

О синергизме иммунодепрессивных препаратов (Кемпас в комплексе индукционной иммунодепрессии)

В.А. Горяйнов, М.М. Каабак, Л.А. Шишло
ГУ «РНЦХ РАМН им. акад. Б.В. Петровского»

About synergism of immunosuppressants
(Kampath in complex of inductive immunosuppression)

V.A. Goriaynov, M.M. Kaabak, L.A. Shyshlo

Ключевые слова: пересадка почки, иммунодепрессия, индукция.

С того момента как в комплекс иммунодепрессии в отделении трансплантации почки РНЦХ РАМН был введен Кемпас, мы решили выяснить, способен ли он потенцировать действие вводимого параллельно Зенапакса. Для этого была оценена продолжительность интервала между введениями Зенапакса. Кемпас вводили 7 больным дважды: первое введение осуществляли за 18–21 день до трансплантации, второе – в день пересадки сразу по окончании плазмафереза. В качестве контрольной группы взяты 9 больных, которым индукционную иммунодепрессию осуществляли только с помощью Зенапакса. По демографическим и клинико-лабораторным параметрам группы были идентичны. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке методом малой выборки с использованием критерия Стьюдента. Проведенный анализ показал, что у больных, которым вводили Кемпас, продолжительность интервалов между введениями Зенапакса значительно увеличивалась (разница статистически достоверна). Следовательно: Кемпас потенцирует иммунодепрессивное действие Зенапакса.

Since a moment of introduction of Kampath in complex of immunosuppression in the department of kidney transplantation we decided to elucidate whether Kampath is capable to potentiate the action of simultaneously administered Zenapax. To appreciate this as a test a length of intervals between Zenapax infusions was taken. Kampath was infused to 7 patients twice: first dose of drug was infused 17–21 days before transplantation. A second one – in the day of kidney transplantation, just after plasmapheresis was terminated. As a control group 9 patients to whom inductive immunosuppression was performed with Zenapax only was used. Both groups were identical by demographic and laboratory-clinical parameters. Data were statistically treated with the use of Student criterion. Executed analysis has demonstrated, that in patients with Kampath a length of intervals between infusions of Zenapax was greater than in patients without Zenapax (difference was statistically authentic). Therefore, Kampath exponentiate immunosuppressive activity of Zenapax.

Введение

Прогресс в развитии иммунодепрессивных средств уменьшил частоту и тяжесть острого отторжения после трансплантации почки. Ближайшие результаты операции значительно улучшились (до 1 года после пересадки) [5, 11, 18], отдаленные результаты также улучшились, хотя и в меньшей степени [1, 7]. Это является либо следствием продолжительного нефротоксического воздействия ингибиторов кальциневрина, приводящего к развитию нефропатии; либо следствием хронического отторжения, что оставляет большой простор для совершенствования протоколов иммуно-

супрессии с целью повышения эффективности и снижения токсичности.

Такие новые биологические агенты, как моноклональные антитела (химерические или гуманизированные) с более продолжительным периодом полужизни, стали использоваться для индукционной иммунодепрессии [3, 10]. Результирующее продолжительное биологическое воздействие позволяет вводить их в раннем посттрансплантационном периоде в сочетании с малыми дозами ингибиторов кальциневрина как в течение короткого, так и продолжительного времени; а также позволит избежать назначения кальциневриновых ингибиторов и кортикостероидов [8, 17, 20].

Одним из таких агентов является алемтузумаб (Кемпас-1Н) – гуманизированные CD52-специфические моноклональные антитела. В 2005 г. группой ученых, руководимой талантливым хирургом и одним из крупнейших пионеров в трансплантологии – сэром Роем Калном, были опубликованы результаты пятилетнего наблюдения за пациентами после трансплантации трупной почки, где применялась индукция Кемпасом с последующей монотерапией низкими дозами циклоспорина [14]. Вслед за европейцами результаты индукционной иммуносупрессии Кемпасом с последующей монотерапией низкими дозами Прографа у реципиентов почечных трансплантатов от живых доноров были опубликованы сотрудниками института Томаса Старзла [16]. Эти результаты были настолько впечатляющими, что началось широкое внедрение Кемпаса в клиническую трансплантологию, появились отчеты о применении Кемпаса при трансплантации почки у детей [13] и трансплантации поджелудочной железы [16].

