

DOI: 10.15825/1995-1191-2017-2-139-151

## МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА АЛЛОГЕННУЮ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ ОРГАНОВ

*A.S. Berkos<sup>1</sup>, G.V. Nikolaev<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Проблема гуморального, антителоопосредованного отторжения донорского органа остается крайне актуальной. Главной мишенью антител в основном являются донорские HLA-антигены (Human Leucocyte Antigens), экспрессируемые, в частности, клетками сосудистого эндотелия трансплантата. В данном обзоре рассматриваются механизмы развития гуморального аллоиммунитета, в основе которых лежит распознавание В-клетками реципиента эпитопов донорских HLA-молекул и созревание аффинности В-клеточных рецепторов в герминативных центрах периферической лимфатической системы. Учет показателей эпитопной нагрузки и кросс-реактивности при анализе HLA-совместимости донора и реципиента играет важную роль в профилактике гуморального отторжения аллогенного трансплантата.

*Ключевые слова: гуморальное отторжение, аллогенный трансплантат, HLA-антигены, В-клеточные рецепторы, герминативные центры, эпитопы, кросс-реактивность.*

## THE MECHANISM OF HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO ALLOGENEIC ORGAN TRANSPLANTATION

*A.S. Berkos<sup>1</sup>, G.V. Nikolaev<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Federal State Budgetary Institution Federal Almazov North-West Medical Research Centre of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

The problem of antibody-mediated rejection of donor organ remains extremely relevant. The main targets of the antibodies are mainly donor HLA-antigens (Human Leucocyte Antigens), expressed, in particular, by the cells of graft vascular endothelium. This review describes the mechanisms of the development of humoral alloimmunity which are based on B-cell recognition of epitopes of donor HLA-molecules and affinity maturation of B-cell receptors in the germinal centers of peripheral lymphatic system. Monitoring of epitope load and cross-reactivity indicators to evaluate HLA-compatibility of donor and recipient plays an important role in the prevention of allograft humoral rejection.

*Key words: humoral rejection, allograft, HLA-antigens, B-cell receptors, germinal centers, epitopes, cross-reactivity.*

### ВВЕДЕНИЕ

Результатом процесса распознавания аллоантигенов, экспрессированных в тканях трансплантата, является реализация организмом реципиента так называемых эффекторных механизмов, направленных на уничтожение клеток, несущих данные антигенные детерминанты, что приводит к отторжению

донорского органа. Различают клеточный и гуморальный механизмы отторжения. В зависимости от пути аллораспознавания и продолжительности контакта с донорской тканью доминирует тот или иной тип отторжения. Внедрение в клиническую практику высокоэффективных иммунокорректирующих препаратов, направленных на подавление цитотоксического Т-клеточного звена иммунитета,

**Для корреспонденции:** Беркос Андрей Станиславович. Адрес: 196601, Санкт-Петербург, Пушкин, ул. Жуковско-Волынская, д. 4а. Тел.: (812) 451-90-52, (911) 952-59-80. E-mail: aberkos@yandex.ru.

**For correspondence:** Berkos Andrey Stanislavovich. Address: 4a, Jukovsko-Volynskaya st., St-Petersburg, Pushkin, 196601, Russian Federation. Tel.: (812) 451-90-52, (911) 952-59-80. E-mail: aberkos@yandex.ru

индуцированного преимущественно прямым алло-распознаванием, позволило резко снизить количество потерь трансплантатов, обусловленных острым клеточным отторжением. В то же время проблема гуморального, антителоопосредованного отторжения донорского органа остается крайне актуальной. Сегодня причиной более 50% потерь трансплантатов, особенно в отдаленные сроки после пересадки, является именно этот тип отторжения [1–3].

Механизм развития гуморального аллоиммунитета, в основе которого лежит не прямое распознавание чужеродного антигена, сложен и до конца не изучен. В настоящее время выявлен целый ряд разновидностей антител (изотипы суперсемейства иммуноглобулинов – Ig), продуцируемых иммунной системой реципиента в ответ на аллогенную трансплантацию. Главной мишенью этих антител в основном являются донорские лейкоцитарные антигены (Human Leucocyte Antigens) (HLA), экспрессируемые, в частности, клетками сосудистого эндотелия трансплантата. Однако возможна выработка антител и к другим тканевым антигенам, обладающим определенным полиморфизмом, например, к минорным антигенам Главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex) (MHC). Современные методы идентификации аллоантител характеризуются высочайшей степенью чувствительности и специфичности, что позволяет отслеживать появление признаков гуморального отторжения задолго до его клинических проявлений. Вместе с тем клиническая значимость выявления отдельных видов антител, с точки зрения повреждающего или даже возможного их положительного влияния на приживление трансплантата, остается не вполне ясной [4–6].

Наряду с антителами, вырабатываемыми непосредственно к антигенам донорской ткани после трансплантации (*de novo* антитела), большое прогностическое значение имеют так называемые предсуществующие HLA-антитела, продуцируемые организмом реципиента в ответ на определенные иммуногенные воздействия в дотрансплантационном периоде (предсуществующая HLA-сенсibilизация). К таковым воздействиям относятся: беременность, гемотрансфузии и ранее проведенные трансплантации органов и тканей. Уровень предсуществующей сенсibilизации пациента (панель реактивных антител), специфичность и класс HLA-антител, а также изотип иммуноглобулинов являются необходимой информацией, которая наряду с HLA-фенотипом включается в лист ожидания и используется для подбора оптимально совместимого донорского органа. Грамотный анализ результатов исследования HLA-сенсibilизации перед трансплантацией и в посттрансплантационном периоде, полученных с помощью комплекса современных

методов, позволяет прогнозировать и своевременно диагностировать развитие гуморального отторжения трансплантата, и следовательно, продлевать сроки его функционирования [7]. Углубленное изучение любого биологического процесса, несмотря на всю его сложность и многофакторность, позволяет ощутить и понять его логику и эволюционную детерминированность. Это в полной мере относится и к осмыслению механизмов развития гуморального иммунитета. Несмотря на то что многое в этом процессе в настоящее время остается неясным, существует достаточно четкое представление об основных путях развития этого типа иммунного ответа. Базируясь на общепринятом представлении о том, что в основе аллораспознавания лежат механизмы, задействованные иммунной системой организма при ответе на инфекцию, в данном обзоре мы попытались экстраполировать современные знания в этой области на проблему гуморального отторжения аллогенного трансплантата.

## МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ ГУМОРАЛЬНОГО АЛЛОИММУНИТЕТА

### Распознавание аллогенного антигена

В предыдущем нашем обзоре, который был посвящен анализу путей распознавания аллоантигенов [8], обсуждалась гипотеза о том, что прямое распознавание в своем развитии схоже с ответом на эндогенную инфекцию, а не прямое распознавание – на экзогенную инфекцию. В первом случае активируются прямые аллореактивные Т-клетки, индуцируя образование клонов цитотоксических CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов. Во втором случае чужеродные антигены донорской ткани распознаются непрямыми аллореактивными CD4<sup>+</sup> Т-клетками, которые, взаимодействуя с В-лимфоцитами, направляют развитие иммунного ответа преимущественно по гуморальному типу [9]. Принципиальной особенностью, объединяющей оба этих процесса, является так называемая трехклеточная модель взаимодействия, подразумевающая участие антигенпрезентирующей клетки (АПК), Т-хелпера (Тх) и соответствующей эффекторной клетки [10]. При клеточном варианте отторжения в качестве главных эффекторных клеток выступают цитотоксические CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты, уничтожающие клетки-мишени при непосредственном контакте. При гуморальном типе отторжения эффекторными клетками являются В-лимфоциты, которые в результате активации трансформируются в плазматические клетки, продуцирующие антитела, которые, в свою очередь, повреждают ткани трансплантата путем активации системы комплемента или антителозависимой клеточной цитотоксичности. При этом на определенной стадии этого процесса В-клетка выступает в

качестве антигенпрезентирующей. Очевидно, что гуморальный иммунный ответ на аллотрансплантат, так же, как и на экзогенную инфекцию, является продолжением, а по сути заключительной фазой клеточного звена иммуногенеза, обеспечивающего организм необходимой концентрацией высокоспецифичных к чужеродному антигену антител.

