

Формирование донор-специфической иммунологической толерантности у реципиентов аллогенных родственных почек

В.А. Горяйнов, М.М. Каабак, М.М. Морозова, Л.А. Шишло, Н.Н. Бабенко, А.К. Зокоев

Отделение трансплантации почки ГУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского РАМН, Москва

Generation of donor-specific immunotolerance in renal-allograft recipients

V.A. Goryainov, M.M. Kaabak, M.M. Morozova, L.A. Shishlo, N.N. Babenko, A.K. Zokoyev

Department of Renal Transplantation, Acad. B.V. Petrovsky Russian Surgery Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The kidney cannot be successfully grafted without immunosuppressive therapy. A unicenter retrospective study has evaluated the efficiency of immunosuppression with daclizumab (Zenapax) versus alemtuzumab (Campath).

Subjects and methods. After renal allotransplantation, 64 patients, including 34 and 30 patients, were treated with daclizumab and alemtuzumab, respectively. The absolute count of peripheral blood lymphocytes was measured. Renal grafts were morphologically assessed as described by Banff.

Results. After administration of alemtuzumab, there was a more pronounced decrease in the absolute count of peripheral blood lymphocytes and the rate of acute rejection crisis was 1.5 times lower than that after use of daclizumab.

Conclusion. During the study, alemtuzumab demonstrated a more marked immunosuppressive activity than did daclizumab and the ability of the former to generate donor-specific immunotolerance in renal-allograft recipients.

Key words: (allogenic) renal transplantation, immunosuppression, comparative study, Campath, Zenapax.

Введение

Начало истории трансплантации почки в клинике восходит к 1955 г., когда Мюрреем (Бостон) было опубликовано сообщение о 9 успешных трансплантациях от живого родственного донора. С тех пор история трансплантации набирает обороты, возрастало число ежегодно выполняемых операций и улучшались их результаты. На сегодняшний день в мире выполняется более 100 тыс. пересадок почки в год.

Параллельно развивалась проблема иммунодепрессивной терапии, без которой успешная трансплантация почек невозможна. Цель иммунодепрессивной терапии заключается в подавлении иммунитета пациента настолько, чтобы воспрепятствовать развитию отторжения, но вместе с тем не подавить противоинфекционный иммунитет. Каждый последующий иммунодепрессант обладал более избирательным действием и подавлял только ту часть иммунитета, которая ответственна за развитие отторжения.

С конца 1990-х годов при трансплантации органов начали использовать алеmtузумаб — моноклональное анти-CD52-антитело [1, 2]. Опыт различных зарубежных центров трансплантации, в которых использовали алеmtузумаб в качестве иммунодепрессанта, показал его высокую иммунодепрессивную активность и низкую токсичность [3, 4].

В процессе противостояния донорского органа и иммунной системы реципиента принимают участие 2 типа сигналов. 1-й тип сигналов поступает от донор-специфических рецепторов, расположенных на поверхности Т-лимфоцитов, активируемых антигенами HLA. 2-й тип сигналов, названный костимуляторным или дополнительным, примечателен тем, что при его отсутствии иммунная система хозяина не формирует агрессии против донорского органа. В формировании костимуляторных сигналов принимают участие молекулы, располагающиеся в мезенхимальных клетках. Введение алеmtузумаба вызывает гибель мезенхимальных клеток через 15—30 дней после введения, осуществляя тем самым блокирование костимулирующего сигнала [5, 6]. Это, в свою очередь, может привести к созданию донор-специфической толерантности. Вы-

шеизложенное послужило обоснованием того, чтобы 1-е введение препарата проводили за 15—30 сут до трансплантации.

Материалы и методы

В основу настоящей работы положен опыт работы отделения трансплантации почки РНЦХ РАМН по использованию даклизумаба (до сентября 2006 г.) и алеmtузумаба (с сентября 2006 г. по май 2007 г.) для индукционной иммунодепрессии. Для оценки эффективности индукционной иммунодепрессии был проведен сравнительный анализ 2 групп больных. В 1-ю группу включены больные, получавшие алеmtузумаб (кэмпас — Campath®, Shering AG, Германия), во 2-ю — даклизумаб (зенапакс — Zenapax®, Hoffmann la Roche, Швейцария).

