

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-3-137-144

## БИОМАРКЕРЫ ИММУННОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

О.П. Шевченко<sup>1, 2</sup>, Р.М. Курабекова<sup>1</sup>, О.М. Цирульников<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

Обзор литературы посвящен анализу исследований биомаркеров, позволяющих прогнозировать формирование иммунной толерантности и идентифицировать пациентов, которым можно безопасно минимизировать иммуносупрессию после трансплантации печени. В обзоре проанализированы 46 источников литературы, большая часть которых опубликована в последние пять лет. В настоящее время бурно развиваются новые технологии, позволяющие понять молекулярные механизмы нормальных, патологических и фармакологических процессов, протекающих при трансплантации органов. Однако до настоящего времени нет биомаркеров, валидированных для определения состояния иммунной толерантности и индивидуального подбора иммуносупрессантов. Накопление данных по пациентам вкупе с совершенствованием биоинформатики может значительно ускорить процесс развития подходов для стратификации пациентов.

*Ключевые слова:* иммунная толерантность, биомаркеры, трансплантация печени, иммуносупрессия.

## BIOMARKERS OF IMMUNE TOLERANCE IN LIVER TRANSPLANTATION

O.P. Shevchenko<sup>1, 2</sup>, R.M. Kurabekova<sup>1</sup>, O.M. Tsirolnikova<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

This review of literature is dedicated to the analysis of the current studies of biomarkers, which could help predict immune tolerance development and identify the patients, who can safely minimize immunosuppression after liver transplantation. The review analyzed 46 sources of literature, more than half of those were published in the last five years. Up to date advanced technologies are intensively developed, which help understand molecular mechanisms of normal, pathological and pharmacological processes involved in organ transplantations. However, there are no biomarkers yet validated for the identification of immune tolerance development or individual prescription of immunosuppressants. Further data collection on patients along with the progress in bioinformatics could accelerate development of approaches for patient stratification.

*Key words:* immune tolerance, biomarkers, liver transplantation, immunosuppression.

Трансплантация печени является в настоящее время единственным эффективным методом лечения пациентов в терминальной стадии печеночной недостаточности. Значительный опыт, накопленный в клинической трансплантологии, совершенствование системы организации донорства, развитие хирургической техники и особенно применение

современных иммуносупрессантов позволяют достичь впечатляющих показателей выживаемости реципиента и трансплантата. Применение современных протоколов иммуносупрессии позволило значительно снизить риск развития острых и гуморальных отторжений после трансплантации печени и достичь показателей средней годичной

**Для корреспонденции:** Шевченко Ольга Павловна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, 1. Тел. (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru.

**For correspondence:** Shevchenko Olga Pavlovna. Address: 1, Shchukinskaya St., Moscow, 123182. Tel. (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru

выживаемости более 80% [1, 2]. Тем не менее заболеваемость и смертность среди пациентов с трансплантированными органами выше, чем в среднем в популяции, одной из главных причин является длительная иммуносупрессия после трансплантации.

Пожизненное применение иммуносупрессивных препаратов связано с их побочным токсичным действием на почки, сердце и другие органы и приводит к развитию осложнений, среди которых наиболее частыми являются инфекции, онкологические заболевания, диабет и гипертензия [3, 4]. Несмотря на постоянное совершенствование иммуносупрессивной терапии и появление новых, более эффективных и менее токсичных препаратов, в настоящее время существует представление, что минимизация иммуносупрессии (в идеальном варианте – полная отмена этих препаратов) может значительно улучшить показатели долговременной выживаемости после трансплантации органов. Поэтому усилия клиницистов направлены на минимизацию иммуносупрессии.

В отличие от трансплантации других солидных органов при трансплантации печени примерно у 20% реципиентов аллотрансплантата печени со временем развивается состояние иммунной толерантности, которое позволяет снизить дозы или совсем не принимать иммуносупрессивных препаратов [5]. Склонность к толерантности у реципиентов печени

развивается со временем: показано, что в среднем через 10,6 года после трансплантации печени в 79% случаев развивается иммунная толерантность [6]. Предположительно часть пациентов, живущих с трансплантатом печени более 10 лет, не нуждаются в иммуносупрессивной терапии и подвергаются риску, связанному с приемом этих препаратов. Поэтому актуальной клинической задачей является изучение механизмов развития толерантности и поиск биомаркеров, которые позволят идентифицировать и предсказывать развитие состояния иммунной толерантности.