В основе гуморального отторжения лежат механизмы распознавания аллоантигена Т- и В-лимфоцитами, а также взаимодействие этих клеток в процессе развития этого типа иммунного ответа [11]. Механизм распознавания антигена Т-клеточными рецепторами (ТкР) и В-клеточными рецепторами (ВкР) имеет принципиальное сходство и вместе с тем обладает существенными различиями. Сходство обусловлено строением данных рецепторов, представляющих собой молекулы суперсемейства иммуноглобулинов. Главными функциональными структурами данных молекул являются гипервариабельные участки полипептидных цепей, ответственные за специфичное связывание с антигеном. Для ТкР и ВкР они идентифицируются как регионы, определяющие комплементарность (complementarity determining region – CDR) (рис. 1). В структуре CDR как ТкР, так и ВкР выделяют 3 основных региона, из которых CDR3 ответственен за специфичное связывание с эпитопом, а CDR1 и CDR2 обеспечивают стабильность этого взаимодействия [12]. Главным различием является то, что ТкР способны распознавать только процессированный антигенный пептид,

презентированный в комплексе с молекулой МНС, в то время как ВкР связываются с эпитопами, располагающимися в структуре нативной молекулы антигена. Такое комплексное распознавание антигенных детерминант Т- и В-клетками обеспечивает иммунной системе организма, с одной стороны, максимально быстрое начало нейтрализации патогена, с другой – возможность распознавания самых тонких различий в структуре эпитопа (на уровне одного аминокислотного остатка) для повышения эффективности иммунного ответа к данному антигену [13]. Способность Т- и В-клеток распознавать огромное количество всевозможных антигенов и одновременно быть толерантными к аутоантигенам обеспечивается процессами позитивной и негативной селекции, которой они подвергаются в процессе своего созревания в тимусе (Т-лимфоциты), а также в костном мозге и периферической лимфоидной ткани (В-лимфоциты). В результате процессов генной рекомбинации и соматической гипермутации формируются функциональные ТкР и ВкР, обладающие уникальными специфичностями, позволяющими связывать любой чужеродный (в том числе аллогенный) антиген, проникающий в организм.

### Аллогенный антиген

Термин «антиген» происходит от английского словосочетания «antibody generator», что означает «генератор антител». Важной особенностью

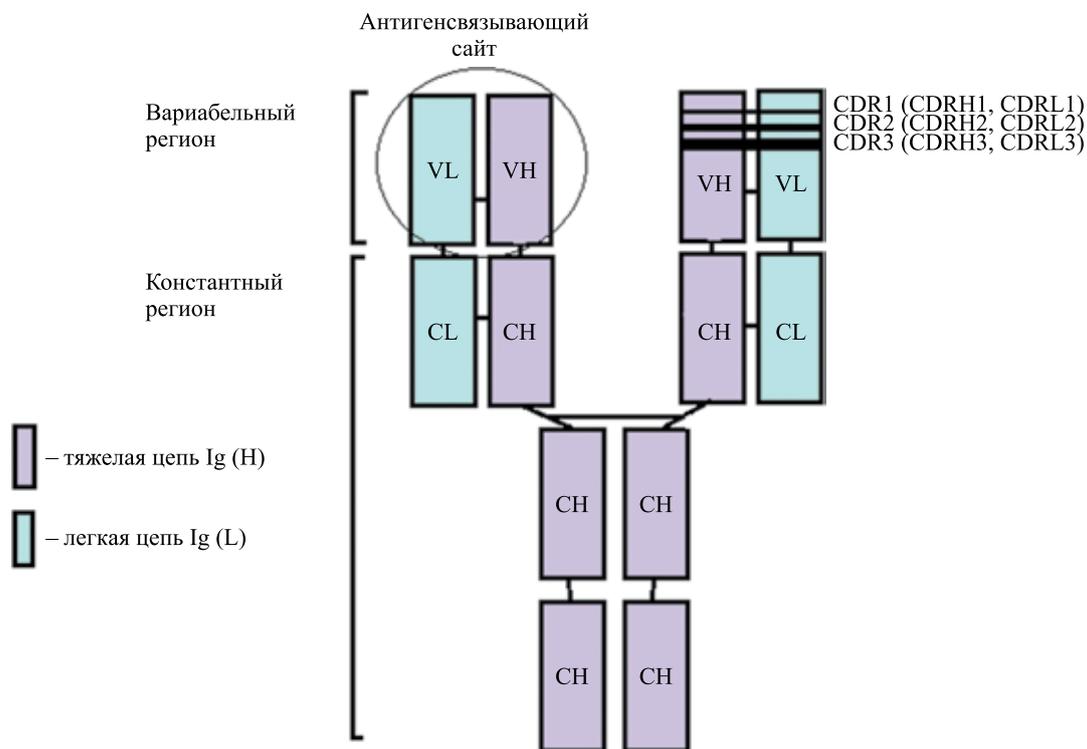


Рис. 1. Локализация региона, определяющего комплементарность (CDR) в структуре молекулы иммуноглобулина

Fig. 1. Localization of complementarity determining region (CDR) in structure of an immunoglobulin molecule

антигена является его способность подвергаться расщеплению антигенпрезентирующими клетками (процессированию). В связи с этими свойствами все антигены подразделяются на две группы: тимус-независимые и тимус-зависимые антигены. К тимус-независимым антигенам относят молекулярные структуры, способные напрямую активировать В-клетки, связывая (сшивая) одновременно несколько ВкР за счет линейной повторяемости эпитопов. Данные антигены устойчивы к расщеплению и подразделяются на две группы: растворенные липополисахариды и полисахариды мембраны бактериальной клетки. Антитела, продуцируемые в ответ на тимус-независимые антигены, как правило, IgM класса и обладают достаточно низкой аффинностью – способностью специфично связывать данный антиген. При этом иммунный ответ характеризуется быстрым кратковременным нарастанием и быстрым падением концентрации антител, а также низким уровнем иммунологической памяти [12].

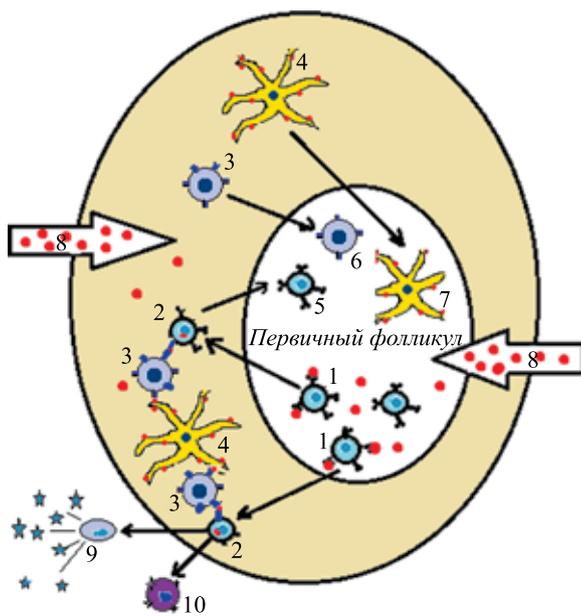
К тимус-зависимым относятся антигены, которые не могут напрямую при взаимодействии с ВкР активировать В-клетки, но способны опосредованно, при участии Т-хелперов индуцировать активацию В-клеток, будучи процессированными и презентированными АПК в комплексе с молекулой МНС [14–16]. Очевидно, что к данной группе антигенов относятся все белковые структуры, в том числе HLA-молекулы, представляющие собой гликопротеины. При аллогенной трансплантации в качестве антигена, индуцирующего гуморальный иммунный ответ, преимущественно выступают донорские HLA-молекулы, которые, располагаясь на клеточной мембране или свободно циркулируя в кровотоке, вступают в контакт с иммунокомпетентными клетками реципиента. Именно эти молекулы в процессе антителогенеза играют ключевую роль в активации и взаимодействии АПК, Т- и В-клеток.

