфологическим исследованием, и 34 реципиента с нормальной функцией. Уровень TGF- β 1 у реципиентов почки был достоверно выше, чем у здоровых лиц ($p = 0,00001$), не коррелировал с большинством параметров анализа крови, со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ). У реципиентов почки с дисфункцией трансплантата уровень TGF- β 1 значимо выше, чем у остальных реципиентов ($p = 0,018$). У реципиентов с дисфункцией трансплантата по результатам морфологического исследования выявлены: острый канальцевый некроз (ОКН, $n = 11$), острое клеточное отторжение (ACR, $n = 26$), острое гуморальное отторжение (AMR, $n = 35$), не связанный с иммунным ответом нефросклероз с признаками нефротоксичности ингибиторов кальциневрина (CNI-нефротоксичность, $n = 13$), возвратный гломеруло-нефрит (хроническое отторжение трансплантата, $n = 10$). У реципиентов с повреждениями трансплантата иммунного характера (ACR, AMR и хроническое отторжение) концентрация TGF- β 1 в сыворотке крови выше, чем у реципиентов с дисфункцией от иных причин, $p < 0,0001$. У реципиентов почки с концентрацией TGF- β 1 в сыворотке крови, превышающим пороговое значение 94,3 нг/мл, риск выявления дисфункции трансплантата, вызванной иммунными механизмами, выше, чем у остальных реципиентов почки (RR = $2,2 \pm 0,22$ [95% ДИ 1,46–3,46]), при чувствительности теста 77,5% и специфичности 60,3%. **Заключение.** Рассчитанный пороговый уровень TGF- β 1 в сыворотке крови реципиентов почки может рассматриваться в качестве вспомогательного индикатора дисфункции трансплантата, обусловленной острым или хроническим отторжением.

Ключевые слова: трансформирующий фактор роста бета, TGF- β 1, трансплантация почки, дисфункция трансплантата, диагностика.

Для корреспонденции: Шарапченко Софья Олеговна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 193-87-62. E-mail: Nyashka1512@yandex.ru

Corresponding author: Sofya Sharapchenko. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 193-87-62. E-mail: Nyashka1512@yandex.ru

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF TGF- β 1 IN KIDNEY RECIPIENTS WITH GRAFT DYSFUNCTION

O.P. Shevchenko^{1, 2}, S.O. Sharapchenko¹, D.A. Velikiy¹, O.E. Gichkun^{1, 2}, E.S. Stolyarevich¹, N.P. Mozheiko, D.A. Saydulaev¹, R.M. Kurabekova, E.A. Vakurova², A.A. Mamedova¹, M.A. Osoblivaya¹

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Development of minimally invasive diagnosis techniques for complications in recipients, based on analysis of the levels of molecular and genetic biomarkers, is an urgent task facing modern transplantology. Transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1), which has multiple effects in the body, among the potential indicators of complications. **Objective:** to assess the diagnostic significance of serum TGF- β 1 in kidney recipients with graft dysfunction. **Materials and methods.** The study included 129 kidney recipients aged 17 to 68 years and 35 healthy subjects. Serum TGF- β 1 levels in the recipients were determined by immunoenzyme technique. **Results.** Kidney recipients included 95 patients with laboratory and clinical signs of graft dysfunction, who underwent biopsy of the transplanted kidney, followed by morphological examination, and 34 recipients with normal graft function. Serum TGF- β 1 levels in the kidney recipients were significantly higher than in their healthy counterparts ($p = 0.00001$); it did not correlate with most blood test parameters; with the glomerular filtration rate (GFR). Kidney recipients with graft dysfunction had significantly higher TGF- β 1 levels than other recipients ($p = 0.018$). In recipients with graft dysfunction, morphological study revealed the following: acute tubular necrosis (ATN, $n = 11$), acute T-cell mediated rejection (ACR, $n = 26$), acute antibody-mediated rejection (AMR, $n = 35$), non-immune-mediated nephrosclerosis with signs of calcineurin inhibitor nephrotoxicity (CNI nephrotoxicity, $n = 13$), and recurrent glomerulonephritis (chronic graft rejection, $n = 10$). Recipients with immune-mediated graft injury (ACR, AMR and chronic rejection) had higher serum TGF- β 1 levels than recipients with graft dysfunction resulting from other causes, $p < 0.0001$. Kidney recipients with serum TGF- β 1 levels above the threshold value of 94.3 ng/mL had a higher risk of immune-mediated graft dysfunction than other kidney recipients (RR = 2.2 ± 0.22 [95% CI 1.46–3.46]) with 77.5% test sensitivity and 60.3% specificity. **Conclusion.** The calculated threshold serum TGF- β 1 level in kidney recipients can be considered as an auxiliary indicator of graft dysfunction resulting from acute or chronic rejection.

Keywords: transforming growth factor beta, TGF- β 1, kidney transplantation, graft dysfunction, diagnosis.

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая болезнь почек (ХБП) характеризуется высокой распространенностью во всем мире и относится к числу ведущих заболеваний с глубокими социально-экономическими последствиями [1]. Трансплантация почки – радикальный и наиболее эффективный способ лечения больных с ХБП [2].

Несмотря на высокую эффективность трансплантации почки риск повреждения и дисфункции нефротрансплантата сохраняется на протяжении всей последующей жизни. Объективным методом верификации патологии трансплантированного органа является биопсия, выполнение которой сопряжено со всеми ограничениями и рисками инвазивных вмешательств. Разработка концепции персонализированных методов малоинвазивной диагностики осложнений в посттрансплантационном периоде на основе анализа уровней молекулярных и генетических биомаркеров и их сочетаний представляется актуальной задачей [3]. Несмотря на очевидную целесообразность анализа биомаркеров в моче реци-

пиентов почки, подобные тесты не показали достаточной надежности для дифференциации процессов накопления внеклеточного матрикса, связанных с хроническим отторжением.