Механизмы, лежащие в основе развития иммунной толерантности трансплантированных органов, сложны и во многом еще не исследованы. Уникальную возможность для понимания процессов развития иммунной толерантности представляет собой трансплантация печени. В отличие от других трансплантируемых органов печень обладает иммуномодулирующими, толерогенными свойствами, позволяющими трансплантату в ряде случаев приживаться без выраженной реакции отторжения. Полагают, что уникальная толерантность печени обусловлена специфическими функциями органа по интоксикации и выведению различных метаболитов. Толерогенные свойства печени также обеспечиваются особенностями структуры и клеточным составом печеночной ткани (рис. 1). Синусоидаль-



Рис. 1. Особенности структуры и клеточного состава печени, потенциально значимые для формирования толерантности трансплантата печени

Fig. 1. Liver structure characteristics and cell repertoire potentially significant for development of liver graft tolerance

ные эндотелиоциты печени, которые в отличие от сосудистого эндотелия не обладают базальной мембраной и плотными контактами, способны блокировать провоспалительные  $CD8^+$  Т-клетки [7]. Для печени характерна генерация аутоантигенспецифических регуляторных Т-клеток, которые путем активной супрессии Th1- и Th2-клеток формируют механизм аутоиммунной толерантности [8–10]. К подавлению иммунного ответа способны также звездчатые клетки печени, вызывающие апоптоз активированных Т-клеток посредством экспрессии B7-H1 и продукции цитокинов интерлейкинов (ИЛ) 6 и 10, трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta$ ) [11]. В другой работе показано, что звездчатые клетки индуцируют апоптоз активированных Т-клеток посредством системы Fas/Fas лиганд, ИЛ-10 и TGF- $\beta$  [12]. Предполагают также, что значительная роль в иммунокомпетентных свойствах печени принадлежит клеткам натуральных киллеров, число которых в печени человека составляет до 10% от общего числа лимфоцитов [13].

Полагают, что формирование иммунной толерантности трансплантата печени связано не только с иммунокомпетентными свойствами печени, но и с явлением химеризма, под которым понимается присутствие в одном органе или ткани клеток двух организмов. Явление химеризма, индуцирующее формирование тканевой толерантности, было открыто еще в середине прошлого века: R. Owen в 1945 году наблюдал химеризм эритроцитов у разнополых близнецов крупного рогатого скота, который приводил к реципрокной толерантности близнецов и устойчивому химеризму после рождения [14]. В 1953 году Billingham и соавт. [15] показали, что введение предшественников гемопоэтических клеток новорожденным мышам приводило к химеризму клеток крови и приживлению донорского кожного трансплантата. При трансплантации печени продемонстрирована возможность формирования двух типов химеризма – это химеризм гемопоэтических клеток крови и химеризм ткани печени [16]. Первый вариант связан с тем, что донорская печень содержит так называемые клетки-пассажиры, такие как лимфоциты и гемопоэтические стволовые клетки донора. После трансплантации эти клетки поступают в организм хозяина и образуют клоны всех типов клеток крови донора. При втором типе химеризма гемопоэтические стволовые клетки реципиента поступают в донорскую печень, где могут дифференцироваться в эндотелиальные клетки и гепатоциты. Химеризм крови и печени может быть как временным (транзиторным), так и устойчивым, и, как полагают, только последний связан с развитием толерантности. Важное значение для развития толерантности имеет степень химеризма, который условно определяют как микрохимеризм

(менее 20%), смешанный (от 20 до 80%) и макрохимеризм (более 80%). При высокой степени химеризма возникает риск развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Механизм влияния химеризма на развитие толерантности до конца не ясен, однако полагают, что он содержит как центральное, так и периферическое звено. Центральным механизмом толерантности связан с истощением реактивных клонов Т-лимфоцитов в тимусе: в результате негативной селекции происходит элиминация не только ауто-реактивных, но и донор-реактивных тимоцитов. В эксперименте показано, что у мышей с удаленным тимусом донор-специфическая толерантность не развивается [15]. Периферическая толерантность трансплантированной печени, связанная с химеризмом, как полагают, может быть обусловлена как меньшей иммуногенностью мозаичной ткани печени, так и гипореактивностью пула Т-клеток, содержащих донорские клоны.

При исследовании развития иммунной толерантности к трансплантированным органам используются различные подходы: изучаются различные маркеры (иммунные клетки, цитокины, белковые и нуклеиновые молекулы) в доступных для анализа биологических образцах (кровь, плазма или сыворотка крови, моча) и биоптате трансплантированного органа, экспрессия которых оценивается у пациентов, включенных в программу индукции иммунной толерантности, либо у пациентов с развившейся после трансплантации так называемой «операционной» толерантностью.