### **Взаимодействие АПК, Т- и В-клеток в гуморальном аллоиммунитете**

В результате своего развития зрелые naive В-лимфоциты, покидающие костный мозг, экспрессируют на своей поверхности молекулы IgM или IgD, представляющие главный элемент В-клеточного рецептора, специфичного к определенному антигену [12, 17, 18]. Однако процесс созревания В-клеток еще не завершен. Происходит важнейший этап «негативной селекции» клеток, обладающих ВкР, связывающими аутоантигены. На этой стадии развития В-клетки идентифицируют как «транзиторные» [19]. В результате взаимодействия транзиторных клеток с различными антигенами, в том числе с собственными HLA-молекулами, те лимфоциты, чьи ВкР обладают высоким уровнем аффинности,

элиминируются, подвергаясь апоптозу. Сигнал на выживание получают только те В-клетки, которые демонстрируют при контакте с антигеном достаточно низкий (подпороговый) уровень аффинности рецепторов к соответствующим эпитопам [20]. Следует отметить, что в результате «негативной селекции» лишь небольшая часть становится окончательно зрелыми В-клетками, способными связывать чужеродные антигены. При этом ВкР отобранных клеток обладают слабой аффинностью и к собственным HLA-антигенам. Очевидно сходство механизмов созревания В-клеток с процессом «позитивной» и «негативной» селекции Т-клеток в тимусе [21]. Важно подчеркнуть, что и в том, и в другом случае в результате селекции отбираются клетки, несущие ТкР и ВкР, обладающие не только определенной степенью сродства к собственным HLA молекулам, но и способностью реагировать с аллогенными, структурно схожими HLA-детерминантами (молекулярная мимикрия). Это связано с «пластичной» структурой CDR3 – области Т- и В-клеточных рецепторов, отвечающей за данное взаимодействие [12].

Зрелые naive В-клетки циркулируют по кровеносной и лимфатической системе. В «поисках» контакта с соответствующим антигеном они задерживаются в периферических лимфоузлах и селезенке, формируя первичные фолликулы. Недавно установлено, что внутри аллотрансплантата развиваются так называемые «третичные» лимфоидные структуры, представляющие собой инфильтраты, содержащие полноценный репертуар Т- и В-лимфоцитов, а также дендритных клеток, способных индуцировать клеточный и гуморальный иммунный ответ на антигены тканей донорского органа [1]. Локализация большого количества клеток в ограниченном пространстве фолликула увеличивает вероятность встречи с соответствующими антигенами, поступающими в лимфоузел. Если встречи с антигеном не произошло, то в течение нескольких недель данная В-клетка подвергается апоптозу. В случае взаимодействия В-клеточных рецепторов со специфичным аллоантигеном, представляющим, в частности, донорскую HLA-молекулу, происходит их связывание с эпитопом данной молекулы, поглощение (интернализация) антигена, его процессирование, и презентирование аллогенных пептидов в комплексе с МНС II класса на мембране данной В-клетки [13] (рис. 2). В результате стимуляции В-клетки антигеном на ее мембране происходит формирование иммунологического кластера, включающего молекулу МНС II класса + аллогенный пептид, молекулы межклеточной адгезии и костимулирующую детерминанту CD40. Затем стимулированные В-клетки под влиянием факторов хемотаксиса мигрируют из первичного фолликула в экстрафолликулярное



- 1 – наивная В-клетка взаимодействует с аллоантигеном
- 2 – стимулированная аллоантигеном В-клетка взаимодействует с Т-хелпером в экстрафолликулярном пространстве
- 3 – Т-хелпер распознает аллогенный пептид, презентируемый дендритной клеткой в комплексе с HLA II класса, активируется, распознает аналогичный пептид, презентируемый В-клеткой, и передает В-клетке стимулирующий сигнал
- 4 – дендритная клетка, презентирующая аллогенные пептиды
- 5 – активированная В-клетка, возвратившаяся в первичный фолликул
- 6 – активированный Т-хелпер, мигрировавший в первичный фолликул и трансформировавшийся в фолликулярный Т-хелпер
- 7 – дендритная клетка, переместившаяся в первичный фолликул и трансформировавшаяся в фолликулярную дендритную клетку
- 8 – аллогенные HLA-антигены, попадающие в лимфоузел
- 9 – короткоживущая плазматическая клетка, продуцирующая IgM анти-HLA-антитела
- 10 – В-клетка памяти, обладающая IgM-рецепторами

Рис. 2. Распознавание аллоантигенов в первичном фолликуле

Fig. 2. The recognition of alloantigens in primary follicle

пространство. Одновременно и в Т-зоне лимфоузла данный аллоантиген захватывается, процессируется, а затем презентуется дендритными клетками (ДК). Те, в свою очередь, активируют не прямые аллореактивные CD4 Т-клетки, обладающие рецепторами, специфичными для данного антигена. Т-клетки, пролиферирующие в результате активации клона, также экспрессируют на своей поверхности молекулы иммунологического кластера, включающие специфичный ТкР, молекулы межклеточной адгезии и лиганд к детерминанте CD40 (CD40L). В экстрафолликулярном пространстве лимфатического узла происходит взаимодействие В-клеток с активированными этим же антигеном Т-клетками. При специфичном связывании Т-клеточных рецепторов с комплексом МНС II + аллогенный пептид на В-клетке, а также взаимодействию костимулирующих детерминант CD40 с CD40L происходит окончательная активация В-клеток и дальнейшее развитие процессов их пролиферации и дифференцировки [1, 22–24].

Примечательно, что после активации пролиферирующие В-клетки «выбирают» три пути своего развития. Часть дифференцируется в антителопродуцирующие короткоживущие (в течение нескольких недель) плазматические клетки (КПК), секретирующие главным образом антитела IgM-класса с относительно невысокой степенью аффинности [12, 19, 25, 26]. Часть клеток трансформируется в В-клетки памяти (ВкП), экспрессирующие преимущественно IgM ВкР [16, 19, 27]. Оставшиеся активированные В-клетки направляются обратно в фолликулы, формируя олигоклональные герминативные центры (ГЦ), в которых происходит созревание

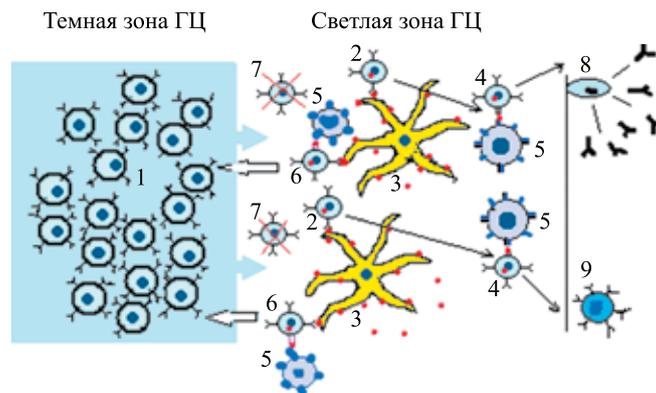
аффинности ВкР, переключение класса Ig, клональная экспансия и окончательная дифференцировка либо в высокоаффинные долгоживущие плазматические клетки (ДПК), либо в В-клетки памяти с преимущественно IgG ВкР [19, 26, 28–32]. Таким образом, при первичном ответе уже к 3-му дню после аллогенной трансплантации иммунная система реципиента способна вырабатывать IgM-антитела, направленные к несовпадающим донорским HLA-антигенам [33, 34]. Важно отметить, что эти ранние антитела, по-видимому, предназначены не только для быстрой нейтрализации чужеродного антигена, но, вероятно, и для обеспечения процесса дальнейшего созревания аффинности В-клеточных рецепторов в ГЦ [12]. В настоящее время нет ясного представления о факторах, влияющих на выбор В-клеткой того или иного из перечисленных путей своего развития после активации. Вместе с тем существует мнение, что в КПК трансформируются те В-лимфоциты, которые на тот момент обладают наиболее высокой по сравнению с другими степенью сродства своих рецепторов к эпитопам чужеродного антигена [29, 35, 36].

Процесс формирования герминативного центра начинается с 4-го дня после аллоиммунизации. Часть активированных В-клеток направляется из экстрафолликулярного пространства в центральную часть фолликула, где они попадают в плотное окружение фолликулярных дендритных клеток (ФДК) [26, 37]. Вместе с В-клетками сюда же мигрируют и участвовавшие в их активации Тх, приобретая фенотип фолликулярных Т-хелперов (ФТх). Образуется так называемый вторичный фолликул, отличающийся от первичного наличием ГЦ.