С сентября 2006 г. мы начали применение Кемпаса при трансплантации почки от живых родственных доноров в РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского РАМН. Уникальный механизм действия Кемпаса, равно как и его клиническая безопасность в дозах, используемых в трансплантации органов, привели нас к идее использовать Кемпас в отличном от описанных в литературе режимов с целью не только уничтожить к моменту трансплантации Т- и В-лимфоциты, но также значительно снизить число мезенхимальных клеток – основных медиаторов костимуляторного сигнала.

Имеющиеся в литературе данные позволяют с большой долей вероятности предположить, что эффективная блокада костимуляторного сигнала способствует развитию донор-специфической толерантности при аллотрансплантации и предотвращает развитие аутоиммунных реакций при аутотрансплантации (реперфузионном повреждении).

Изучению аутоиммунных реакций при реперфузионной травме посвящен ряд работ группы исследователей из Бостона (Chanraker A. et al. (1997) [2]), которые при поддержке Bristol Myers Squibb изучали патогенез повреждения почки у крыс при односторонней нефрэктомии с последующей перфузией другой почки раствором на основе UW и 45-минутной ишемией.

Авторы обнаружили появление прогрессирующей протеинурии на 5–12-й неделе после реперфузионного повреждения. Вещество CTLA4Ig, блокирующее костимуляцию Т-клеток по пути CD28-B7, вводимое либо сразу после реперфузии, либо через 1 неделю, предотвращает развитие дисфункции почки, а вводимое через 4 недели – не предотвращает. Исследователи утверждают, что «патогенетический механизм, ответственный за хроническую дисфункцию органа, развивающийся после реперфузионного повреждения, остается неизвестным. Молекулярные исследования с использованием RT-PCR указывают на присутствие в органе, подвергшемся ишемии, ключевых Т-клеток, активации моноцитов/макрофагов и воспалительных цитокинов, хемоаттрактантов и факторов роста, однако вклад каждого из перечис-

ленных агентов в развитие хронической дисфункции нуждается в дальнейшем исследовании. INF-гамма и TNF-альфа являются мощными индукторами экспрессии HLA-антигенов 2-го класса [9] и B7 [21]: оба фактора вносят вклад в усиление «иммуногенности» органа, перенесшего ишемию».

Авторы также строят весьма смелые гипотезы: «В условиях отсутствия иммунного ответа к аллоантигенам (имеется в виду их модель реперфузионного повреждения) интересно предположить, что И/Р-повреждение может привести к «экспозиции» неоантигенов, которые могут распознаваться Т-клетками на инфильтрирующих антиген-презентирующих клетках, экспрессирующих антигены 2-го класса МНС, и способно обеспечить костимулирующий сигнал. Известно также, что свободные радикалы обеспечивают сигнал для активации Т-клеток. Поэтому альтернативная гипотеза заключается в следующем: Т-клетки активируются свободными радикалами, высвобождающимися при холодом И/Р-повреждении. CTLA4Ig, блокируя второй, или костимулирующий, сигнал активации Т-клеток, ингибирует полную активацию Т-клеток и предотвращает повреждение органа».

Однако авторы осознают, что их результаты не доказывают 100% патогенетическую роль Т-клеток в холодом И/Р-повреждении, так как возможно, что блокада B7 может напрямую влиять на моноциты/макрофаги или эндотелиальные клетки [2, 6].

Кемпас через 2–3 недели после введения в состоянии значительно снизить количество мезенхимальных клеток, что может способствовать развитию донор-специфической толерантности, если презентация антигенов будет происходить как раз в это время.

Руководствуясь этой гипотезой, мы первое введение Кемпаса производим за 2–3 недели до трансплантации почки от живого родственного донора, второе введение – по окончании плазмафереза в 0-е сутки после операции.