Одним из способов индукции донор-специфической толерантности является введение гемопоэтических стволовых клеток донора вместе с трансплантацией органа [17–19]. Для перенесения этого подхода в клиническую практику потребовались многие годы и преодоление таких проблем, как РТПХ, совместимость костного мозга донора по HLA и токсичность миелоаблативного режима кондиционирования. В настоящее время развивают новый подход немиелоаблативного режима кондиционирования при комбинированной трансплантации почки и ГСК с целью формирования высокой степени химеризма без развития РТПХ [18, 19]. В этих исследованиях удалось достичь индукции иммунной толерантности и отмены иммуносупрессии у более чем 80% реципиентов в течение года после трансплантации почки. Сравнительный анализ различных биомаркеров у реципиентов с развитием иммунной толерантности и без таковой показал, что смешанный лимфопролиферативный анализ лейкоцитов или реакция на цитотоксичность лимфоцитов не являются надежными показателями развития иммунной толерантности, т. к. они могут отражать лишь формирование транзиторного химеризма, тогда как для достижения полной толерантности

необходимо формирование устойчивого макрохимеризма Т-лимфоцитов и всей крови, что вызывает необходимость поиска новых биомаркеров.

Несмотря на то что в настоящее время в клинической трансплантологии идея достижения иммунной толерантности без иммуносупрессивных препаратов остается во многом иллюзорной, она вполне реальна в некоторых экспериментальных моделях, в частности у мышей [20]. Определенный успех в разработке различных подходов к развитию толерантности достигнут в преклинических испытаниях в экспериментальных моделях на приматах – от деплеции Т-клеток и смешанного химеризма до блокады костимуляции и клеточной терапии (рис. 2) [21–23]. В этих исследованиях показано, что наряду с развитием толерантности у значительного числа животных развивалось хроническое отторжение, в то же время удалось установить, что толерантность связана с развитием неопластических процессов, по крайней мере у приматов, которые опосредуются экспрессией регуляторными Т-клетками TGF- $\beta$  [24–26]. Таким образом, представление об операционной толерантности, пока не достижимой в клинической практике, явилось эффективным стимулом к развитию исследований, благодаря которым были раскрыты ранее неизвестные механизмы отторжения, регуляции и активации Т-клеток.

В качестве биомаркеров, позволяющих идентифицировать пациентов, у которых развилась толерантность, исследуются различные клетки или их продукты. Материалом исследования служат образцы крови, плазмы, сыворотки или других биологических жидкостей, а также биоптаты. В настоящее время для стратификации пациентов, склонных к толерантности, интенсивно развивают новые диаг-

ностические подходы на основе микрочипирования [27–29].

Высокотехнологичные исследования последних лет стали возможны благодаря значительным достижениям генетики и молекулярной биологии, которые стали результатом больших международных исследований, таких как геном человека или протеомные проекты. Кроме того, эти проекты привели к развитию новых методов анализа и изменили исследовательскую парадигму от научного редукционизма к формированию обширных баз данных для изучения максимального набора биологически активных молекул. Необходимость анализа больших массивов данных привела к развитию специализированных компьютерных программ с использованием подходов системной биологии и математических методов [30–33]. Возникли новые области исследований, называемые с помощью неологизма «омика» – метаболомика, протеомика, транскриптомика и т. п. Применительно к трансплантологии подобную область исследований называют трансплантомикой: она посвящена исследованию новых диагностических и прогностических биомаркеров и охватывает различные области трансплантологии, такие как исследование предикторов для оценки рисков аллотрансплантата, идентификация биомаркеров острого и хронического повреждения трансплантата, оценка соответствия донорского органа и его жизнеспособности в период хранения, а также поиск биомаркеров иммунной толерантности [28].

Развитие молекулярных методов инициировало значительное число транскриптомных исследований, позволяющих изучать полные наборы РНК мессенджеров и некодирующих транскриптов РНК, таких как микро-РНК и малые ядерные РНК. Кро-