В-клетки (центробласты) начинают интенсивно пролиферировать, и к 7-му дню в значительно увеличившемся в размерах ГЦ происходит формирование двух участков, именуемых темной и светлой зонами (рис. 3). Темная зона состоит преимущественно из центробластов, в то время как в светлой зоне располагаются ФДК, ФТх, взаимодействующие с ними В-клетки (центроциты), а также макрофаги [19, 38, 39]. В темной зоне ГЦ в результате соматической гипермутации генов варибельного участка иммуноглобулинов пролиферирующих центробластов появляются клетки, обладающие рецепторами с различной степенью аффинности к донорским HLA-антигенам [12, 26, 40, 41]. Затем центробласты проникают в светлую зону, где они посредством своих ВкР взаимодействуют с аллоантигенами, представленными на мембране ФДК в виде иккосом, представляющих собой иммунные комплексы, образованные донорской HLA-молекулой, связанным с ней антителом и фрагментом комплемента [42, 43]. При первичной аллоиммунизации роль антител, формирующих иккосомы, возможно, играют ранние IgM-антитела, продуцируемые короткоживущими плазматическими клетками [12]. HLA-молекулы представляют собой комплексные антигены, содержащие несколько эпитопов, что предполагает возможность связывания данного антигена с рецепторами множества

В-клеток [26, 43]. Центроциты, обладающие ВкР с достаточной степенью аффинности к какому-либо эпитопу, связываются с аллоантигеном, захватывают его с мембраны ФДК, интернализуют, процессируют и презентуют антигенные пептиды в комплексе с МНС II класса. Здесь же происходит взаимодействие данных В-клеток с ФТх, обладающими рецепторами, специфичными для тех же аллогенных пептидов, представляющих продукт процессирования донорских HLA-молекул. В том случае если рецепторы ФТх связываются с комплексом МНС II класса + аллогенный пептид на В-клетке, та получает сигнал на выживание и дальнейшее развитие. Отсутствие данного сигнала обуславливает гибель В-клеток и элиминацию клонов с недостаточной аффинностью ВкР к данным аллоантигенам [1].

Обеспечение межклеточных взаимодействий необходимыми стимулирующими сигналами осуществляется продукцией различных биологически активных веществ. Среди таких факторов следует выделить цитокины IL-2 [44], IL-4 [45], IL-6 [46, 47], IL-10 [48], факторы транскрипции BCL6, IRF4, BLIMP-1, XBP-1 [49–51], а также хемокины CCR7 и CCL21, обеспечивающие миграцию В-клеток в Т-зону лимфоузла [52]. Предполагается, что сила стимулирующего сигнала определяется, в том числе, и количеством контактов данной В-клетки с ФТх.



- 1 – пролиферация центробластов, сопровождающаяся соматической гипермутацией варибельных участков генов иммуноглобулинов и миграцией мутантов в светлую зону герминативного центра
- 2 – захват центроцитами посредством специфических В-клеточных рецепторов аллогенных HLA-молекул, представленных на мембране фолликулярных дендритных клеток в виде иммунных комплексов (иккосом)
- 3 – фолликулярные дендритные клетки, презентующие центроцитам аллогенные HLA-антигены
- 4 – презентация центроцитом процессированного аллогенного пептида в комплексе с HLA II класса
- 5 – фолликулярный Т-хелпер распознает аллогенный пептид, презентованный центроцитом, и обеспечивает данную В-клетку стимулирующим сигналом

- 6 – при слабом (тонусном) стимулирующем сигнале центроцит мигрирует обратно в темную зону герминативного центра, где он повторно подвергается процессам пролиферации и соматической гипермутации
- 7 – центроциты, не обладающие В-клеточными рецепторами, способными специфично связывать аллогенный антиген, подвергаются апоптозу
- 8 – часть центроцитов, получивших сильный стимулирующий сигнал, трансформируется в долгоживущие плазматические клетки, продуцирующие IgG-антитела
- 9 – часть центроцитов под воздействием стимулирующего сигнала трансформируется в В-клетки памяти, несущие IgG-рецепторы

Рис. 3. Созревание аффинности В-клеточных рецепторов в герминативном центре

Fig. 3. B-cell receptors affinity maturation in germinal center

В результате таких взаимодействий часть В-клеток, обладающих высокоаффинными рецепторами и получивших соответствующий стимул со стороны ФТх, дифференцируются в долгоживущие плазматические клетки, продуцирующие преимущественно IgG-антитела, а также в В-клетки памяти [12, 16, 36]. Оставшиеся centroциты, которые при взаимодействии с ФТх получили стимулирующий сигнал недостаточной силы (тонусный сигнал), мигрируют обратно в темную зону ГЦ, где они пролиферируют, а гены варибельных участков иммуноглобулинов вновь подвергаются процессу соматической гипермутации. Доля centroцитов, возвращающихся в темную зону, составляет приблизительно 30%. Затем мутировавшие клоны centroбластов вновь направляются в светлую зону ГЦ, где происходит описанный выше процесс отбора клеток с ВкР, обладающими наибольшей аффинностью к данному аллоантигену. Таким образом, осуществляется созревание аффинности В-клеточных рецепторов, в результате чего в течение 10 дней с момента аллотрансплантации появляются высокоаффинные долгоживущие плазматические клетки, которые локализуются в костном мозге и продуцируют антитела, направленные к различным эпитопам донорских HLA-антигенов. При этом пул высокоаффинных В-клеток памяти, активно проникающих в ткани организма, в любой момент при встрече с соответствующим аллоантигеном может стать источником новой генерации ДПК. Кроме того, возможно образование новых герминативных центров, где могут появляться ДПК, продуцирующие антитела различной специфичности, отличающейся от первоначальной [12].

Следует отметить, что описанные механизмы клональной селекции В-клеток в ГЦ на основе созревания аффинности В-клеточных рецепторов являются удивительно точной, сжатой во времени моделью процесса естественного отбора дарвиновской теории эволюции [26]. Любая биологическая система в процессе своего функционирования постоянно приспосабливается к неблагоприятным факторам внешней среды, и таким образом, в любой момент наблюдения находится в состоянии эволюционирования. В высокой степени это может быть отнесено к иммунной системе организма, поскольку от скорости выработки адекватной защиты в отношении постоянно изменяющихся внешних патогенов зависит выживание вида на уровне популяции. Сложность и многофакторность механизмов, обеспечивающих развитие адаптивного иммунного ответа, свидетельствует об эволюционной активности этой системы. Важность подхода к пониманию механизмов развития гуморального аллоиммунитета именно с таких позиций связана с адекватной оценкой возможности влияния на эти процессы. Можно

предположить, что воздействие иммунокорректирующими препаратами на отдельные звенья распознавания аллоантигенов и последующего антителогенеза может быть быстро нивелировано иммунной системой за счет подключения запасных компенсаторных путей их реализации. Например, многие цитокины обладают взаимозаменяемыми свойствами [53], а Т-клетки памяти к одному антигену могут стимулировать В-клетки, активированные другим антигеном, причем CD40 – CD40L – независимым путем (диссоциированная Тх помощь) [9]. Кроме того, иммуносупрессивная терапия, как правило, обладает серьезным побочным эффектом, приводящим, в том числе, к тяжелым инфекционным осложнениям и онкологическим заболеваниям. Очевидно, что эффективным путем, позволяющим в значительной степени предотвратить отторжение аллогенного трансплантата, является подбор HLA-совместимой пары «донор–реципиент». Если рутинный подбор идентичного по HLA-фенотипу донора выглядит маловероятным в связи с высочайшим полиморфизмом HLA-системы и дефицитом донорских органов, то выбор оптимально совместимого донора на основе критериев «приемлемых несовпадений» широко используется в современной трансплантологии, особенно при работе с реципиентами с высоким уровнем предрасполагающей сенсibilизации [43].