Перечень потенциальных биомаркеров повреждения нефротрансплантата постоянно расширяется и включает в себя представителей семейств микроРНК, бесклеточных ДНК, белковые молекулы и т. д. [4]. Ведется постоянный поиск органоспецифичных биомаркеров, сигнализирующих не только о развитии патологии трансплантированной почки, но и о природе или степени повреждения органа.

К числу факторов, регулирующих взаимоотношения организма реципиента и трансплантата, относится трансформирующий фактор роста бета-1 (TGF- β 1), оказывающий множественные эффекты: участвует в регуляции иммунного ответа, обладает противовоспалительным и иммуносупрессивным действием, участвует в синтезе белков внеклеточного матрикса [5]. TGF- β 1 является цитокином, стимулирующим продуцирование коллагена фибробластами

с последующими структурными изменениями трансплантата и развитием дисфункции [6].

Была установлена связь уровня TGF- β 1 в крови с развитием фиброза печени у детей с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы, а также связь его концентрации со степенью тяжести фиброза трансплантата печени, почек, сердца [7].

Оценка уровня TGF- β 1 в крови реципиентов почки может иметь практическое значение для оптимизации диагностики осложнений у реципиентов почки.

Целью настоящей работы стала оценка диагностической значимости уровня TGF- β 1, определяемого в сыворотке крови у реципиентов при дисфункции трансплантированной почки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 129 взрослых реципиентов почки, которым в период с 1999-го по 2022 год в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России была выполнена аллотрансплантация от родственного (РАТП) или трупного (АТТП) донора. В число отобранных реципиентов вошли: 95 – с признаками дисфункции трансплантата, потребовавшими проведения внеплановой пункционной биопсии; 34 – без признаков дисфункции трансплантата. Критериями развития дисфункции считались: рост уровня креатинина и мочевины, протеинурия. Группу сравнения составили 35 здоровых лиц, отобранных случайным образом и существенно не отличающихся по возрасту и гендерной принадлежности от реципиентов. В соответствии с протоколом ведения пациентов в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России и Клиническими рекомендациями Российского трансплантологического общества все реципиенты после ТП проходили плановые обследования, включавшие клиническую оценку состояния, общий и биохимический анализы крови с определением концентрации такролимуса, биопсии трансплантата.

Концентрацию TGF- β 1 измеряли в сыворотке венозной крови. Образцы крови собирали в одноразовые пробирки, центрифугировали, сыворотку замораживали и хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Концентрацию биомаркера в сыворотке определяли иммуноферментным методом с использованием специфических наборов реагентов Human TGF-beta 1 ELISA Kit, (RayBio®, USA) в соответствии с инструкцией. Забор образцов крови для анализа уровня TGF- β 1 производили в день взятия биопсии и других рутинных лабораторных исследований (общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи).

Верификация патологии осуществлялась на основании данных морфологических исследований биопсийного материала. Показатель скорости клубочковой фильтрации (СКФ) трансплантата рассчитывали

с использованием СКД-ЕПІ-формулы, которая учитывает расу, пол, возраст и уровень креатинина в сыворотке крови.

Для сравнительного анализа независимых переменных применялись методы непараметрической статистики: U-критерий Манна–Уитни и корреляция Спирмена. Групповые различия принимались значимыми на уровне $p < 0,05$. С помощью ROC-анализа определяли диагностическую значимость биомаркера и его пороговую концентрацию. Оценивались основные диагностические характеристики теста: относительный риск (RR), границы доверительного интервала (95% ДИ), чувствительность, специфичность, положительное прогностическое значение, отрицательное прогностическое значение, диагностическая эффективность. Статистическая обработка данных производилась с использованием пакета программ Statistica v.13.0, StatSoftInc (США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование вошли 129 реципиентов почки в возрасте от 17 до 68 лет, среди которых 62 (48%) мужчины и 67 (52%) женщины.

Основная доля пациентов (78%) перенесли аллотрансплантацию почки от трупного донора (АТТП), остальные 22% – от живого родственного (РАТП). Срок наблюдения реципиентов составлял от 2 до 4748 суток (медиана – 345 суток); 76% пациентов обследованы в отдаленные сроки (более 1 месяца с момента трансплантации). Основные характеристики группы реципиентов представлены в табл. 1.

Концентрация TGF- β 1 в сыворотке крови лиц, вошедших в исследование, варьировала в широких пределах – 92,38 [31,77; 129,70] нг/мл, достоверно не различалась у мужчин и женщин ($p = 0,37$), не коррелировала с возрастом ($r = 0,09$; $p = 0,18$).

Уровень TGF- β 1 у реципиентов почки достоверно отличался и был выше, чем у здоровых лиц, $p = 0,00001$. Сравнительный анализ концентрации TGF- β 1 у реципиентов родственной и трупной почки не выявил значимых различий ($p = 0,32$).

Отсутствовала значимая корреляция уровня TGF- β 1 с длительностью времени (сутки), прошедшего с момента трансплантации ($r = 0,137$; $p = 0,13$); не было выявлено значимых различий концентрации TGF- β 1 у реципиентов почки в ранние (менее 30 дней) и отдаленные (более 30 дней) сроки после трансплантации ($p = 0,47$).

Изучена связь концентрации TGF- β 1 с основными показателями общего и биохимического анализа крови и мочи (табл. 2).