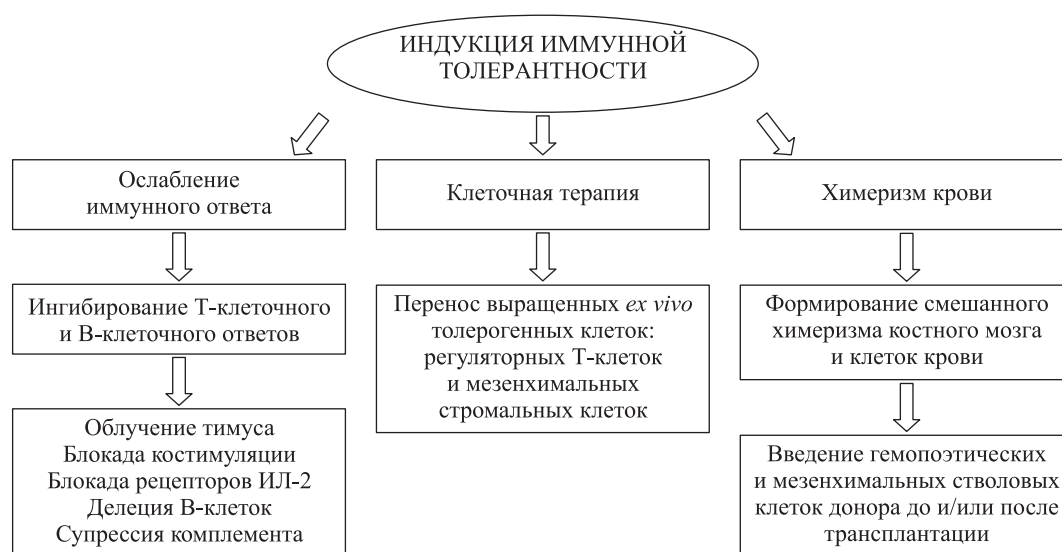


Рис. 2. Перспективные подходы к индукции иммунной толерантности трансплантата печени

Fig. 2. Perspective approach to induction of liver graft tolerance



ме того, требуется учитывать более сложные взаимодействия, такие как сплайсинг РНК (вырезание и склеивание частей молекулы), посттрансляционные изменения и эпигенетический контроль. Таким образом, транскриптомика представляет собой крупномасштабное исследование продуктов транскрипции, их регуляции и модификации. Метод микрочипирования позволяет одновременно получить данные об экспрессии тысяч генов, что генерирует огромное количество информации, которую сложно интерпретировать. Работы в этой области начались около десяти лет назад и находятся в основном в начальной стадии, хотя в ряде случаев уже описано использование тестов на основе биомаркеров в практике. Так, для неинвазивной диагностики отторжения у реципиентов сердца используют диагностический набор для определения 11 транскриптов методом микрочипирования [34].

Среди перспективных биомаркеров, возможная эффективность которых была показана в клинических исследованиях, значатся регуляторные Т-клетки с фенотипом CD4+CD25+Foxp3+, различные факторы роста, цитокины и транскрипты РНК [28, 35, 36]. В работе Zhao и соавторов [37] был проведен анализ содержания в биоптате печени детей-реципиентов гамма-дельта ( $\gamma\delta$ ) Т-клеток, количество которых, как было показано ранее [38], было значительно выше в крови реципиентов с развившейся иммунной толерантностью. С помощью секвенирования транскриптов дельта звена Т-клеточного рецептора  $\gamma\delta$  Т-клеток было обнаружено, что у реципиентов с развившейся иммунной толерантностью соотношение V $\delta$ 1:V $\delta$ 2 Т-клеток в печени выше, чем у пациентов, принимавших иммуносупрессанты. Было показано, что в толерантной печени преимущественно накапливается уникальный клон V $\delta$ 1 Т-клеток. В отличие от V $\delta$ 2-клеток, включенных в воспалительный ответ, V $\delta$ 1 Т-клетки обладают иммунорегуляторными и супрессивными свойствами. Таким образом, авторы предлагают идентифицировать реципиентов с развившейся иммунной толерантностью с помощью секвенирования  $\delta$ -звена олигоклонов этих Т-клеток, аккумулированных в трансплантате печени.

К настоящему времени опубликованы результаты ряда клинических исследований, посвященных сравнительному изучению транскрипции различных генов в образцах крови реципиентов печени, у которых развилась или не развилась иммунная толерантность [6, 39]. Одна из сложностей интерпретации данных таких исследований связана с использованием реципиентами группы без индукции толерантности иммуносупрессантов, которые могут оказывать влияние на получаемый результат. Чтобы обойти влияние иммуносупрессивной терапии, в качестве группы сравнения исследуют

здоровых пациентов, что, однако, также может влиять на результат, в связи с тем что испытуемым не проводилась трансплантация печени. В условиях отсутствия популяционной группы для корректного сравнения используется подход с множественными контрольными группами и большим количеством испытуемых. В целом в этих работах было идентифицировано более 2000 различных генов, экспрессия которых отличалась в сравниваемых группах пациентов, из них только 12 генов коррелировали с развитием толерантности. Идентифицированные гены в основном связаны с клеточной активностью натуральных киллеров: у пациентов с развившейся иммунной толерантностью процент натуральных киллеров и гамма-дельта Т-клеток в крови был значительно выше.