### **Антигенность и иммуногенность HLA-молекул. Парадигма «не свое – свое» в современном представлении о гуморальном аллоиммунитете**

Подход к выбору гистосовместимой пары «донор–реципиент» на основе «приемлемых несовпадений» базируется на общепринятом мнении о том, что HLA-молекула представляет собой совокупность эпитопов, характерных для данной специфичности и определяющих ее антигенность и иммуногенность. В данном случае антигенность – это способность реагировать с соответствующими антителами, а иммуногенность – это способность индуцировать выработку специфичных антител [54, 55]. На основании данных, полученных при стереохимическом моделировании строения участков молекул антигена (эпитоп) и антитела (паратоп), контактирующих между собой при специфичном связывании, сформировалось представление о структурных особенностях таких взаимодействий. Установлено, что структурной основой эпитопа, определяющей его антигенность, является участок HLA-молекулы радиусом приблизительно 15 Å, и соответственно, площадью 700–900 Å<sup>2</sup>, что, по-видимому, соответствует размерам CDR области молекулы антитела. В составе эпитопа различают две

области: структурный эпитоп, состоящий из 15–25 аминокислотных остатков, и располагающийся в центре полиморфный функциональный эпитоп, образованный несколькими аминокислотами. Именно функциональный эпитоп играет ключевую роль в специфичном связывании с CDR-H3-участком антитела, в то время как структурный эпитоп обеспечивает стабильность этого взаимодействия, контактируя с так называемыми каноническими структурами CDR1 и CDR2 областей иммуноглобулина. Совокупность полиморфных аминокислотных остатков, формирующих функциональный эпитоп, носит название «эплет» и представляет собой компактную конфигурацию участка эпитопа в пределах радиуса 3Å, доминирующую в связывании с антителом [54]. Установлено, что различные HLA-антигены обладают как уникальными (частными) эпитопами, так и общими эпитопами, характерными для нескольких различных HLA-специфичностей. В результате антитела, направленные к общим эпитопам, могут связываться не только с донорскими HLA-антигенами, но и перекрестно реагировать с другими (не донорскими) HLA-детерминантами, обладающими общими эпитопами (кросс-реактивность), несмотря на то, что иммунная система реципиента никогда не сталкивалась с этими специфичностями. В результате было выделено несколько групп, объединяющих перекрестно-реагирующие антигены (cross-reactive groups) (CREGs), которые представлены в табл. 1.

Примечательно, что кросс-реактивность может осуществляться в отношении антигенов не только одного, но и разных HLA-локусов. Например, антитела к определенным HLA-C антигенам могут также связываться и с некоторыми HLA-B специфичностями [57]. Данные закономерности выработки анти-HLA-антител лежат в основе развития сенсибилизации к тканевым антигенам у пациентов, подвергающихся таким иммуногенным воздействиям, как аллогенная трансплантация или гемотрансфузии. Именно этим можно объяснить присутствие

в сыворотке высокосенсибилизированных реципиентов антител, направленных ко многим HLA-специфичностям. Таким образом, каждый HLA-аллель содержит череду эплетов, характерных для данного антигена и способных индуцировать выработку специфичных антител. Следует подчеркнуть, что несовпадающие HLA-антигены реципиента и донора могут содержать определенное количество одинаковых, «своих» эплетов и отличающихся эплетов, определяемых как «не свои». При иммунизации антигеном, содержащим «свои» эплеты, выработки антител к ним со стороны реципиента не происходит. И напротив, интенсивность продукции аллоантител коррелирует с количеством «не своих» эплетов, имеющих в составе несовпадающих донорских HLA-антигенов [58]. Путем сравнения набора «не своих» и «своих» эплетов в HLA-фенотипе предполагаемого донора относительно фенотипа реципиента можно объективно оценить уровень так называемой «эпитопной нагрузки», по сути, отражающей степень тканевой совместимости.

При подборе донора для сенсибилизированных реципиентов аллели, содержащие эпитопы, распознаваемые антителами реципиента, оцениваются как «неприемлемые несовпадения», в то время как аллели, не несущие таких эпитопов, определяются как «приемлемые несовпадения». В то же время для несенсибилизированных пациентов оценка «эпитопной нагрузки» несовпадающих донорских HLA-антигенов также позволяет выявить «приемлемые несовпадения» и таким образом предотвратить или значительно уменьшить интенсивность гуморального иммунного ответа на трансплантат [54]. Для унификации подбора доноров на этой основе веб-сайт европейской организации «Евротрансплант» ([www.HLAMatchmaker.net](http://www.HLAMatchmaker.net)) содержит программу, оценивающую совместимость по HLA-антигенам I класса, II класса, а также анализ специфичности HLA-антител. Таким образом, иммуногенность донорских HLA-антигенов, то есть способность индуцировать выработку специфичных антител,

Таблица 1

**Группы кросс-реагирующих антигенов (CREGs) [56]**  
**Cross-reactive groups of antigens (CREGs) [56]**

Название CREG	Антигены, входящие в CREG
1C	A1, 3, 9 (23, 24), 11, 29, 30, 31, 36, 80
2C	A2, 9 (23, 24), 28 (68, 69), B17 (57, 58)
10C	A10 (25, 26, 34, 66), 11, 28 (68, 69), 32, 33, 43, 74
5C	B5 (51, 52), 15 (62, 63, 75, 76, 77), 17 (57, 58), 18, 21 (49, 50), 35, 46, 53, 70 (71, 72), 73, 78
7C	B7, 8, 13, 22 (54, 55, 56), 27, 40 (60, 61), 41, 42, 47, 48, 59, 67, 81, 82
8C	B8, 14 (64, 65), 16 (38, 39), 18, 59, 67
12C	B12 (44, 45), 13, 21 (49, 50), 37, 40 (60, 61), 41, 47
Bw4	A23, 24, 25, 32, B13, 27, 37, 38, 44, 47, 49, 51, 52, 53, 57, 58, 59, 63, 77
Bw6	B7, 8, 18, 35, 39, 41, 42, 45, 46, 48, 50, 54, 55, 56, 60, 61, 62, 64, 65, 67, 71, 72, 73, 75, 76, 78, 81, 82

определяется количеством эплетов, являющихся «не своими» по отношению к эплетному профилю HLA-антигенов реципиента. Кроме того, важнейшими свойствами эпитопа, определяющими иммуногенность, являются электростатический заряд и гидрофобность образующих его аминокислотных остатков, а также доступное для антител расположение эпитопа в молекулярной структуре [13].

Долгое время оставались неясными причины, по которым сенсibilизированные пациенты вырабатывают антитела не ко всем, а к довольно ограниченному количеству несовпадающих донорских антигенов [56, 59]. При изучении закономерностей выработки антител к несовместимым HLA с использованием моноклональных антител (monoclonal antibody) (mAb) было обнаружено, что «не свои» эплеты донорских антигенов, как правило, сочетаются с определенными аминокислотными конфигурациями, располагающимися внутри соответствующего структурного эпитопа. Удивительно, но эти конфигурации либо полностью совпадают с аналогичными в структурном эпитопе HLA-молекулы реципиента, либо очень схожи с ними [54] (табл. 2).

Во всех представленных в табл. 2 случаях аллогенной иммунизации донорский структурный эпитоп отличался от структурного эпитопа реципиента одним или максимум двумя аминокислотными остатками. Этот феномен лежит в основе парадигмы «не свое – свое» иммуногенности HLA-эпитопов. Данная парадигма базируется на представлении о том, что зрелые В-лимфоциты обладают рецепторами со слабой аффинностью к собственным HLA-антигенам, о чем упоминалось в предыдущей гла-

ве нашего обзора. При этом взаимодействие ВкР со «своими» эпитопами не приводит к активации В-клеток. В то же время связывание В-клеточных рецепторов с «не своими» эпитопами не совпадающих донорских HLA может вызывать интенсивную выработку аллоантител. Однако индукция антител, обусловленная взаимодействием ВкР с «не своим» эплетом функционального эпитопа донорской HLA-молекулы, возможна лишь при условии, когда структурный эпитоп является схожим, «своим» для соответствующих собственных HLA-эпитопов реципиента [54].

В основе обсуждаемой парадигмы лежит теория клональной селекции, предложенная Бернетом в середине прошлого века, активно дискутировавшаяся и модифицированная современными учеными [60, 61]. Одним из важнейших постулатов этой теории остается утверждение о том, что В-клеточный ответ, приводящий к продукции антител, вызывается не любым чужеродным антигеном, а лишь теми, в контексте молекулярной структуры которых ВкР антителопродукта могут отличить «свое» от «не своего». Иными словами, иммунная система не реагирует на «свое», но будет активно отвечать на малейшие изменения внутри «своего». Этот механизм распознавания чужеродных биологических агентов, по-видимому, является универсальным и свойственен как Т-, так и В-клеткам. При этом полиморфизм отдельных участков HLA (эпитопы), при базовой схожести структуры молекулы гликопротеина для всех специфичностей, представляет собой своеобразную модель «идеального» антигена, что подтверждается развитием мощного гуморального ответа при аллогенной трансплантации.