Статистическую обработку материала проводили на ПК в программе Statistica 6.0; при сравнении групп применяли критерий Стьюдента и односторонний вариант точного критерия Фишера. Результаты представлены в виде средней арифметической и ошибки средней ($M \pm m$).

В 1-ю (исследуемую) группу вошли 30 больных в терминальной стадии хронической почечной недостаточности (ХПН), которым в отделении трансплантации почки РНЦХ РАМН выполнены 30 аллотрансплантации почки от живого родственного донора. Возраст больных составил от 8 мес до 52 лет, мужчин было 18, женщин — 12. Причинами терминальной стадии ХПН служили: хронический гломерулонефрит ($n=10$), гипоплазия почек ($n=8$), обструктивная уропатия ($n=4$), врожденный нефротический синдром ($n=4$), синдром Альпорта ($n=1$) и гемолитико-уремический синдром ($n=1$). 26 пациентам перед трансплантацией проводили программный гемодиализ, продолжительность которого составила 8—52 мес (в среднем $11,3 \pm 13,6$). 4 больным экстракорпоральную детоксикацию не проводили. Донорами почек были: мать ($n=18$), отец ($n=4$), сестра ($n=2$), брат ($n=2$), бабушка ($n=2$), тетя ($n=1$), племянник ($n=1$). Возраст доноров колебался от 24 до 67 лет. Число несовпадений между донором и реципиентом по антигенам системы HLA-A, B, Dg было от 1 до 4.

Во 2-ю (контрольную) группу включены 34 больных, которым также пересадили почки от родственных доноров.

По возрасту больные были от 15 до 42 лет. Всем, кроме 4 больных, перед пересадкой проводили гемодиализ, продолжительность периода которого достигала от 11 дней до 7,7 года (в среднем $1,37 \pm 1,58$ года). Донорами почек были: мать ($n=15$), отец ($n=10$), брат ($n=3$), кузен ($n=4$), бабушка ($n=1$), дядя ($n=1$). Возраст доноров был в диапазоне от 19 до 59 лет. Число несовпадений между донором и реципиентом по антигенам системы HLA-A, B, Dg было от 0 до 6. Среднее число введений зенапакса составило $4,73 \pm 0,88$ (от 2 до 7), суммарная доза $264,35 \pm 106,79$ мг (от 50 до 475 мг).

Параметры обеих групп представлены в таблице.

Первый раз инфузию зенапакса проводили интраоперационно, в последующем его вводили с интервалами от 5 до 14 дней, ориентируясь на данные пункционной биопсии трансплантата и абсолютное число CD25; количество введений варьировало от 2 до 7.

Кэмпас вводили дважды. 1-е внутривенное введение кэмпаса в дозе 30 мг независимо от массы тела, осуществляли за 13–42 дня (в среднем 19 ± 5 дней) до трансплантации. Перед инфузией кэмпаса больным проводили премедикацию метилпреднизолоном, анальгином и супрастином в дозах 150, 500 и 12 мг/м² соответственно. 2-й раз кэмпас вводили сразу же после завершения интраоперационного плазмафереза, выполняемого при трансплантации почки.

В посттрансплантационном периоде больным назначали плановую иммунодепрессию, в протокол которой входили кортикостероиды, ингибиторы кальциневрина — циклоспорин (Novartis) или програф (Astellas) и микофенолаты — селлсепт (Hoffman La Roche) или майфортин (Novartis). Всем больным проводили профилактический курс — внутривенное введение ганцикловира или вальцита (Hoffman la Roche), продолжительность курса — не менее 3 нед. Ганцикловир или вальцит отменяли при получении отрицательного результата анализа крови на ДНК цитомегаловируса. Поскольку кэмпас взаимодействует с CD52, вызывая гибель всех лимфоцитов, а зенапакс, взаимодействуя с CD25, не вызывает цитолиза, для сравнительной оценки иммунодепрессивной активности препаратов было использовано абсолютное число лимфоцитов в периферической крови.