Корреляционный анализ показал отсутствие связи уровня TGF- β 1 с большинством параметров анализа крови, а также со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) трансплантата, однако имела место прямая корреляция с числом тромбоцитов ($r = 0,206$;

$p = 0,025$) и обратная – с активностью трансаминазы АСТ ($r = -0,213$; $p = 0,024$). Уровень TGF- β 1 не зависел от концентрации такролимуса в крови реципиентов.

Оценка связи содержания TGF- β 1 в сыворотке крови с показателями анализа мочи показала значимую прямую корреляцию с содержанием эритроцитов ($r = 0,354$; $p = 0,00001$), лейкоцитов

Таблица 1

Основные характеристики реципиентов почки и здоровых лиц, вошедших в исследование
Basic characteristics of kidney recipients and healthy subjects included in the study

Параметр		Реципиенты почки	Здоровые лица
Количество		129	35
Пол	мужской	62 (48%)	18 (52%)
	женский	67 (52%)	17 (48%)
Возраст, лет	диапазон значений	от 17 до 68	от 21 до 64
	медиа́на	40	38
	[интерквартильный размах]	[33; 51]	[26; 50]
Вид трансплантации	от трупного донора (АТПП)	101 (78%)	–
	от родственного донора (РАТП)	28 (22%)	–
Функция трансплантата	нормальная функция	34 (26%)	–
	признаки дисфункции	95 (74%)	–
Длительность наблюдения, сутки	диапазон значений	от 2 до 4748	–
	медиа́на	325	–
	[интерквартильный размах]	[39; 1448]	–
Срок после трансплантации	ранний (до 1 месяца)	31 (24%)	–
	отдаленный (более 1 месяца)	98 (76%)	–
Концентрация TGF- β 1, нг/мл	медиа́на	104,0	6,66
	[интерквартильный размах]	[79,10; 138,80]	[3,87; 17,45]

Таблица 2

Корреляционный анализ уровня TGF- β 1 с показателями общего и биохимического анализа крови и мочи реципиентов почки

Correlation of TGF- β 1 levels with full blood count, biochemical tests and urinalysis indicators in kidney recipients

Параметр	Корреляция Спирмена	Уровень значимости
Общий анализ крови		
Гемоглобин (г/л)	$r = 0,037$	$p = 0,689$
Лейкоциты ($10^9/л$)	$r = 0,075$	$p = 0,496$
Тромбоциты ($10^9/л$)	$r = 0,206$	$p = 0,025$
Биохимический анализ крови		
Белок общий (г/л)	$r = -0,115$	$p = 0,234$
Мочевина (ммоль/л)	$r = 0,111$	$p = 0,219$
Креатинин (мкмоль/л)	$r = 0,121$	$p = 0,179$
АЛТ (Ед/л)	$r = -0,095$	$p = 0,355$
АСТ (Ед/л)	$r = -0,246$	$p = 0,015$
Глюкоза (ммоль/л)	$r = 0,102$	$p = 0,308$
Специальный анализ		
СКФ (мл/мин/1,73 м ²)	$r = -0,026$	$p = 0,76$
Такролимус (нг/мл)	$r = -0,044$	$p = 0,630$
Анализ мочи		
Эритроциты (в п/зр.)	$r = 0,354$	$p = 0,00001$
Лейкоциты (в п/зр.)	$r = 0,245$	$p = 0,006$
Протеинурия (г/л)	$r = 0,280$	$p = 0,001$

($r = 0,245$; $p = 0,006$) и протеинурией ($r = -0,280$; $p = 0,001$).

Из всех 129 включенных в исследование на основании лабораторных и клинических данных 95 пациентов были отнесены к группе с дисфункцией трансплантата и 34 обозначены как реципиенты с нормальной функцией. Показатели функции трансплантата в обеих группах показаны в табл. 3.

У реципиентов почки с дисфункцией трансплантата при сравнении с реципиентами без таковой имели место значимо более высокие уровни креатинина и мочевины в крови, скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и протеинурии ($p < 0,00001$). Сравнительный анализ содержания TGF- β 1 в сыворотке крови в данных группах также показал значимые различия ($p = 0,0004$).

На основании результатов морфологического исследования биоптатов у реципиентов с дисфункцией трансплантата выделены следующие варианты патологии: острый канальцевый некроз раннего посттрансплантационного периода (ОКН, $n = 11$), острое клеточное отторжение (англ. acute cellular rejection; ACR, $n = 26$), острое гуморальное отторжение (англ. antibody mediated rejection, AMR, $n = 35$), не связанный с иммунным ответом интерстициальный фиброз с признаками нефротоксичности ингибиторов кальциневрина (англ. calcineurin inhibitors, CNI-нефроток-

сичность, n = 13), возвратный гломерулонефрит (хроническое отторжение трансплантата, n = 10), рис. 1.

Сравнительный анализ показал достоверно более высокие уровни TGF-β1 у реципиентов с ACR (p = 0,0003), AMR (p = 0,002) и хроническим отторжением (p = 0,001) в сравнении с реципиентами без дисфункции (рис. 2).

Значимых различий уровня TGF-β1 при ОКН или CNI-нефротоксичности в сравнении с реципиентами с нормальной функцией трансплантата не установлено (p = 0,82 и p = 0,36 соответственно).

Реципиенты почки с острым клеточным, острым гуморальным и хроническим отторжением (ACR, AMR и хроническое отторжение соответственно),

ведущую роль в развитии которых играют иммунные процессы, были объединены в группу с «иммунными механизмами» повреждения трансплантата. Пациенты с острым канальцевым некрозом и интерстициальным фиброзом, вызванным нефротоксичностью ингибиторов кальциневрина (ОКН и CNI-нефротоксичность соответственно), составили группу с дисфункцией трансплантата, обозначенную как «иные процессы». Проведен сравнительный анализ уровня TGF-β1 и основных лабораторных параметров функции почки у реципиентов с нормальной функцией трансплантата и дисфункцией, вызванной иммунными (ACR, AMR, хроническое отторжение) и иными процессами (ОКН, CNI-нефротоксичность).