Другими факторами, ограничивающими интерпретацию полученных результатов, являются ретроспективный дизайн большинства исследований и использование в качестве биоматериала только образцов крови. Эти проблемы пытались преодолеть в работе Bohne с соавторами [40], в которой был проведен одновременный анализ маркеров в крови и в трансплантированной печени, полученной с помощью биопсии у 75 реципиентов со стабильной функцией трансплантата печени, которым постепенно снижали дозировку иммуносупрессантов. В результате 33 пациента прекратили принимать иммуносупрессанты без негативных последствий, тогда как у остальных 42 реципиентов толерантности достичь не удалось. Сравнительный анализ экспрессии генов в мононуклеарных клетках периферической крови и клетках биоптата печени показал, что активность генов в крови и в печени различалась. Если в крови пациентов с иммунной толерантностью наблюдалась увеличенная экспрессия генов, связанных с клетками натуральных киллеров, то в биоптате наблюдались изменения в экспрессии генов, связанных с обменом железа. Можно полагать, что донорская печень защищает себя от иммунной системы хозяина изменением обмена железа. В то же время перераспределение метаболизма железа через модуляцию экспрессии гепсидина и ферропортина является известным механизмом противомикробной стратегии у млекопитающих. Таким образом, остается неясным, связано ли изменение метаболизма железа с защитой от инфекции или с развитием иммунной толерантности.

Большинство клинических исследований иммунной толерантности проводят при трансплантации печени, т. к. сам орган является иммунопривилегированным, но лишь незначительное число пациентов достигает состояния стабильной толерантности, поэтому усилия в этой области продолжаются, и возможно, в недалеком будущем анализ биомаркеров иммунной толерантности войдет в

повседневную трансплантологическую клиническую практику, например, подобно иммунологическому контролю.

Одно из самых больших исследований в трансплантологии было проведено в нескольких центрах США и включало реципиентов печени взрослого и детского возраста, получавших трансплантат как от живого, так и от умершего донора [39]. В этом исследовании были идентифицированы 13 генов, экспрессия которых отличалась у реципиентов с толерантностью, независимо от возраста и типа донора. Эти гены, как и в более ранних работах, главным образом были связаны с активностью натуральных киллеров. Анализ генов позволяет предсказывать развитие толерантности у реципиентов печени со 100%-ной чувствительностью и 83%-ной специфичностью. Такой уровень точности метода позволяет не проводить биопсию трансплантата.

Преимущество неинвазивных методов определения биомаркеров очевидно, однако матричная РНК недостаточно стабильна в периферической крови. Более стабильной является некодирующая микроРНК (миРНК), которая, как предполагают, контролирует гены, относящиеся к аллореактивному иммунному ответу, и ее секвенирование с помощью передовых технологий может стать новым многообещающим диагностическим подходом [41]. Стабильность миРНК в биологических жидкостях позволяет исследовать ее уровень в моче, что является значительным достижением неинвазивной диагностики. Первые крупные исследования в этой области выполнены у реципиентов почки, у которых удалось идентифицировать три вида миРНК, позволяющих предсказать отторжение трансплантата [26]. При трансплантации печени подобные работы пока проведены только на экспериментальных моделях [42].

Следует отметить, что исследования биомаркеров различными авторами отличаются как по технике выполнения, так и методически. Зачастую идентифицированные гены-маркеры не совпадают, что ставит под сомнение надежность результатов и применимость в клинической практике [38]. Метаанализ различных транскрипционных исследований с использованием новейших статистических методик помогает во многом преодолеть эти трудности и найти общие гены, позволяющие с большой специфичностью и чувствительностью предсказывать развитие отторжения и толерантности. Так, метаанализ пяти различных баз данных по реципиентам почки позволил выделить 20 наиболее важных генов [29]. Для валидации этой методики в настоящее время в Европе проводятся большие клинические испытания, названные BIO-Drim (Biomarker-Driven personalized Immunosuppression – основанная на биомаркерах персонализированная иммуносупрессия) [28].

Уникальные свойства пересаженной печени как иммунопривилегированного и иммуномодулирующего органа в сочетании с современными технологическими возможностями трансплантологии позволяют расшифровать иммунные механизмы, лежащие в основе приживления органа без иммуносупрессии, и развивать подходы к индукции иммунной толерантности. Понимание, что часть реципиентов печени, особенно тех, кто живет с ней длительное время, могут обходиться меньшими дозами иммуносупрессантов, должно привести к внедрению биомаркеров иммунной толерантности в клиническую практику.