Результаты

Определение абсолютного числа лимфоцитов периферической крови. Исследование абсолютного числа лимфоцитов периферической крови у больных, которым индукцию осуществляли с помощью кэмпаса, дало следующие результаты. Перед 1-м введением препарата оно составляло $2884,04 \pm 1620,78$ в 1 мм³, через 1–3 дня после введения — $515,14 \pm 680,95$ в 1 мм³ (разница статистически достоверна $t=4,25$, $p<0,01$). Затем, с течением времени, оно нарастало, и к концу 1-го года после пересадки было на уровне $1577,39 \pm 1446,19$ в 1 мм³. Хотя абсолютное число лимфоцитов периферической крови выросло более чем в 3 раза по сравнению с тем, которое

было непосредственно после введения кэмпаса, все же исходного уровня оно не достигло. Это свидетельствует о том, что двукратное введение кэмпаса обеспечивает стабильное подавление трансплантационного иммунитета, поскольку даже через 1 год после операции абсолютное число лимфоцитов периферической крови оставалось более чем в 1,5 раза ниже исходного. Для большей наглядности динамика абсолютного числа лимфоцитов периферической крови у больных 1-й группы представлена на рис. 1.

Исследование абсолютного числа лимфоцитов периферической крови у больных, которым индукционную иммунодепрессию проводили с помощью многократных введений зенапакса, показало следующее. В исходе (до трансплантации и, соответственно, до 1-го введения зенапакса) абсолютное число лимфоцитов периферической крови составляло $2106,2 \pm 1102,5$ в 1 мм³. После трансплантации оно стало нарастать, достигнув на 14–17-е сутки после пересадки $7338,7 \pm 1409,7$ в 1 мм³. Затем наблюдалось уменьшение данного показателя, но через 1 год после трансплантации он оставался выше исходного уровня ($2402,9 \pm 1461,6$ в 1 мм³). Динамика абсолютного числа лимфоцитов периферической крови у пациентов 2-й группы представлена на рис. 2.

Представленная картина свидетельствует о том, что кэмпас вызывает значительную Т-деплецию, которая продолжается в течение длительного времени, в отличие от зенапакса, механизм иммуносупрессивного действия которого не связан с уничтожением клеток.

Результаты пункционной биопсии аллопочек. Пункционную биопсию трансплантированных почек выполняли в плановом порядке всем больным обеих групп.

Характеристика исследуемой и контрольной групп больных

Параметр	1-я группа	2-я группа
Число больных	30	34
Соотношение мужчин и женщин	18/12	16/18
Средний возраст больных, лет	$16,2 \pm 13,3$	$17,63 \pm 11,63^*$
Средний возраст доноров, лет	$37,9 \pm 9,5$	$39,54 \pm 11,08^*$
Среднее число HLA-несовпадений	$2,4 \pm 0,89$	$3,0 \pm 1,13^*$

*По критерию Стьюдента $p>0,05$ при сравнении с 1-й группой. По основным параметрам обе группы больных были идентичны, что позволило считать сравнительный анализ между ними правомочным и корректным.