Таблица 3

Сравнительный анализ лабораторных показателей у реципиентов с дисфункцией трансплантата и без таковой

Comparative analysis of laboratory parameters in recipients with and without graft dysfunction

Показатель	Нормальная функция	Дисфункция трансплантата	Уровень значимости
Креатинин, мкмоль/л	85,30 [71,50; 95,00]	250,05 [160,76; 425,23]	p < 0,00001
Мочевина, ммоль/л	7,69 [6,20; 8,80]	19,88 [12,86; 28,10]	p < 0,00001
Протеинурия, г/л	0,03 [0,03; 0,04]	0,14 [0,04; 0,40]	p < 0,00001
СКФ, мл/мин	81,30 [68,50; 100,00]	20,80 [11,35; 36,50]	p < 0,00001
TGF-β1, нг/мл	86,41 [69,48; 109,70]	111,40 [87,06; 145,15]	p = 0,0004

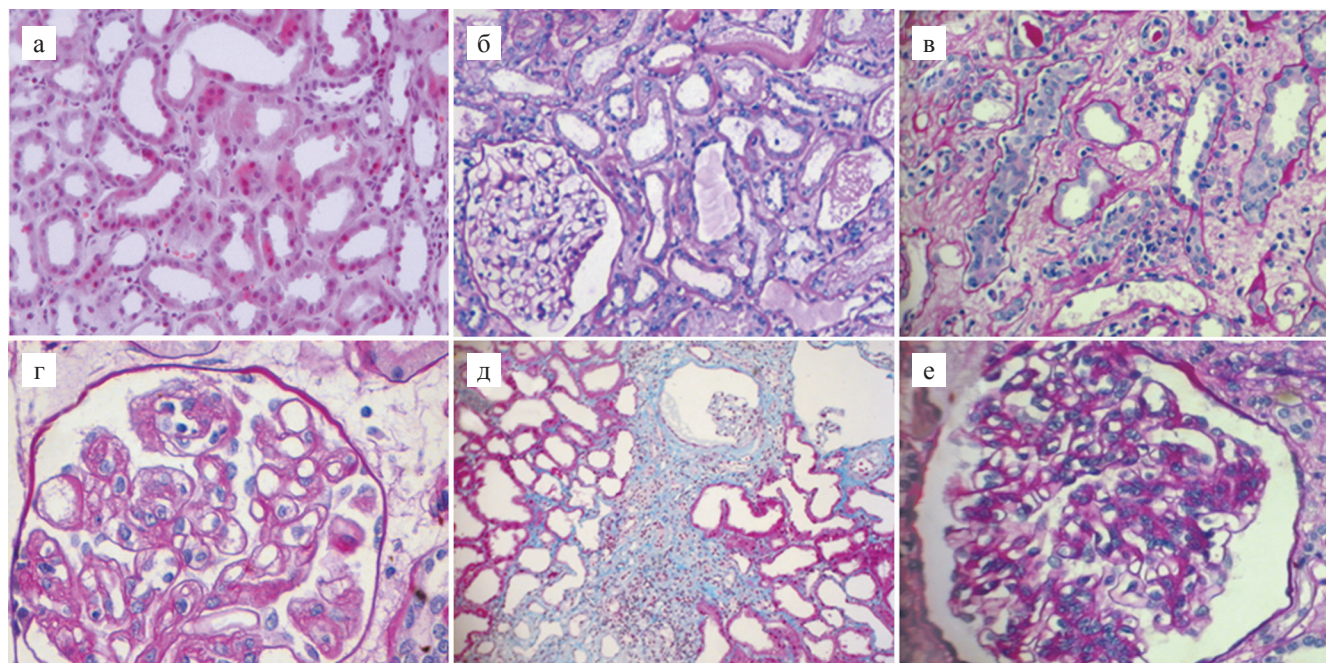


Рис. 1. Изображение образцов биоптатов почки с окрашиванием гематоксилином и эозином: а – норма, окраска трихромом по Массону, ×40; б – острый канальцевый некроз (ОКН), окраска PAS, ×100; в – острое клеточное интерстициальное отторжение (ACR), окраска PAS, ×100; г – гуморальное отторжение, трансплантационная гломерулопатия (AMR), окраска PAS, ×200; д – интерстициальный фиброз при CNI-нефротоксичности, окраска трихромом по Массону, ×40; е – возвратный гломерулонефрит (IgA-нефропатия)

Fig. 1. Image of kidney biopsy specimens with H&E stain: a – normal, Masson’s Trichrome stain, ×40; б – acute tubular necrosis (ATN), PAS stain, ×100; в – acute T-cell mediated rejection (ACR), PAS stain, ×100; г – acute antibody-mediated rejection, transplant glomerulopathy (AMR), PAS stain, ×200; д – interstitial fibrosis in CNI nephrotoxicity, Masson’s Trichrome stain, ×40; е – recurrent glomerulonephritis (IgA nephropathy)

У реципиентов с дисфункцией трансплантата, вызванной иммунными механизмами, уровень TGF-β1 не только значительно отличался от такового у реципиентов с нормальной функцией ($p < 0,000$), но и был выше, чем при дисфункции, вызванной иными процессами ($p = 0,0007$, рис. 3).

При этом уровень классических параметров функции почек (креатинин, мочеви́на, протеинурия

и СКФ) значимо не различался у реципиентов с повреждениями иммунного и неиммунного происхождения.