Таблица 2

**Сравнение полиморфных аминокислотных остатков донорских эпитопов, выявляемых mAb, с соответствующими структурными эпитопами HLA-молекул реципиента [54]**

**Polymorphic residue comparisons between mAb defined and corresponding self-HLA structural epitopes [54]**

mAb	Сочетание донорского гаплотипа с гаплотипом реципиента	Структура функционального эпитопа	Полиморфные аминокислотные остатки в пределах радиуса 15Å (структурный эпитоп)
HU-62	Гаплотип донора A*11:01	142I145R + 138M + 79G80T82R83G	73T 76V 79G 80T 81L 82R 83G <b>127N</b> 131R 138M 147W 149A 150A 151H
	Гаплотип реципиента A*02:01	142T145H	73T 76V 79G 80T 81L 82R 83G <b>127K</b> 131R 138M 147W 149A 150A 151H
HU-22	Гаплотип донора A*32:01	142I144Q145R + 80I или 80T	73T 76E 79R 80I 81A 82L 83R <b>127N</b> 131R 138M 147W 149A 150A <b>151R</b>
	Гаплотип реципиента A*24:02	142I144K145R	73T 76E 79R 80I 81A 82L 83R <b>127K</b> 131R 138M 147W 149A 150A <b>151H</b>
HU-57	Гаплотип донора B*15:01	69T70N71T + 80N82R83G	19E 43P 44R 59Y 62R 65Q 66I 73T 76E 79R 80N 81L 147W <b>163L</b>
	Гаплотип реципиента B*07:02	69A70Q71A	19E 43P 44R 59Y 62R 65Q 66I 73T 76E 79R 80N 81L 147W <b>163E</b>

**ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ИММУНОГЕННОСТИ  
HLA-АНТИГЕНОВ, А ТАКЖЕ  
КРОСС-РЕАКТИВНОСТИ, НА ВЫРАБОТКУ  
АНТИТЕЛ К НЕСОВПАДАЮЩИМ АНТИГЕНАМ  
ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ**

Большинство органных трансплантаций проводится с использованием трансплантатов, полученных от доноров, различающихся с реципиентом по HLA-фенотипу. При этом одной из главных причин, негативно влияющих на продолжительность жизни трансплантата, является выработка антител к несовпадающим HLA-антигенам, причем даже единичное несовпадение может приводить к развитию сенсibilизации [62]. Подбор оптимально совместимой пары «донор–реципиент» на основе оценки «эпитопной нагрузки» представляется одним из наиболее эффективных и перспективных направлений в преодолении тканевой несовместимости в аллогенной трансплантации. Однако данный подход подразумевает проведение высокоразрешающего HLA-A, B, C, DRB, DQA, DQB типирования (на уровне 4 знаков) донора и реципиента, что пока не используется в рутинной практике иммуногенетических лабораторий России, обеспечивающих

органную трансплантацию. Кроме того, идентификация эпитопа еще не означает определение его иммуногенности, а в отдельных случаях иммуногенность антигена может обуславливать определенное сочетание «не своих» эпитопов, входящих в его состав. Таким образом, очень важной с практической точки зрения является информация о частоте выработки антител к различным HLA-несовпадениям при аллотрансплантации. Данные, представленные в табл. 3, позволяют оценить иммуногенность различных антигенов локуса A, учитывая при этом феномен кросс-реактивности.

Представленные в табл. 3 данные имеют большую практическую ценность, так как позволяют оценить и спрогнозировать риск гуморального отторжения при наличии определенных несовпадений в HLA-фенотипе донора и реципиента. В указанной публикации также можно обнаружить данные, характеризующие иммуногенность антигенов локусов B, DR и DQ [62]. Кроме того, установлены некоторые общие закономерности выработки HLA-антител к антигенам различных локусов. Например, выработка антител к несовпадающим антигенам локусов A, DR и DQ является примерно одинаковой, в то же время частота выявления антител к антигенам

Таблица 3

**Частота выявления антител к несовпадающим HLA-антигенам: локус A [62]**

**Frequency of antibody to mismatches: HLA-A [62]**

Несовпадающий антиген	Количество случаев	Доля случаев выработки антител на несовпадающий антиген, %			
		Всего	Отсутствие кросс-реагирующих антигенов у реципиента*	Присутствие кросс-реагирующих антигенов у реципиента**	Несовпадение по кросс-реагирующим антигенам***
A1	148	63,5	76,7	54,6	45,6
A2	180	68,9	78,1	55,4	58,6
A3	109	50,5	56,0	35,3	45,4
A11	66	60,6	55,6	56,5	53,3
A23	58	67,2	66,7	69,2	48,8
A24	76	76,2	85,7	58,1	55,0
A25	21	76,2	62,5	91,7	66,1
A26	40	47,5	60,0	91,3	40,4
A29	58	60,3	63,3	68,4	30,8
A30	53	41,5	40,0	26,7	29,5
A31	35	37,1	46,2	14,3	35,7
A32	46	34,8	27,3	45,0	31,7
A33	33	39,4	62,5	33,3	41,9
A34	18	30,8	60,0	16,7	41,3
A66	16	56,2	62,5	50,0	51,9
A68	42	52,4	70,0	50,0	56,8
A74	17	41,2	50,0	28,6	27,4
Средняя ±		53,2 ± 14	60,2 ± 14,2	49,7 ± 22,7	44,7 ± 11,3

*Примечание.* \* – в фенотипе реципиента отсутствуют антигены, относящиеся к одному CREG с несовпадающим донорским антигеном; \*\* – фенотип пациента содержит антиген, относящийся к одному CREG с несовпадающим донорским антигеном; \*\*\* – имеет место только несовпадение по антигенам, относящимся к одному CREG.

локуса В оказывается значительно меньшей. Также важно подчеркнуть, что выработка антител к несовпадающим антигенам в любом локусе значительно снижается в том случае, когда в фенотипе реципиента присутствует антиген, относящийся к одному CREG с несовпадающим донорским антигеном. Кроме того, гомозиготность реципиента в каком-либо HLA-локусе является фактором риска развития усиленного гуморального ответа на несовпадающие донорские антигены в данном локусе при условии его гетерозиготности. Анализ результатов, представленных данными авторами, свидетельствует о значительных различиях в иммуногенности различных HLA-антигенов. При этом отмечается, что использование доступных рутинных методов иммуногенетического обследования, в частности базового уровня HLA-типирования, может предоставить клинически значимую информацию, необходимую для подбора оптимально совместимой пары «донор–реципиент» при аллогенной трансплантации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Успешность проведения аллогенной трансплантации можно оценить двумя основными показателями: во-первых, это длительность функционирования трансплантата, обеспечивающего полную замену функции утраченного собственного органа, и во-вторых, это соответствующее качество жизни реципиента, во многом зависящее от интенсивности иммунокорректирующей терапии, применяемой для подавления отторжения. Существуют многочисленные доказательства того, что главной причиной потери трансплантата на поздних сроках после пересадки является хроническое гуморальное отторжение. В основе механизмов, обеспечивающих выработку иммунной системой реципиента антител к тканям трансплантата, как правило, лежит несовместимость донора и реципиента по антигенам системы HLA. В результате многочисленных научных исследований, базирующихся на анализе сотен тысяч трансплантаций различных органов, разработаны методы, позволяющие осуществлять выбор пары «донор–реципиент» на основе общепринятых критериев гистосовместимости. Такой подход позволяет предупредить или в значительной степени снизить интенсивность гуморального отторжения трансплантата, и таким образом, обеспечить длительность функционирования донорского органа и высокое качество жизни пациента. Кроме того, существует еще один важный критерий успешности трансплантации – это сохранение возможности проведения пациентам повторных пересадок. Особенно это касается детей и пациентов молодого возраста. Главным препятствием для повторной трансплантации очень часто является наличие сенсибилизации пациента к HLA-антигенам предыду-