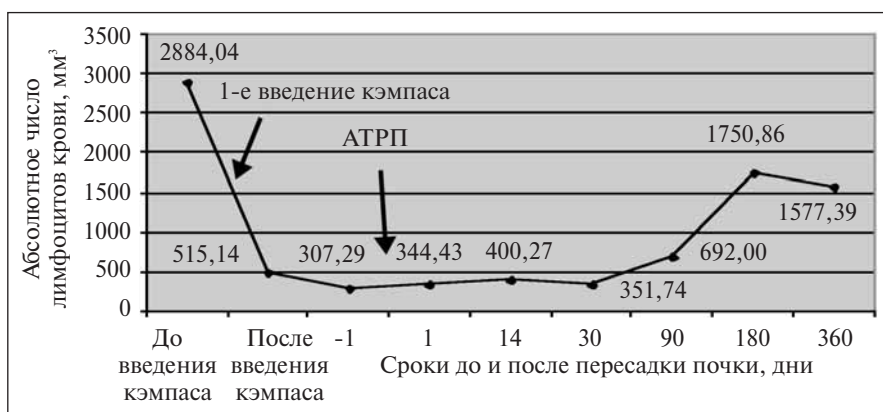


Рис. 1. Динамика абсолютного числа лимфоцитов на фоне индукции кэмпасом

Морфологическое исследование биоптатов в 1-й группе дало следующие результаты. Острое отторжение, включая субклинические формы, наблюдали у 14 (46,7%) больных из 30, эпизодов было 18. 8 эпизодов отторжения у 7 больных развились в период от 1 до 6 мес после пересадки, в 7 случаях по классификации Banff оно относилось к категории 1а, в 1 — 2а. В сроки свыше 6 мес после пересадки почки наблюдались 10 эпизодов острого отторжения у 7 реципиентов, все эпизо-

ды по классификации Banff относились к категории 1а. Детальная морфологическая характеристика эпизодов острого отторжения представлена на рис. 3.

График свидетельствует о том, что характер отторжения в сроки от 0 до 6 мес после пересадки и свыше 6 мес после пересадки по таким параметрам, как *t* (тубулит), *i* (инфильтрация) и *v* (васкулит) — основным показателям острого отторжения — практически одинаков. Это косвенно

свидетельствует о том, что напряженность иммунного статуса больного не нарастает с течением времени.

Во 2-й группе эпизоды острого отторжения (включая субклинические формы) наблюдались у 26 (76,34%) больных из 34. Статистический анализ с использованием одностороннего критерия Фишера показал, что разница в частоте острого отторжения между группами статистически достоверна ($p=0,0128$). Следовательно, у больных 2-й группы напряженность иммунитета выше, чем у больных 1-й группы. Другими словами, кэмпас обладает более выраженной иммунодепрессивной активностью. Детальная характеристика морфологии острого отторжения в данной группе представлена на рис. 4.

Таким образом, сравнительный анализ частоты острого отторжения между больными 1-й и 2-й групп (46,68 и 76,34% соответственно) показал, что кэмпас обладает более выраженной иммунодепрессивной активностью. Побочные реакции (гипертермия до 38,5°C, озноб) на 1-е введение кэмпаса наблюдали у 51% больных. Указанные проявления были купированы введением стероидов, антигистаминных и антипиретических препаратов. Состояние больных не ухудшилось, и им было выполнено повторное введение препарата интраоперационно.

Выживаемость реципиентов аллогенных почек. Из 30 больных 1-й группы погибли 3 больных в сроки через 162, 414 и 452 дня после трансплантации почки. У всех больных на момент гибели функция трансплантированной почки была удовлетворительной. Причины гибели пациентов: нарушение водно-электролитного баланса у 2 больных, у 1 больного — отек легких кардиогенного или инфекционно-токсического генеза. Во 2-й группе из 34 больных погибли 2: 1 человек через 26 дней от кровоизлияния в мозг, причиной гибели другого через 144 дня был агранулоцитоз. Таким образом, оба больных погибли до истечения 6 мес после пересадки. При оценке выживаемости получены результаты, представленные на рис. 5.