На основании полученных результатов оценена диагностическая значимость концентрации TGF-β1 для выявления реципиентов с дисфункцией трансплантата, обусловленной иммунными механизмами (ACR, AMR, хроническое отторжение). Площадь

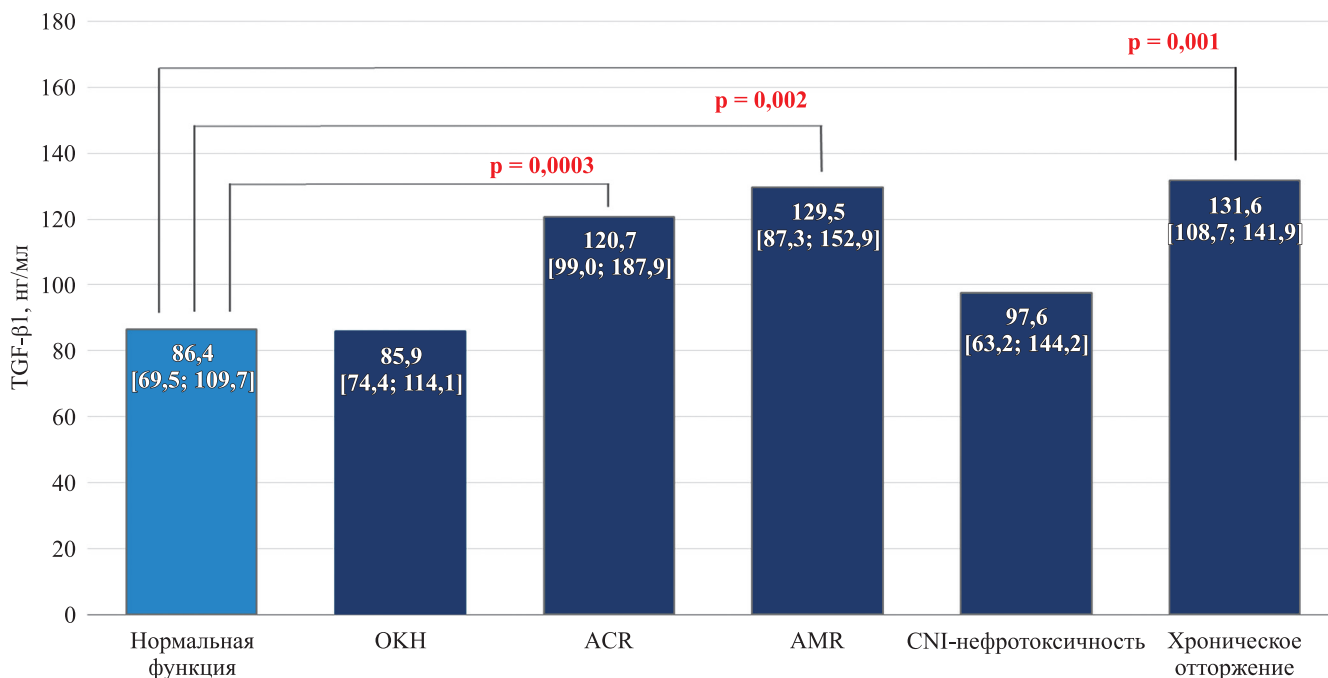


Рис. 2. Сравнительный анализ уровня TGF-β1 в крови реципиентов почки с дисфункцией трансплантата различной природы и без таковой

Fig. 2. Comparative analysis of serum TGF-β1 levels in kidney recipients with and without graft dysfunction of different nature

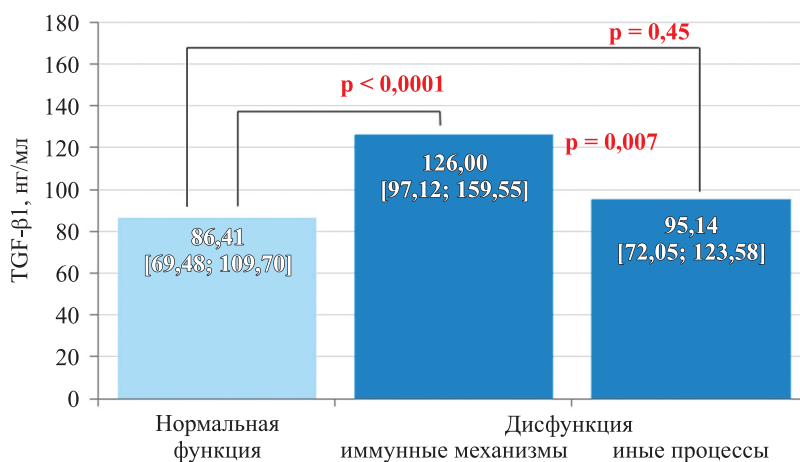


Рис. 3. Сравнительный анализ уровня TGF-β1 у реципиентов почки с нормальной функцией трансплантата и с дисфункцией, вызванной иммунными механизмами (острое клеточное, гуморальное и хроническое отторжение) и иными процессами (острый канальцевый некроз, CNI-нефротоксичность)

Fig. 3. Comparative analysis of TGF-β1 levels in kidney recipients with normal graft function, with immune-mediated graft dysfunction (acute cellular, humoral and chronic rejection), and with other processes (acute tubular necrosis, CNI nephrotoxicity)