В последние 10–15 лет проводилось значительное количество исследований, посвященных поиску биомаркеров и методов для идентификации пациентов, которым можно безопасно минимизировать или отменить иммуносупрессию [6, 38, 39]. Несмотря на то что к настоящему времени опубликовано большое количество работ с описанием новых биомаркеров и методик их определения [28, 29, 43–46], большая часть биомаркеров не протестирована в многоцветных рандомизированных клинических испытаниях.

Прежде чем внедрять такие биомаркеры в клинику, необходимо в мультицентровых исследованиях доказать точность определения, воспроизводимость и стабильность результатов, а также необходимо понимать возможные ограничения применения анализа биомаркеров. Так, в настоящее время в базах данных недостаточно информации о биомаркерах у здоровых людей разного возраста, пола и разной этничности. Накопление данных по пациентам вкупе с совершенствованием биоинформатики может значительно ускорить процесс развития подходов для стратификации пациентов [45]. Бурно развивающиеся новые технологии, такие как методика секвенирования следующего поколения, позволяют понять молекулярные механизмы нормальных, патологических и фармакологических процессов, протекающих при трансплантации органов. Дальнейшее накопление данных различных типов «омик» в общие базы данных, сотрудничество между исследователями, клиническими лабораториями и клиниками является основой для развития персонализированной медицины.

В заключение следует отметить, что до настоящего времени нет биомаркеров, валидированных для определения состояния иммунной толерантности и индивидуального подбора иммуносупрессантов. Исследование различных биомаркеров при трансплантации солидных органов позволит не только понять механизмы развития толерантности и отторжения, но и помочь в разработке подходов к индукции толерантности трансплантированных органов и развитию индивидуальных подходов к