Рис. 2. Динамика абсолютного числа лимфоцитов на фоне индукции зенапаксом

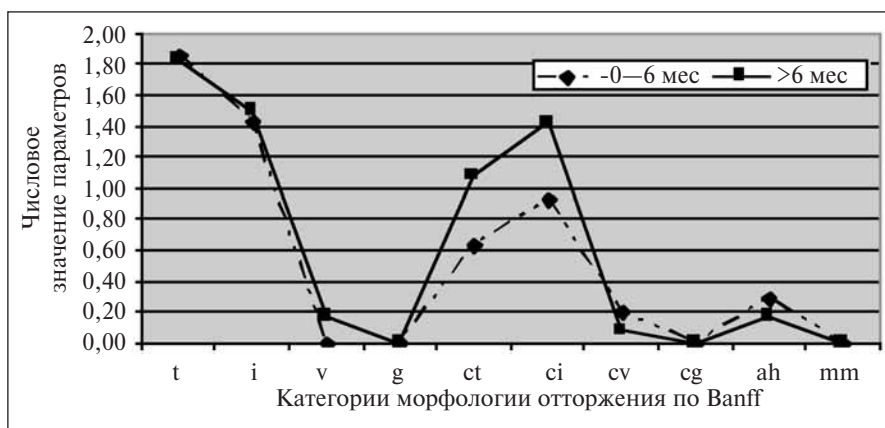


Рис. 3. Морфологический спектр острого отторжения после индукции кэмпасом

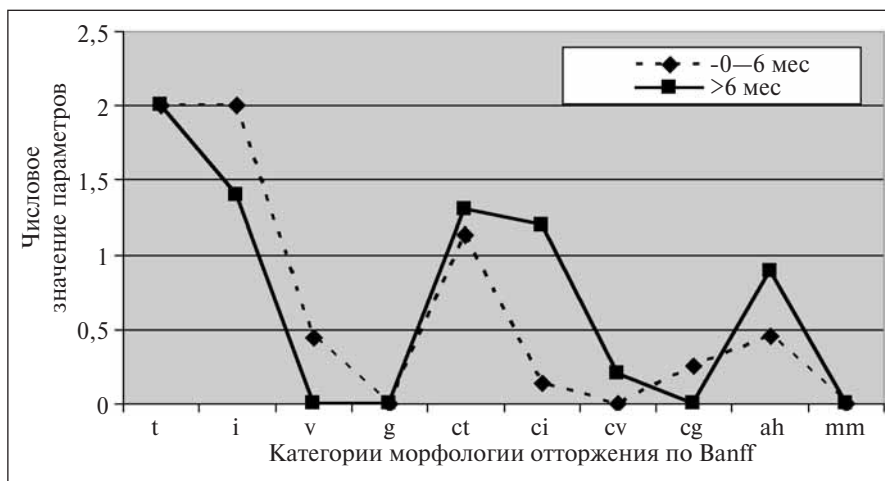


Рис. 4. Морфологический спектр острого отторжения на фоне применения зенапакса

Рис. 5 свидетельствует, что годовая выживаемость реципиентов в 1-й группе выше, чем во 2-й, что также является аргументом в пользу препарата кэмпас.

Заключение

Таким образом, представленный сравнительный анализ иммунодепрессивной активности кэмпаса и зенапакса указывает на то, что иммунодепрессивная активность первого более высока. Об этом свидетельствует меньшая частота эпизодов острого отторжения у реципиентов 1-й группы по сравнению с реципиентами 2-й группы (46,68 и 76,34% соответственно, разница статистически достоверна). Об этом же свидетельствует более выраженное подавление лимфопоза у реципиентов 1-й группы, и наконец, об этом же говорит и более высокая выживаемость реципиентов с функционирующими трансплантатами в 1-й группе. Кроме того, для обеспечения эффективной иммунодепрессии с помощью кэмпаса достаточно 2 введе-

ний препарата, в то время как при использовании зенапакса его приходится нередко вводить 5—7 раз. Следовательно, кэмпас способен обеспечить эффективную и достаточно продолжительную иммунодепрессию у реципиентов аллотрансплантированных родственных почек.