Настоящая работа посвящена описанию обнаруженного нами синергического взаимодействия между Зенапаксом и Кемпасом.

Синергизм в действии иммунодепрессивных препаратов может оказать существенную помощь в осуществлении адекватной иммунодепрессии (в одинаковой степени эффективной и безопасной). Идея о потенцировании действия одного иммунодепрессанта другим возникла почти с самого начала развития клинической трансплантологии. Впервые в мире комплексное использование иммунодепрессивных препаратов имело место в Бостоне в 1954 г. По мере развития фармакологии и появления новых иммунодепрессивных препаратов вопрос о подборе оптимальной комбинации иммунодепрессантов становится все более и более актуальным.

Материал и методы

С того момента как в комплекс иммунодепрессии в отделении трансплантации почки РНЦХ РАМН был введен Кемпас, мы решили выяснить, способен ли он потенцировать действие вводимого параллельно Зенапакса. Для оценки этого была взята продолжительность интервала между введениями Зенапакса. Выбор

продолжительности интервала между введениями обусловлен тем, что в отделении трансплантации почки РНЦХ РАМН срок последующего введения Зенапакса определяется моментом начала повышения абсолютного числа CD25-позитивных клеток в периферической крови, что объясняется окончанием иммунодепрессивного действия препарата. Следовательно, добавление к протоколу индукционной иммунодепрессии Зенапаксом способно либо потенцировать его иммунодепрессивный эффект, либо оставить его без изменений. Ответить на этот вопрос можно, проследив динамику продолжительности интервалов между введениями Зенапакса.

Была изучена группа из 7 больных, которым в виде индукционной иммунодепрессии использовали комбинацию Зенапакса и Кемпаса (группа 1). Причины почечной недостаточности у этих пациентов представлены в табл. 1.

Возраст больных от 5 до 32 лет (в среднем $11,14 \pm 3,66$). Мужчин было 5, женщин – 2. Число совпадений по HLA-A, -B, -Dr – $2,71 \pm 0,47$. Донорами почек были: мать (5), брат (10), бабушка (1). Возраст доноров от 27 до 45 лет (в среднем $36,67 \pm 8,35$). Зенапакс всем больным вводили пятикратно, суммарная доза варьировала от 125 до 375 мг (в среднем $178,57 \pm 37,33$).

Таблица 1

Причины терминальной стадии почечной недостаточности у больных группы 1

Основное заболевание	Число больных	Процент
Хр. гломерулонефрит	2	28,57%
2-сторонний уретерогидронефроз	2	28,57%
Олигонефрония	1	14,29%
Диффузный мезангиальный склероз	1	14,28%
Гипоплазия	1	14,29%
<i>Итого</i>	7	100%

Таблица 2

Причины терминальной почечной недостаточности у больных группы 2

Основное заболевание	Число больных	Процент
Хр. гломерулонефрит	2	22,22%
П.-м. рефлюкс	1	11,12%
Нефрофтиз Фанкони	3	33,33%
Дис- и гипоплазия	3	33,33%
<i>Итого</i>	9	100,0%

Таблица 3

Сравнение лабораторно-демографических показателей обеих групп

Параметр	Группа 1 (Кемпас)	p	Группа 2 (Зенапакс)
Число больных	9		7
Муж./жен.	4/10		8/4
Возраст больных	$11,14 \pm 3,36$	$p > 0,1$	$12,67 \pm 1,53$
Возраст доноров	$43,79 \pm 10,71$	$p > 0,1$	$42,5 \pm 12,31$
Число совпадений	$2,71 \pm 0,48$	$p > 0,1$	$2,86 \pm 1,85$
Абс. число CD25	$0,41 \pm 0,68$	$p > 0,1$	$0,29 \pm 0,34$
Абс. число лимфоцитов	$1446,8 \pm 865,6$	$p > 0,1$	$1360,6 \pm 783,1$

Первое введение Кемпаса в дозе 30 мг проводили за 17–21 день до трансплантации, второе введение Кемпаса осуществляли в день трансплантации по окончании плазмафереза.