щего донорского органа. Специфика механизмов гуморального аллоиммунитета, представленная в данном обзоре, может обуславливать развитие высокого уровня HLA-сенсбилизации даже при единичных несовпадениях, если не учитывать показатели иммуногенности HLA-антигенов, включающие «эпитопную нагрузку» и кросс-реактивность. Очевидно, что выполнение необходимого комплекса исследований, а также грамотный анализ полученных результатов должны осуществляться высококвалифицированными специалистами в специализированных иммуногенетических лабораториях, соответствующих современным стандартам в области гистосовместимости. Такой подход к организации иммуногенетического обеспечения аллогенной трансплантации может способствовать решению многих проблем, связанных с иммунологической несовместимостью, и следовательно, увеличению продолжительности функционирования пересаженных органов и улучшения качества жизни пациентов. Авторы будут признательны коллегам, если информация, изложенная в этом обзоре, пригодится в их профессиональной деятельности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Carla C Baan, Gretchen N de Graav, Karin Boer.* T Follicular Helper Cells in Transplantation: The Target to Attenuate Antibody-Mediated Allogeneic Responses? *Curr. Transpl. Rep.* 2014; 1: 166–172. doi: 10.1007/s40472-014-0019-4.
2. *Гомье СВ.* Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов. М.–Тверь: Триада, 2011. 472. *Gautier SV.* Immunosupressiya pri transplantatsiyi solidnih organov. М.–Tver: Triada, 2011. 472.
3. *Smith JD, Banner NR, Hamour IM, Ozawa M, Goh A, Robinson D, Terasaki PI, Rose ML.* De novo donor HLA-specific antibodies after heart transplantation are an independent predictor of poor patient survival. *Am. J. Transplant.* 2011; 11: 312–319.
4. *Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA, Claas FH et al.* Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation.* 2013; 95 (1): 19–47. doi: 10.1097/TP.0b013e31827a19cc.
5. *Шевченко ОП, Халилулин ТА, Олефиренко ГА, Курабекова РМ, Апанасенко НВ, Шевченко АО и др.* Предиктивное значение предсуществующих аутоантител против HLA у реципиентов сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2013; 15 (4): 16–23. *Shevchenko OP, Khalilulin TA, Olefirenko GA, Kurabekova RM, Apanasenko NV, Shevchenko AO et al.* Predictive significance of anti-HLA autoantibodies in heart transplant recipients. *Russian journal of transplantation and artificial organs.* 2013; 15 (4): 16–23. [In Russ, English abstract].
6. *Иванова ЕС, Столяревич ЕС, Гичкун ОЕ, Богданова НБ, Баранова ФС, Артюхина ЛЮ, Томлина НА.* Анализ методов скринингового определения анти-

- тел к HLA в диагностике антитело-опосредованного отторжения трансплантата почки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (3): 39–49. *Ivanova ES, Stolyarevich ES, Gichkun OE, Bogdanova NB, Baranova FS, Artyukhina LYu, Tomilina NA*. Comparison of different methods of anti-HLA antibodies detection in diagnosis of antibody-mediated renal allograft rejection. *Russian journal of transplantology and artificial organs*. 2016; 18 (3): 39–49. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2016-3-39-49.
7. *Сушков АИ, Абрамов ВЮ, Мойсюк ЯГ*. Роль предрасполагающих и *de novo* антидонорских антител при трансплантации почки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2011; 13 (1): 84–91. *Sushkov AI, Abramov VY, Moysyuk YG*. The role of pre-transplant and *de novo* alloantibodies in kidney transplantation. *Russian journal of transplantology and artificial organs*. 2011; 13 (1): 84–91. [In Russ, English abstract].
  8. *Беркос АС, Николаев ГВ*. Пути распознавания чужеродных антигенов при адаптивном иммунном ответе на аллогенную трансплантацию органов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2015; 17 (4): 104–117. *Berkos AS, Nikolaev GV*. Pathways of recognition of foreign antigens in the adaptive immune response to allogeneic organ transplantation. *Russian journal of transplantology and artificial organs*. 2015; 17 (4): 104–117. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2015-4-104-117.
  9. *Conlon TM, Cole JL, Motallebzadeh R, Harper I, Callaghan CJ, Bolton EM et al*. Unlinked memory helper responses promote long-lasting humoral alloimmunity. *J. Immunol*. 2012; 189 (12): 5703–5712. doi: 10.4049/jimmunol.1202257.
  10. *Kelly CM, Benham AM, Sawyer GJ, Dalchau R, Fabre JW*. A three-cell cluster hypothesis for noncognate T-B collaboration via direct T cell recognition of allogeneic dendritic cells. *Transplantation*. 1996; 61: 1094–1099.
  11. *Conlon TM, Saeb-Parsy K, Cole JL, Motallebzadeh R, Qureshi MS, Rehakova S et al*. Germinal center alloantibody responses are mediated exclusively by indirect-pathway CD4 T follicular helper cells. *J. Immunol*. 2012; 188: 2643–2652.
  12. *Eisen HN*. Affinity Enhancement of Antibodies: How Low-Affinity Antibodies Produced Early in Immune Responses Are Followed by High-Affinity Antibodies Later and in Memory B-Cell Responses. *Cancer Immunol. Res*. 2014; 2: 381–392.
  13. *Geneugelijk KN, Thus KA, Spierings E*. Predicting Alloreactivity in Transplantation. *Journal of Immunology Research*. 2014; Article ID 159479: 1–12. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/159479>.
  14. *Mond JJ, Vos Q, Lees A, Snapper CM*. T-cell independent antigens. *Curr. Opin. Immunol*. 1995; 7: 349–354.
  15. *Adderson EE*. Antibody repertoires in infants and adults: effects of T-independent and T-dependent immunizations. *Springer Semin. Immunopathol*. 2001; 23: 387–403.
  16. *Good-Jacobson KL, Tarlinton DM*. Multiple routes to B-cell memory. *International Immunology*. 2012; 24 (7): 403–408. doi: 10.1093/intimm/dxs050.
  17. *Hombach J, Tsubata T, Leclercq L, Stappert H, Reth M*. Pillars article: Molecular components of the B-cell antigen receptor complex of the IgM class. *Nature*. 1990; 243: 760–762. *J. Immunol*. 2009; 183, 1505–1507. (PubMed).
  18. *Meffre E, Casellas R, Nussenzweig MC*. Antibody regulation of B-cell development. *Nat. Immunol*. 2000; 1: 379–385. doi: 10.1038/80816. (PubMed).
  19. *Bemark M*. Translating transitions – how to decipher peripheral human B cell development. *The Journal of Biomedical Research*. 2015; 29 (4): 264–284.
  20. *Cancro MP*. Signalling crosstalk in B-cells: managing worth and need. *Nat. Rev. Immunol*. 2009; 9 (9): 657–661. doi: 10.1038/nri2621.
  21. *Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA*. Positive and negative selection of T-cells. *Annu. Rev. Immunol*. 2003; 21: 139–176.
  22. *Foy TM, Laman JD, Ledbetter JA, Aruffo A, Claassen E, Noelle RJ*. gp39CD40 interactions are essential for germinal center formation and the development of B-cell memory. *Exp. Med*. 1994; 180: 157–163.
  23. *Okada T, Miller MJ, Parker I, Krummel MF, Neighbors M, Hartley SB et al*. Antigen-engaged B-cells undergo chemotaxis toward the T-zone and form motile conjugates with helper T-cells. *PLoS Biol*. 2005; 3 (6): e150.
  24. *Qi H, Cannons JL, Klauschen F, Schwartzberg PL, Germain RN*. SAP-controlled T-B cell interactions underlie germinal centre formation. *Nature*. 2008; 455: 764–769.
  25. *Jacob J, Kelsoe G*. *In situ* nature of the primary immune response to (4-hydroxy-3-nitrophenyl) acetyl. II. A common clonal origin for periarteriolar lymphoid sheath-associated foci and germinal centers. *J. Exp. Med*. 1992; 176: 679–687.
  26. *Childs LM, Baskerville EB, Cobey S*. Trade-offs in antibody repertoires to complex antigens. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2015; 370: 20140245 <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2014.0245.gy>. 2015; 6: 1–8. doi: 10.3389/fimmu.2015.00180.
  27. *Taylor JJ, Pape KA, Jenkins MK*. A germinal center-independent pathway generates unswitched memory B-cells early in the primary response. *J. Exp. Med*. 2012; 209: 597–606.
  28. *Maizels N*. Immunoglobulin gene diversification. *Annu. Rev. Genet*. 2005; 39: 23–46.
  29. *Paus D, Phan TG, Chan TD, Gardam S, Basten A, Brink R*. Antigen recognition strength regulates the choice between extrafollicular plasma cell and germinal center B-cell differentiation. *J. Exp. Med*. 2006; 203: 1081–1091.
  30. *McHeyzer-Williams MG*. B-cells as effectors. *Curr. Opin. Immunol*. 2003; 15: 354–361.
  31. *Kelsoe G and B Zengh*. Sites of B-cell activation *in vivo*. *Curr. Opin. Immunol*. 1993; 5: 418–422.
  32. *Oropallo MA, Cerutti A*. Germinal center reaction: antigen affinity and presentation explain it all. *Trends Immunol*. 2014; 35 (7): 287–289. doi: 10.1016/j.it.2014.06.001.
  33. *Kerfoot SM, Yaari G, Patel JR, Johnson KL, Gonzalez DG, Kleinstein SH et al*. Germinal center B-cell and T-follicular helper cell development initiates in the interfollicular zone. *Immunity*. 2011; 34 (6): 947–960. doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.024.