терапии реципиентов, в частности при назначении иммуносупрессивных препаратов, позволяющих минимизировать их прием.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Adams DH, Sanchez-Fueyo A, Samuel D. From immunosuppression to tolerance. *J. Hepatol.* 2015; 62: 170–185.
2. Готье СВ. Трансплантология: итоги и перспективы. Том VI. 2014 год. М.–Тверь: Триада; 2015. 448 с. Gautier SV. Transplantologia: itogi i perspektivy. Tom VI. 2014 god. M.–Tver: Triada; 2015. 448. [In Russian]
3. Marcen R. Immunosuppressive drugs in kidney transplantation: impact on patient survival, and incidence of cardiovascular disease, malignancy and infection. *Drugs.* 2009; 69 (16): 2227–2243.
4. Ekberg H, Bernasconi C, Noldeke J, Yussim A, Mjornstedt L, Erken U et al. Cyclosporine, tacrolimus and sirolimus retain their distinct toxicity profiles despite low doses in the Symphony study. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010; 25 (6): 2004–2010.
5. Heidt S, Wood KJ. Biomarkers of Operational Tolerance in Solid Organ Transplantation. *Expert Opin. Med. Diagn.* 2012; 6 (4): 281–293.
6. Benitez C, Londono MC, Miquel R, Manzia TM, Abraldes JG, Lozano JJ et al. Prospective multicenter clinical trial of immunosuppressive drug withdrawal in stable adult liver transplant recipients. *Hepatology.* 2013; 58 (5): 1824–1835.
7. Schildberg FA, Hegenbarth SI, Schumak B, Scholz K, Limmer A, Knolle PA. Liver sinusoidal endothelial cells veto CD8 T-cell activation by antigen-presenting dendritic cells. *Eur. J. Immunol.* 2008; 38 (4): 957–967.
8. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T-cells. *Nature.* 2006; 441 (7090): 235–238.
9. Marie JC, Liggitt D, Rudensky AY. Cellular mechanisms of fatal early-onset autoimmunity in mice with the T-cell-specific targeting of transforming growth factor-beta receptor. *Immunity.* 2006; 25 (3): 441–454.
10. Li MO, Wan YY, Flavell RA. T cell-produced transforming growth factor-beta1 controls T-cell tolerance and regulates Th1- and Th17-cell differentiation. *Immunity.* 2007; 26 (5): 579–591.
11. Charles R, Chou HS, Wang L, Fung JJ, Lu L, Qian S. Human hepatic stellate cells inhibit T-cell response through B7-H1 pathway. *Transplantation.* 2013; 96 (1): 17–24.
12. Jiang Z, Chen Y, Feng X, Jiang J, Chen T, Xie H et al. Hepatic stellate cells promote immunotolerance following orthotopic liver transplantation in rats via induction of T-cell apoptosis and regulation of Th2/Th3-like cell cytokine production. *Exp. Ther. Med.* 2013; 5 (1): 165–169.
13. Sanchez-Fueyo A, Strom TB. Immunologic basis of graft rejection and tolerance following transplantation of liver or other solid organs. *Gastroenterology.* 2011; 140 (1): 51–64.
14. Owen RD. Immunogenetic Consequences of Vascular Anastomoses between Bovine Twins. *Science.* 1945; 102 (2651): 400–401.
15. Billingham RE, Brent L, Medawar PB. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature.* 1953; 172 (4379): 603–606.
16. Starzl TE. Clinical and basic scientific implications of cell migration and microchimerism after organ transplantation. *Artif. Organs.* 1997; 21 (11): 1154–1155.
17. Wu SL, Pan CE. Tolerance and chimerism and allogeneic bone marrow/stem cell transplantation in liver transplantation. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19 (36): 5981–5987.
18. Leventhal J, Miller J, Abecassis M, Tollerud DJ, Ildstad ST. Evolving Approaches of Hematopoietic Stem Cell – Based Therapies to Induce Tolerance to Organ Transplants: The Long Road to Tolerance. *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* 2013; 93 (1): 36–45.
19. Scandling JD, Busque S, Dejbakhsh-Jones S, Benike C, Sarwal M, Millan MT et al. Tolerance and withdrawal of immunosuppressive drugs in patients given kidney and hematopoietic cell transplants. *Am. J. Transplant.* 2012; 12 (5): 1133–1145.
20. Bishop GA, Wang C, Sharland AF, McCaughan G. Spontaneous acceptance of liver transplants in rodents: evidence that liver leucocytes induce recipient T-cell death by neglect. *Immunol. Cell Biol.* 2002; 80 (1): 93–100.
21. Hamawy MM, Knechtle SJ. Strategies for tolerance induction in nonhuman primates. *Curr. Opin. Immunol.* 1998; 10 (5): 513–517.
22. Kawai T, Cosimi AB, Sachs DH. Preclinical and clinical studies on the induction of renal allograft tolerance through transient mixed chimerism. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2011; 16 (4): 366–371.
23. Torrealba JR, Fernandez LA, Kanmaz T, Oberley TD, Schultz JM, Brunner KG et al. Immunotoxin-treated rhesus monkeys: a model for renal allograft chronic rejection. *Transplantation.* 2003; 76 (3): 524–530.
24. Page EK, Dar WA, Knechtle SJ. Biologics in organ transplantation. *Transpl. Int.* 2012; 25 (7): 707–719.
25. Page EK, Dar WA, Knechtle SJ. Tolerogenic therapies in transplantation. *Front Immunol.* 2012; 3 (198).
26. Suthanthiran M, Schwartz JE, Ding R, Abecassis M, Dadhania D, Samstein B et al. Urinary-cell mRNA profile and acute cellular rejection in kidney allografts. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369 (1): 20–31.
27. Vitalone MJ, Wei L, Fujiki M, Lau AH, Littau E, Esquivel C et al. Liver microRNA Profile of Induced Allograft Tolerance. *Transplantation.* 2016; 100 (4): 781–790.
28. Mastoridis S, Martinez-Llordella M, Sanchez-Fueyo A. Emergent Transcriptomic Technologies and Their Role in the Discovery of Biomarkers of Liver Transplant Tolerance. *Front Immunol.* 2015; 6 (304).
29. Baron D, Ramstein G, Chesneau M, Echassieriau Y, Pallier A, Paul C et al. A common gene signature across multiple studies relate biomarkers and functional regulation in tolerance to renal allograft. *Kidney Int.* 2015; 87 (5): 984–995.
30. Machina HK, Wild DJ. Laboratory Informatics Tools Integration Strategies for Drug Discovery Integration of LIMS, ELN, CDS, and SDMS. *Journal of laboratory automation.* 2013; 18 (2): 126–136.
31. Voegelé C, Tavtigian SV, de Silva D, Cuber S, Thomas A, Le Calvez-Kelm F. A Laboratory Information Manage-