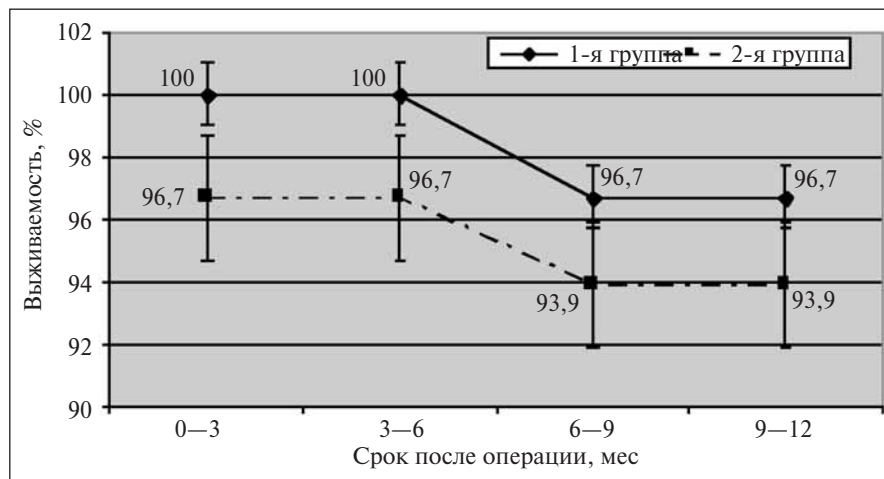


Рис. 5. Сравнение выживаемости реципиентов в 1-й и 2-й группах

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Calne R.Y., Friend P., Moffatt S. et al. Probe tolerance, perioperative Campath-1H, and low-dose cyclosporin monotherapy in renal allograft recipients. *Lancet* 1998;351:601.
2. Calne R.Y., Moffatt S.D., Friend P.J. et al. Campath 1-H allows low-dose cyclosporine monotherapy in 31 cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation* 1999;68:1613—6.
3. Kirk A.D., Mannon R.B., Kleiner D.E. et al. Results from a human renal allograft tolerance trial evaluating T-cell depletion with Alemtuzumab combined with Deoxyspergualin. *Transplantation* 2005;80(8):1051—8.
4. Knechtle S.I., Pirsch I.D., Fechner J.Jr. et al. Campath-1H induction plus rapamycin monotherapy for renal transplantation: results of a pilot study. *Am J Transplant* 2003;3:722.
5. Thomas P.G., Ishihara R., Vaidya S. et al. Campath and renal transplant rejection. *Clin Transplantation* 2004;18(6):759—61.
6. Watson C.J., Firth J., Bradley J. et al. Campath 1-H (Alemtuzumab) in renal transplantation: 5-year comparative follow up. *Am J Transplant* 2004;4(suppl 8):404.

Применение заместительной почечной терапии после трансплантации печени

С.В. Журавель, Е.Н. Дорофеева, Н.К. Кузнецова, А.О. Чугунов, В.В. Киселев, А.М. Талызин, Л.В. Донова, А.В. Чжао

Центр трансплантации печени НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

Renal replacement therapy after liver transplantation

S.V. Zhuravel, Ye.N. Dorofeyeva, N.K. Kuznetsova, A.O. Chugunov, V.V. Kiselev, A.M. Talyzin, L.V. Donova, A.V. Chzhao

Liver Transplantation Center, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow

Objective: to analyze the causes of acute renal failure (ARF) and to study the efficiency of renal replacement therapy (RRT) in the treatment of this condition after liver transplantation.

Materials and methods. Eighty liver transplantations made at the N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care from 2000 to 2008 were analyzed. The patients were divided into 2 groups: 1) 29 patients with evolving ARF who received RRT in the postoperative period; 2) 51 patients who had no indications for RRT.

Results. Postoperative RRT was performed in 29 (36.3%) patients. Of them, 23 patients had been identified to have the hepatorenal syndrome in the preoperative period. Renal function recovered in 20 (72.4%) of the 29 patients who needed RRT during the performed treatment and they were discharged from the clinic. Due to the conducted treatment, these patients showed stabilization and their ARF resolution occurred within 12.7 ± 6.2 days. The mean number of performed sessions required to restore renal function was 8.8 (range 1 to 56).

Conclusion. Preoperative hepatorenal syndrome is a predictor of ARF in the postoperative period. At the same time ARD has a good prognosis after liver transplantation. With a primary non-functioning graft, extracorporeal techniques are ineffective and maintenance therapy used prior to liver retransplantation.

Key words: orthotopic liver transplantation, acute renal failure, hepatorenal syndrome, renal replacement therapy.