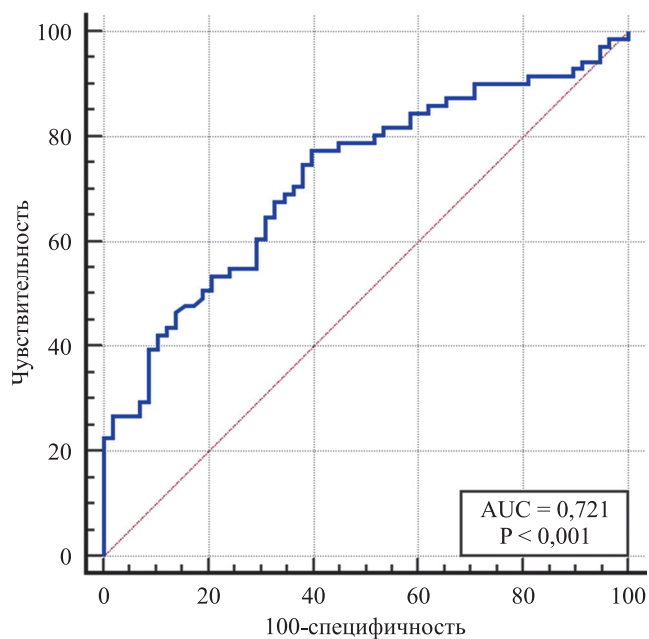


Рис. 4. ROC-кривая концентрации TGF-β1 в сыворотке крови реципиентов почки с дисфункцией трансплантата, вызванной иммунными механизмами

Fig. 4. ROC curve of serum TGF-β1 levels in kidney recipients with immune-mediated graft dysfunction

под ROC-кривой составила $0,721 \pm 0,04$ [95% ДИ 0,64–0,80] и достоверно отличалась от величины 0,5; $p < 0,001$ (рис. 4).

Пороговая концентрация в сыворотке крови TGF-β1 для выявления дисфункции трансплантационной почки, обусловленной механизмами острого и хронического отторжения, составила 94,3 нг/мл. У реципиентов почки с уровнем TGF-β1, превышающим рассчитанное пороговое значение, риск выявления при морфологическом исследовании острого или хронического отторжения трансплантата, обусловленного иммунными механизмами, в 2,2 раза выше, чем у остальных реципиентов почки (RR = $2,2 \pm 0,22$ [95% ДИ 1,46–3,46] при чувствительности 77,5%, специфичности 60,3% и общей диагностической эффективности теста 70,0%). Положительная и отрицательная прогностическая значимость измерения TGF-β1 в сыворотке крови для выявления пациентов с высоким риском осложнений иммунологической природы после трансплантации почки составили 70,5 и 68,6% соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Активные исследования последних лет в области биохимии, иммунологии и генетики не только расширили представления о сложных механизмах взаимодействия организма реципиента и донорского органа, но и открыли дополнительные возможности для разработки инновационных подходов к улучшению и прогнозированию результатов трансплантации. Механизмы толерантности и отторжения транспланти-

рованного органа заключают в себе целый комплекс сложных иммунных процессов [8].

Одна из ключевых вех трансплантологии ознаменована открытием в середине прошлого столетия иммуносупрессивных препаратов – ингибиторов кальциневрина, которые прочно вошли в основу терапии, препятствующей развитию реакции отторжения трансплантата [9]. Вместе с тем необходимость пожизненного приема иммуносупрессивных препаратов сопряжена с рядом негативных эффектов, в числе главных – нефротоксическое действие, т. н. CNI-нефросклероз, особенно критичный для реципиентов трансплантированной почки. Риск развития клеточного и гуморального отторжения сохраняется на протяжении всей жизни реципиента. Повторяющиеся эпизоды отторжения приводят к развитию его хронической формы с последующим фиброзированием и функциональным ремоделированием трансплантата [10].

Верификация повреждений нефротрансплантата осуществляется с помощью морфологического анализа изъятых образцов биоптатов, однако диагностическая ценность данного анализа ограничена риском забора неинформативного участка ткани, а решение о проведении внеплановой биопсии зачастую принимается уже при наличии яркой клинической картины сниженной функции почек [11]. Исследования иммунных механизмов повреждения трансплантата и совершенствование методов диагностики с привлечением малоинвазивных лабораторных технологий позволят не только выделить эффективные биомаркеры патологии трансплантата на ранней стадии развития осложнения, но и рассматривать их в качестве мишени для терапии.

Большое число исследований указывают на перспективность TGF-β1 в качестве маркера хронической болезни почек [12]. Медиаторами биологических функций TGF-β1 выступают сигнальные пути Smad, включающие как Smad3, участвующий в патогенезе повреждения почек и фиброза [13], так и Smad2 и Smad7, оказывающие нефропротективное действие, что объясняет неоднозначность опубликованных различными авторами данных о роли TGF-β1 при трансплантации почки [14].

С учетом собственных и литературных данных о вариативности диагностического и прогностического потенциала TGF-β1 у реципиентов солидных органов [7] в настоящей работе была поставлена задача изучения его диагностических возможностей у реципиентов с дисфункцией почечного трансплантата.

Результаты исследования показали, что у реципиентов почки с концентрацией TGF-β1 в сыворотке крови выше 94,3 нг/мл риск обнаружения острого или хронического отторжения в 2,2 раза выше, чем у остальных реципиентов почки. В свою очередь, дифференциация острого и хронического отторжения, требующих различных подходов к терапии, возможна при морфологическом исследовании.

Данные о связи высоких уровней TGF- β 1 в крови с наличием иммуноопосредованного повреждения трансплантата почки согласуются с результатами зарубежных коллег, показавших более высокие уровни TGF- β 1 у реципиентов почки с хроническим отторжением в сравнении с реципиентами без такового в отдаленные сроки после трансплантации [15]. Однако стоит отметить наличие в анамнезе всех пациентов нескольких эпизодов острого отторжения, что позволило авторам охарактеризовать TGF- β 1 лишь как маркер хронического отторжения. В настоящей работе нами показан значимо более высокий уровень TGF- β 1 у реципиентов почки с острым отторжением и в ранние сроки после трансплантации, что позволяет рассчитывать на перспективность его применения для выявления пациентов с риском иммуноопосредованных осложнений, начиная с первых дней после трансплантации почки.