В качестве контрольной группы взяты 9 больных (группа 2), которым вводили только Зенапакс. Данные о причинах ХПН у больных группы 2 представлены в табл. 2.

Донорами почек были: мать (5), отец (6), кузен (2), труп мужчины (1).

Возраст доноров – от 31 до 63 лет (в среднем $43,79 \pm 10,71$). Совместимость между донором и реципиентом определяли по антигенам группы АВ0, а также по антигенам системы HLA-A, -B, -Dr. Число совпадений по антигенам системы HLA-A, -B, -Dr варьировало от 1 до 4 (в среднем $2,88 \pm 0,95$).

Всем больным вводили Зенапакс пятикратно, суммарная доза варьировала от 125 до 375 мг (в среднем $251,4 \pm 83,0$). Согласно рекомендации фирмы La Roche препарат рекомендовано вводить в дозе 1 мг/кг. Продолжительность интервалов между вторым и последующими введениями варьировала у подавляющего большинства больных от 1 до 28 дней (в среднем $10,98 \pm 7,94$), что зависело от динамики абсолютного числа CD25-позитивных клеток в периферической крови.

Для большей наглядности данные по обеим группам приведены в табл. 3.

Из представленной таблицы видно, что состав обеих групп практически идентичен, следовательно проведение сравнительного анализа правомочно.

Результаты

Сравнивая продолжительность интервалов между введениями Зенапакса, мы должны оговорить, что первую инфузию препарата осуществляли перед пересадкой, а вторую – сразу после прекращения плазмафереза, интервалы между этими введениями составляли 0–1 сутки в обеих группах. Следовательно, мы начали анализ со сравнения продолжительности интервалов между 2-м и 3-м введениями (интервал 1). В группе 1 она составляла $17,17 \pm 4,45$ дня, в группе 2 – $9,45 \pm 1,19$ (интервал 1). Разница между этими величинами, как показала математическая обработка, статистически достоверна ($t = 2,14$, $p < 0,05$). Продолжительность интервала между 3-м и 4-м введениями (интервал 2) в группе 1 составляла $14,6 \pm 2,23$ дня, в группе 2 – $7,5 \pm 1,17$ (интервал 2). И в этом случае разница была статистически достоверной ($t = 3,13$, $p < 0,05$).

Совершенно очевидно, что продолжительность интервала 2 меньше, чем продолжительность интервала 1 в обеих группах, но эти различия статистически недостоверны как в группе 1 ($t = 0,48$, $p > 0,5$), так и в группе 2 ($t = 1,16$, $p > 0,1$).

Заключение

Таким образом, анализ продолжительности интервалов между введениями Зенапакса у больных, которым помимо последнего еще вводили Кемпас, показал, что интервалы при дополнении иммунодепрессии Кемпасом стали значительно продолжитель-

нее, чем у больных, у которых индукционная иммунодепрессия ограничивалась введением только Зенапакса.

Принимая во внимание тот факт, что при определении срока последующих введений Зенапакса мы ориентируемся на динамику CD25-позитивных клеток в периферической крови, можно сказать, что такое удлинение интервала между введениями Зенапакса на фоне Кемпаса свидетельствует о более медленном нарастании их числа. А это, в свою очередь, свидетельствует о более выраженном иммунодепрессивном действии Зенапакса. Следовательно, введение Кемпаса потенцирует иммунодепрессивное действие Зенапакса.