34. Kitano M, Moriyama S, Ando Y, Hikida M, Mori Y, Kurosaki T et al. Bcl6 protein expression shapes pregerminal center B-cell dynamics and follicular helper T-cell heterogeneity. *Immunity*. 2011; 34 (6): 961–972. doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.025
35. O'Connor BP, Vogel LA, Zhang W, Loo W, Shnider D, Lind EF et al. Imprinting the fate of antigen-reactive B-cells through the affinity of the B-cell receptor. *J. Immunol.* 2006; 177 (11): 7723–7732.
36. De Silva NS, Klein U. Dynamics of B-cells in germinal centres. *Nat. Rev. Immunol.* 2015; 15 (3): 137–148. doi: 10.1038/nri3804.
37. MacLennan IC. Germinal centers. *Annu. Rev. Immunol.* 1994; 12: 117–139.
38. Blink EJ, Light A, Kallies A, Nutt SL, Hodgkin PD, Tarlinton DM. Early appearance of germinal center derived memory B-cells and plasma cells in blood after primary immunization. *J. Exp. Med.* 2005; 201 (4): 545–554.
39. Victora GD, Nussenzweig MC. Germinal centers. *Annu. Rev. Immunol.* 2012; 30: 429–457.
40. Berek C, Berger A, Apel M. Maturation of the immune response in germinal centers. *Cell*. 1991; 67: 1121–1129.
41. Kosco MH, Burton GF, Kapasi ZF, Szakal AK, Tew JG. Antibody-forming cell induction during an early phase of germinal centre development and its delay with ageing. *Immunology*. 1989; 68: 312–318.
42. Szakal AK, Tew JG. Follicular Dendritic Cells: B-cell Proliferation and Maturation. *Cancer Research (suppl.)*. 1992; 52: 5554s–5556s.
43. Duquesnoy RJ. Humoral alloimmunity in transplantation: relevance of HLA epitope antigenicity and immunogenicity. *Front. Immunol.* 2011; 2 (59): 1–6. doi: 10.3389/fimmu.2011.00059.
44. Johnson-Léger C, Christenson JR, Holman M, Klaus GGB. Evidence for a critical role for IL-2 in CD40-mediated activation of naive B-cells by primary CD4 T-cells. *J. Immunol.* 1998; 161: 4618–4626.
45. Zhang X, Li L, Jung J, Xiang S, Hollmann C, Choi YS. The distinct roles of T-cell-derived cytokines and a novel follicular dendritic cell-signaling molecule 8D6 in germinal center-B cell differentiation. *J. Immunol.* 2001; 167: 49–56.
46. Harker JA, Lewis GM, MackL, Zuniga EI. Late interleukin-6 escalates T follicular helper cell responses and controls a chronic viral infection. *Science*. 2011; 334: 825–829.
47. Wu Y, el Shikh MEM, El Sayed RM, Best AM, Szakal AK, Tew JG. IL-6 produced by immune complex-activated follicular dendritic cells promotes germinal center reactions, IgG responses and somatic hypermutation. *Int. Immunol.* 2009; 21: 745–756.
48. Yoon SO, Zhang X, Berner P, Choi YS. IL-21 and IL-10 have redundant roles but differential capacities at different stages of plasma cell generation from human germinal center B-cells. *J. Leukoc. Biol.* 2009; 86: 1311–1318.
49. Bollig N, Brüstle A, Kellner K, Ackermann W, Abass E, Raifer H et al. Transcription factor IRF4 determines germinal center formation through follicular T-helper cell differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012; 109: 8664–8669.
50. Ding BB, Bi E, Chen H, Yu JJ, Ye BH. IL-21 and CD40 synergistically promote plasma cell differentiation through upregulation of BLIMP-1 in human B-cells. *J. Immunol.* 2013; 190: 1827–1836.
51. Willis SN, Good-Jacobson KL, Curtis J, Light A, Teller J, Shi W et al. Transcription factor IRF4 regulates germinal center cell formation through a B-cell-intrinsic mechanism. *J. Immunol.* 2014; 192: 3200–3206.
52. Okada T, Miller MJ, Parker I, Krummel MF, Neighbors M, Hartley SB et al. Antigen-engaged B-cells undergo chemotaxis toward the T-zone and form motile conjugates with helper T-cells. *PLoS Biol.* 2005; 3: e150.
53. Jackson DA, Elsave SF. Factors Regulating Immunoglobulin Production by Normal and Disease-Associated Plasma Cells. *Biomolecules*. 2015; 5: 20–40. doi: 10.3390/biom5010020.
54. Duquesnoy RJ, Marrari M, Mulder A. Usefulness of the Nonself-Self Algorithm of HLA Epitope Immunogenicity in the Specificity Analysis of Monospecific Antibodies Induced during Pregnancy. *Front Immunol.* 2015; 6 (180): 1–8. doi: 10.3389/fimmu.2015.00180.
55. Duquesnoy RJ. Human leukocyte antigen epitope antigenicity and immunogenicity. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2014; 19: 428–35. doi: 10.1097/MOT.0000000000000100.
56. Rodey GE, Neylan JF, Whelchel JD, Revels KW, Bray RA. Epitope specificity of HLA class I alloantibodies. I. Frequency analysis of antibodies to private versus public specificities in potential transplant recipients. *Hum. Immunol.* 1994; 39: 272–280.
57. Duquesnoy R, Marrari M. Detection of antibodies against HLA-C epitopes in patients with rejected kidney transplants. *Transpl. Immunol.* 2011; 24: 164–171.
58. Kosmoliaptsis V, Bradley J, Sharples L, Chaudhry A, Key T, Goodman R, Taylor C. Predicting the immunogenicity of human leukocyte antigen class I alloantigens using structural epitope analysis determined by HLA-Matchmaker. *Transplantation*. 2008; 85: 1817–1825.
59. Duquesnoy RJ, White LT, Fierst JW, Vanek M, Banner BF, Iwaki Y, Starzl TE. Multiscreen serum analysis of highly sensitized renal dialysis patients for antibodies toward public and private class I HLA determinants. Implications for computer-predicted acceptable and unacceptable donor mismatches in kidney transplantation. *Transplantation*. 1990; 50: 427–437.
60. Cohn M, Mitchison NA, Paul W, Silverstein AM, Talmage D, Weigert M. Reflections on the clonal-selection theory. *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7: 823–830.
61. Pradeu T, Carosella E. On the definition of a criterion of immunogenicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103: 17858–61. doi: 10.1073/pnas.0608683103.
62. Lucas DP, Leffell MS, Zachary AA. Differences in Immunogenicity of HLA Antigens and the Impact of Cross-Reactivity on the Humoral Response. *Transplantation*. 2015; 99: 78–86. doi: 10.1097/TP.0000000000000355.

Статья поступила в редакцию 14.03.2016 г.

The article was submitted to the journal on 14.03.2016