Многочисленные опыты на животных, описанные зарубежными авторами, демонстрируют факт участия TGF- β 1 в механизмах повреждения почек, а также связь повышенной экспрессии TGF- β 1 со снижением скорости клубочковой фильтрации, признаками канальцевого некроза и фиброза [16]. Установленная нами прямая корреляция уровня TGF- β 1 с протеинурией ($r = 0,280$; $p = 0,001$) представляется весьма значимой с учетом результатов экспериментов Н. Kasuga и коллег, которым удалось снизить уровень протеинурии у крыс с гломерулонефритом путем введения антител рецептора TGF- β RII [17], что позволяет предположить возможность использования TGF- β 1 в качестве мишени для терапии. В другом исследовании, Х.Х. Du et al., имела место корреляция концентрации TGF- β 1 в крови со скоростью клубочковой фильтрации и сроком выживаемости нефротрансплантата [18], что указывает на вероятное влияние на концентрацию TGF- β 1 ряда сопутствующих факторов, требующих дополнительного изучения.

Исследование Н. Sugimoto et al. показало, что в эксперименте на мышах морфогенный белок BMP, член суперсемейства TGF- β , действует как антагонист передачи сигналов TGF- β , и пероральное введение его агониста (THR-123) ингибирует фиброзирование почек [19]. Другим активатором передачи сигналов TGF- β является тромбоспондин-1, ингибирование которого, по данным D. Sun et al., на мышах приводило к активации ангиогенеза и уменьшению фиброза почек у мышей [20]. На модели трансплантации почки крысам введение противовоспалительного препарата пирфенидона, нацеленного на TGF- β , приводило к ослаблению воспаления и фиброза почек [21].

В экспериментальной работе W.A. Border et al. была предпринята попытка ингибировать процесс фиброирования при гломерулонефрите путем введения антител к TGF- β 1 [22]. Результатом экспериментов стало эффективное подавление аккумуляции бел-

ков внеклеточного матрикса, что было подтверждено гистологическими исследованиями [23]. Терапевтическое применение ингибиторов TGF- β 1 пока не представляется возможным ввиду неоднозначности роли последнего в тканевом гомеостазе и регенерации, проявляющейся как про-, так и антифибротическим действием. Высказывается предположение, что весьма перспективным может быть сочетание антифибротической терапии с защитой эпителия канальцев [24].

Развитие острого и хронического отторжения, в основе которых лежат иммунные механизмы, способствует ускоренному формированию фиброза трансплантата [25]. Раннее выявление дисфункции трансплантата имеет решающее значение для проведения ренопротекторного лечения и может положительно влиять на результаты трансплантации.

Прогнозирование выживаемости аллотрансплантата остается сложной задачей, но сочетание клинических данных и исследований потенциальных биомаркеров патологии способно повысить точность диагностики. На сегодняшний день идентифицирован ряд потенциальных антифибротических стратегий, но еще ни один конкретный препарат не был одобрен для лечения реципиентов почки ввиду сложности каскада патологических процессов при фиброзе и перекрестности многих сигнальных путей, взаимно влияющих и компенсирующих друг друга.

Существует потребность в разработке вспомогательных малоинвазивных технологий диагностики, биомаркеров, позволяющих предсказать отдаленный исход трансплантации или дифференцировать фиброз, вызванный причинами различной природы [26].

В настоящем исследовании рассчитан пороговый уровень содержания TGF- β 1 в сыворотке крови реципиентов почки, позволяющий идентифицировать пациентов с высоким риском наличия признаков острого или хронического отторжения, которым рекомендовано проведение внеплановой биопсии.

Очевидно, все особенности механизмов участия TGF- β 1 в развитии патологии трансплантанта почки подлежат дальнейшему глубокому изучению.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Azegami T, Kounoue N, Sofue T, Yazawa M, Tsujita M, Masutani K et al. Efficacy of pre-emptive kidney transplantation for adults with end-stage kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail.* 2023; 45 (1): 2169618. doi: 10.1080/0886022X.2023.2169618.
2. Столяревич ЕС, Жилинская ТР, Артюхина ЛЮ, Ким ИГ, Зайденов ВА, Томилина НА. Морфологическая структура патологии почечного аллотрансплантата и ее влияние на отдаленный прогноз. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2018; 20 (1): 45–54. *Stolyarevich ES, Zhilinskaya TR, Artyukhina LY, Kim IG, Zaidenov VA, Tomilina NA.*