- ment System (LIMS) for a high throughput genetic platform aimed at candidate gene mutation screening. *Bioinformatics*. 2007; 23 (18): 2504–2506.
32. Курабекова РМ, Бельченков АА, Олефиренко ГА, Макарова ЛВ, Кангизер АА, Шевченко ОП. Опыт автоматизации работы научно-исследовательской лаборатории с использованием стандартной лабораторной информационной системы. *Лаборатория*. 2015; (3): 19–22. Kurabekova RM, Belchenkov AA, Olefirenko GA, Makarova LV, Kangizer AA, Shevchenko OP. Opyt avtomatizatsii raboty nauchno-issledovatel'skoi laboratorii s ispol'sovaniem standartnoi laboratornoi informacionnoi sistemy. *Laboratoria*. 2015; (3): 19–22. [Russian]
33. Курабекова РМ, Шевченко ОП, Цирульникова ОМ, Олефиренко ГА, Гичкун ОЕ, Цирульникова ИЕ и др. Биомаркеры у детей – реципиентов печени. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2015620210; 2015. Kurabekova RM, Shevchenko OP, Tsirulnikova OM, Olefirenko GA, Gichkun OE, Tsirulnikova IE et al. Biomarkery u detey – recipientov pecheni. Svidetel'stvo o gosudarstvennoy registratsii bazy dannykh № 2015620210; 2015. [Russian]
34. Pham MX, Teuteberg JJ, Kfoury AG, Starling RC, Deng MC, Cappola TP et al. Gene-expression profiling for rejection surveillance after cardiac transplantation. *N. Engl. J. Med*. 2010; 362 (20): 1890–1900.
35. Weiss JM, Subleski JJ, Back T, Chen X, Watkins SK, Yagita H et al. Regulatory T cells and myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment undergo Fas-dependent cell death during IL-2/alphaCD40 therapy. *J. Immunol*. 2014; 192 (12): 5821–5829.
36. Hu M, Wang C, Zhang GY, Saito M, Wang YM, Fernandez MA et al. Infiltrating Foxp3(+) regulatory T-cells from spontaneously tolerant kidney allografts demonstrate donor-specific tolerance. *Am. J. Transplant*. 2013; 13 (11): 2819–2830.
37. Zhao X, Li Y, Ohe H, Nafady-Hego H, Uemoto S, Bishop GA et al. Intragraft Vdelta1 gammadelta T-cells with a unique T-cell receptor are closely associated with pediatric semiallogeneic liver transplant tolerance. *Transplantation*. 2013; 95 (1): 192–202.
38. Lozano JJ, Pallier A, Martinez-Llordella M, Danger R, Lopez M, Giral M et al. Comparison of transcriptional and blood cell-phenotypic markers between operationally tolerant liver and kidney recipients. *Am. J. Transplant*. 2011; 11 (9): 1916–1926.
39. Li L, Wozniak LJ, Rodder S, Heish S, Talisetti A, Wang Q et al. A common peripheral blood gene set for diagnosis of operational tolerance in pediatric and adult liver transplantation. *Am. J. Transplant*. 2012; 12 (5): 1218–1228.
40. Bohne F, Martinez-Llordella M, Lozano JJ, Miquel R, Benitez C, Londono MC et al. Intra-graft expression of genes involved in iron homeostasis predicts the development of operational tolerance in human liver transplantation. *J. Clin. Invest*. 2012; 122 (1): 368–382.
41. Wei L, Gong X, Martinez OM, Krams SM. Differential expression and functions of microRNAs in liver transplantation and potential use as non-invasive biomarkers. *Transpl. Immunol*. 2013; 29 (1–4): 123–129.
42. Morita M, Chen J, Fujino M, Kitazawa Y, Sugioka A, Zhong L et al. Identification of microRNAs involved in acute rejection and spontaneous tolerance in murine hepatic allografts. *Sci. Rep*. 2014; 4 (6649).
43. Xie QY, Almudevar A, Whitney-Miller CL, Barry CT, McCall MN. A microRNA biomarker of hepatocellular carcinoma recurrence following liver transplantation accounting for within-patient heterogeneity. *BMC Med. Genomics*. 2016; 9 (1): 016–0179.
44. Gautier SV, Shevchenko OP, Tsirulnikova OM, Kurabekova RM, Lugovskaya SA, Naumova EV et al. The hematopoietic stem cell number in the peripheral blood of pediatric recipients correlates with the outcome after living donor liver transplantation. *Pediatr. Transplant*. 2015; 19 (5): 531–537.
45. Schlickeiser S, Boes D, Streitz M, Sawitzki B. The use of novel diagnostics to individualize immunosuppression following transplantation. *Transpl. Int*. 2015; 28 (8): 911–920.
46. Шевченко ОП, Цирульникова ОМ, Курабекова РМ, Цирульникова ИЕ, Олефиренко ГА, Готье СВ. Уровень трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  в плазме крови детей – реципиентов печени и его связь с функцией трансплантата. *Иммунология*. 2015; 36 (6): 343–347. Shevchenko OP, Tsirulnikova OM, Kurabekova RM, Tsirulnikova IE, Olefirenko GA, Gautier SV. Blood plasma level of transforming growth factor  $\beta 1$  in pediatric liver transplant recipients and its relationship with graft function. *Immunologiya*. 2015; 36 (6): 343–347 [In Russian (abstract in English)].

Статья поступила в редакцию 15.04.2016 г.

The article was submitted to the journal on 15.04.2016