Литература

1. Burke J.R. jr, Pirsh J.D., Ramon E.L. et al. Long-term efficacy and safety of cyclosporine in renal transplant recipients. *N Engl J Med* 1994; 331: 358.
2. Chandraker A, Takada M, Nadeau K.C., Peach R, Tinley N, Sayegh M. CD28-B7 blockade in organ dysfunction secondary to cold ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 1997; 52: 1678–1684.
3. Ciancio G, Burke G.V., Suzart K. et al. Daclizumab induction, tacrolimus, mycophenolate mofetil and steroids as an immunosuppression regimen for primary kidney transplant recipients. *Transplantation* 2002; 73: 1100.
4. Coenen J.J., Coenen H.J., van Rijssen E. et al. CTLA-4 engagement and regulatory CD4+CD25+ T-cells independently control CD8+-mediated responses under costimulation blockade. *J Immunol* 2006; 176 (9): 5240–5246.
5. Firsch J.D., Miller J., Deierboi M.H. et al. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression, after cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 977.
6. Goes N, Urmos J, Ramassar V, Halloran P.F. Ischemic acute tubular necrosis induces an extensive local cytokine response. Evidence for induction of interferon-gamma, transforming growth factor-beta 1: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin-2, and interleukin-10. *Transplantation* 1995; 59: 565–572.
7. Harbaran S, Johnson C.P., Bresnahan R.A. et al. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000; 342: 605.
8. Kuypers D.R., Evenepoel P., Maes B. et al. The use of an anti-CD25 monoclonal antibody and mycophenolate mofetil enables the use of low-dose tacrolimus and early withdrawal of steroids in renal transplant recipients. *Clin Transplant* 2003; 75: 37.
9. Larsen C.P., Ritchie S.C., Hendrix R, Linsley P.S., Hatcock K.S., Hodes R.J., Pearson T.C. Regulation of immunostimulatory function and costimulatory molecule (B7-1 and B7-2) expression on murine dendritic cells. *J Immunol* 1994; 152: 5208–5219.
10. Nasban B, Light S, Hardie I.R. et al. Reduction of acute renal allograft rejection by daclizumab. *Transplantation* 1999; 67: 110.
11. Ojo A.O., Meier-Kriesbe H.U., Hanson J.A. et al. Mycophenolate mofetil reduces late renal allograft loss independent rejection. *Transplantation* 2000; 69: 2405.
12. Perco P, Blaba P, Kainz A. et al. Molecular signature of mice T-lymphocytes following tolerance induction by allogeneic BMT and CD40-CD40L costimulation blockade. *Transpl Int* 2006; 19 (2): 146–157.
13. Shapiro R, Ellis D, Tan H.P. et al. Antilymphoid antibody preconditioning and tacrolimus monotherapy for pediatric kidney transplantation. *J Pediatr* 2006; 148 (6): 813–818.
14. Takada M, Chandraker A, Nadeau K.C., Sayegh M.H., Tinley N.L. The role of the B7 costimulatory pathway in experimental cold ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 1997; 1; 100 (5): 1199–1203.
15. Tan H.P., Kaczorowski D.J., Basu A. et al. Living donor renal transplantation using alemtuzumab induction and tacrolimus monotherapy. *Am J Transplant* 2006; 6 (10): 2409–2417.
16. Thai N.L., Abu-Elmagd K, Khan A. et al. Pancreatic transplantation at the University of Pittsburgh. *Clin Transpl* 2004; 205–214.
17. Tran H.T., Acharya M.K., McKay D.B. et al. Avoidance of cyclosporine in renal transplantation: effects of daclizumab, mycophenolate mofetil, and steroids. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1903.
18. The Tricontinental Mofetil Renal Transplantation Study Group. A blinded randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaver transplantation. *Transplantation* 1996; 61: 1029.
19. Vathsala A, Ona E.T., Tam S.Y. et al. Randomized trial of Alemtuzumab for prevention of graft rejection and preservation of renal function after kidney transplantation. *Transplantation* 2005; 80 (6): 765–774.
20. Vincenti F, Ramos E, Brattstrom C. et al. Multicenter trial exploring calcineurin inhibitors-avoidance in renal transplantation. *Transplantation* 2001; 71: 1282.
21. Watson C.J., Bradely J.A., Friend P.J. et al. Alemtuzumab (CAMPATH 1H) induction therapy in cadaveric kidney transplantation – efficacy and safety at five years. *Am J Transplant* 2005; 5 (6): 1347–1538.