- khina LYu, Kim IG, Zaydenov Va, Tomilina NA. Morphological structure of late renal graft dysfunction and its effect for long-term results. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2018; 20 (1): 45–54. (In Russ.).
3. Шараченко СО, Мамедова АА, Шевченко ОП. Диагностический и терапевтический потенциал трансформирующего фактора роста $\beta 1$ при трансплантации солидных органов: результаты последних исследований. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (2): 148–157. Sharapchenko SO, Mamedova AA, Shevchenko OP. Diagnostic and therapeutic potential of transforming growth factor beta 1 in solid organ transplantation: recent research findings. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2023; 25 (2): 148–157. (In Russ.).
 4. Herath S, Erlich J, Au AYM, Endre ZH. Advances in detection of kidney transplant injury. *Mol Diagn Ther*. 2019; 23: 333–351.
 5. Zhang H, Yang P, Zhou H, Meng Q, Huang X. Involvement of Foxp3-expressing CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in the development of tolerance induced by transforming growth factor-beta2-treated antigen-presenting cells. *Immunology*. 2008; 124: 304–314.
 6. Higgins CE, Tang J, Higgins SP, Gifford CC, Mian BM, Jones DM et al. The Genomic Response to TGF- $\beta 1$ Dictates Failed Repair and Progression of Fibrotic Disease in the Obstructed Kidney. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9: 678524. doi: 10.3389/fcell.2021.678524.
 7. Курабекова РМ, Шевченко ОП, Цирульникова ОМ, Можейко НП, Цирульникова ИЕ, Монахов АР, Готье СВ. Уровень трансформирующего фактора роста бета-1 связан с тяжестью врожденных заболеваний печени у детей раннего возраста. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (3): 16–21. Kurabekova RM, Shevchenko OP, Tsiroulnikova OM, Mozheyko NP, Tsiroulnikova IE, Monakhov AR, Gautier SV. Level of transforming growth factor beta-1 relates to congenital liver disease severity in children of early age. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2016; 18 (3): 16–21. (In Russ.).
 8. Buscher K, Rixen R, Schütz P, Hüchtmann B, Van Marck V, Heitplatz B et al. Plasma protein signatures reflect systemic immunity and allograft function in kidney transplantation. *Transl Res*. 2023; 262: 35–43. doi: 10.1016/j.trsl.2023.07.007.
 9. Cohen DJ, Loertcher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB, Strom TB. Cyclosporine: A New Immunosuppressive Agent for Organ Transplantation. *Ann Intern Med*. 1984; 101: 667–682.
 10. Bentata Y. Tacrolimus: 20 years of use in adult kidney transplantation. What we should know about its nephrotoxicity. *Artif Organs*. 2020; 44 (2): 140–152.
 11. Loupy A, Mengel M, Haas M. Thirty years of the International Banff Classification for Allograft Pathology: the past, present, and future of kidney transplant diagnostics. *Kidney Int*. 2022; 101 (4): 678–691. doi: 10.1016/j.kint.2021.11.028.
 12. Lee SB, Kanasaki K, Kalluri R. Circulating TGF- $\beta 1$ as a reliable biomarker for chronic kidney disease progression in the African-American population. *Kidney Int*. 2009; 76: 10–12.
 13. Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor- β signaling through the smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J Invest Dermatol*. 2002; 118 (2): 211–215.
 14. Fujimoto M, Maezawa Y, Yokote K, Joh K, Kobayashi K, Kawamura H et al. Mice lacking Smad3 are protected against streptozotocin-induced diabetic glomerulopathy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 305:1002–1007.
 15. Eikmans M, Sijpkens YW, Baelde HJ, de Heer E, Paul LC, Bruijn JA. High transforming growth factor- β and extracellular matrix mRNA response in renal allografts during early acute rejection is associated with absence of chronic rejection. *Transplantation*. 2002; 73: 573–579.
 16. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. Inflammatory processes in renal fibrosis. *Nat Rev Nephrol*. 2014; 10: 493–503.
 17. Kasuga H, Ito Y, Sakamoto S, Kawachi H, Shimizu F, Yuzawa Y, Matsuo S. Effects of anti-TGF- β type II receptor antibody on experimental glomerulonephritis. *Kidney Int*. 2001; 60: 1745–1755.
 18. Du XX, Guo YL, Yang M, Yu Y, Chang S, Liu B et al. Relationship of transforming growth factor- $\beta 1$ and arginase-1 levels with long-term survival after kidney transplantation. *Curr Med Sci*. 2018; 38: 455–460.
 19. Sugimoto H, LeBleu VS, Bosukonda D, Keck P, Taduri G, Bechtel W et al. Activin-like kinase 3 is important for kidney regeneration and reversal of fibrosis. *Nat Med*. 2012; 18: 396–404.
 20. Sun D, Ma Y, Han H, Yin Z, Liu C, Feng J et al. Thrombospondin-1 short hairpin RNA suppresses tubulointerstitial fibrosis in the kidney of ureteral obstruction by ameliorating peritubular capillary injury. *Kidney Blood Press Res*. 2012; 35: 35–47.
 21. Qiu ZZ, He JM, Zhang HX, Yu ZH, Zhang ZW, Zhou H. Renoprotective effects of pirfenidone on chronic renal allograft dysfunction by reducing renal interstitial fibrosis in a rat model. *Life Sci*. 2019; 233: 116666.
 22. Border WA, Okuda S, Languino LR, Sporn MB, Ruoslahti E. Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor beta 1. *Nature*. 1990; 346: 371–374.
 23. Voelker J, Berg PH, Sheetz M, Duffin K, Shen T, Mosser B et al. Anti-TGF- $\beta 1$ antibody therapy in patients with diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2017; 28: 953–962.
 24. Saritas T, Kramann R. Kidney Allograft Fibrosis: Diagnostic and Therapeutic Strategies. *Transplantation*. 2021; 105 (10): e114–e130. doi: 10.1097/TP.0000000000003678.
 25. Loga L, Dican L, Matei HV, Mărunțelu I, Constantinescu I. Relevant biomarkers of kidney allograft rejection. *J Med Life*. 2022; 15(11): 1330–1333. doi: 10.25122/jml-2022-0181.
 26. Williams WW, Taheri D, Tolkoﬀ-Rubin N, Colvin RB. Clinical role of the renal transplant biopsy. *Nat Rev Nephrol*. 2012; 8: 110–121.

Статья поступила в редакцию 10.11.2023 г.
The article was submitted to the journal on 10.11.2023