

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ЛИГАНДА CD40 У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА, ПОЛУЧАЮЩИХ ЦИКЛОСПОРИН А И ТАКРОЛИМУС

Шевченко О.П., Халилулин Т.А., Орлова О.В., Казаков Э.Н., Кормер А.Я., Честухин В.В., Миронков Б.Л.

ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова»
Минздравсоцразвития России, г. Москва

Растворимая форма CD40L – фактор активации тромбоцитов, являющийся маркером тромбоза и воспаления. Повышенные уровни sCD40L до трансплантации сердца связаны с риском раннего развития сердечно-сосудистых осложнений.

В исследование было включено 54 пациента, перенесших трансплантацию сердца. Все реципиенты сердца получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую метилпреднизолон, микофенолата мофетил и циклоспорин А (20 реципиентов) или метилпреднизолон, микофенолата мофетил и такролимус (34 реципиента). Пациенты не отличались по возрасту, полу, этиологии сердечной недостаточности до трансплантации сердца ($p > 0,05$). У реципиентов первой группы относительный риск развития сердечно-сосудистых осложнений с высокими уровнями sCD40L до трансплантации составил 3,2 (95% ДИ 1,4–12,0). У реципиентов второй группы – 2,69 (95% ДИ 1,1–8,5). Уровни sCD40L после трансплантации сердца достоверно выше у пациентов, получающих терапию циклоспорином ($p < 0,05$).

Повышение концентрации sCD40L связано с более высокой частотой развития сердечно-сосудистых осложнений.

Ключевые слова: трансплантация сердца, sCD40L, иммуносупрессия, сердечно-сосудистые осложнения.

COMPARATIVE ANALYSIS OF SOLUBLE OF CD40 LIGAND LEVELS IN HEART RECIPIENTS TREATED WITH CYCLOSPORINE A AND TACROLIMUS

Shevchenko O.P., Khalilulin T.A., Orlova O.V., Kazakov E.N., Kormer A.J., Chestukhin V.V., Mironkov B.L.

Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

Soluble form of CD40L is platelet activating factor, which is a marker of inflammation and thrombosis. Elevated levels of sCD40L before the heart transplantation are associated with the risk of early development of cardiovascular complications.

The study included 54 patients who had received heart transplants. All recipients received a triple heart immunosuppressive therapy, including methylprednisolone, mycophenolate mofetil and cyclosporine A (20 recipients) or methylprednisolone, mycophenolate mofetil and tacrolimus (34 recipients). Patients were not differed by age, gender, etiology of heart failure before heart transplantation ($p > 0,05$). In the first group of transplant recipients, the relative risk of cardiovascular events with high sCD40L levels before transplantation was 3.2 (95% CI 1.4; 12.0). In the second group of recipients, respectively, 2.69 (95% CI 1.1; 8.5). sCD40L level after heart transplantation was significantly higher for patients receiving cyclosporine ($P < 0.05$).

Increasing concentrations of sCD40L are associated with a higher incidence of cardiovascular complications.

Key words: heart transplantation, sCD40L, immunosuppression, cardiovascular events.

Статья поступила в редакцию 05.04.12 г.

Контакты: Халилулин Тимур Абдулнаимович, к. м. н., врач-хирург отделения коронарной хирургии и трансплантации сердца.
Тел. 8 903 769 63 66, e-mail: timur-medicina@list.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Появление и широкое применение новых иммуносупрессивных препаратов привело в последние годы к значительному снижению частоты и тяжести острого отторжения у реципиентов трансплантированных солидных органов в ранние сроки после операции, однако не оказало существенного влияния на частоту развития осложнений и смертность реципиентов в отдаленные сроки. Последнее объясняется отчасти тем, что современные иммуносупрессанты не позволяют предотвратить и прервать развитие хронического отторжения трансплантата, а также наличием побочных неиммунных эффектов этих препаратов [1].

Согласно современным представлениям, активную роль в иммунопатологии сердечно-сосудистых осложнений играют биомаркеры и факторы воспаления и тромбообразования. К наиболее важным из них относят продукт активации тромбоцитов – растворимую форму лиганда CD40 (sCD40L), которую относят к маркерам тромбоза и воспаления у больных ИБС. Более высокие исходные уровни sCD40L, определяемые у больных сердечной недостаточностью на этапе дотрансплантационного обследования, связаны с более высоким риском раннего развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов сердца после трансплантации [2–4, 13].

Очевидно, что такие иммуносупрессанты, как циклоспорин А и такролимус – ингибиторы кальциневрина, могут оказывать воздействие на костимулирующий путь активации Т-лимфоцита, реализуемый через сигнальную систему CD40/CD40L.

В настоящей работе проведен анализ прогностического значения содержания sCD40L в плазме крови реципиентов сердца, получающих в составе иммуносупрессивной терапии циклоспорин А либо такролимус в отношении развития сердечно-сосудистых осложнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 54 пациента до и после трансплантации сердца (средний срок наблюдения составил $41,78 \pm 31,02$ мес.) в возрасте от 18 до 64 ($37,4 \pm 12,6$) лет, 49 мужчин и 5 женщин. У 36 реципиентов причиной сердечной недостаточности до трансплантации сердца была дилатационная кардиомиопатия, у 18 – ишемическая болезнь сердца.

Взятие крови для исследования производили одновременно с плановым обследованием пациентов, включающим термометрию, вирусологическое, бактериологическое, электро-, эхокардиографическое исследования, динамику изменений общих и биохимических показателей крови, коагулограмму, общий анализ мочи, определение концентрации циклоспорина А и такролимуса (в клиничес-

копической лаборатории – зав. Н.П. Шмерко). Всем реципиентам сердца проводили морфологическое (в патологоанатомическом отделении, зав. – проф. И.М. Ильинский) и иммуногистохимическое (в лаборатории трансплантационной иммунологии, под рук. проф. Л.В. Белецкой) исследования эндомикардиального биоптата и коронароангиографическое исследование (в отделении функциональной диагностики и рентгенохирургических методов исследования, зав. – проф. В.В. Честухин).

В исследование не включались пациенты с наличием двух или более клиническо-лабораторных признаков воспаления, а именно повышенным, более 5 мг/л, содержанием СРБ, лейкоцитозом или палочкоядерным сдвигом лейкоцитарной формулы, субфебрильной или фебрильной температурой тела, другими клиническими проявлениями и/или позитивными данными бактериологического исследования.

Все пациенты с застойной сердечной недостаточностью до трансплантации сердца получали медикаментозную терапию в соответствии с индивидуальными показаниями и тяжестью состояния. Все реципиенты сердца получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую метилпреднизолон, микофенолата мофетил и циклоспорин А (20 реципиентов) или метилпреднизолон, микофенолата мофетил и такролимус (34 реципиента).

Конечными точками исследования явились: острое клеточное и антителообусловленное отторжение трансплантата, развитие васкулопатии трансплантата в течение первых трех лет после трансплантации.

Анализ полученных данных производили с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и пакета прикладных программ для научно-технических расчетов Statistica 7.0. Для представления полученных данных использовались методы описательной статистики. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты, получающие циклоспорин А или такролимус, не отличались по возрасту, полу, этиологии сердечной недостаточности до трансплантации сердца ($p > 0,05$) (табл.). Среди 20 реципиентов, получающих циклоспорин А, было 19 (95%) мужчин и одна (5%) женщина, в возрасте от 18 до 64 ($43,5 \pm 9,5$) лет. У 13 (65%) пациентов причиной сердечной недостаточности до трансплантации сердца была дилатационная кардиомиопатия, у 7

(35%) пациентов – ишемическая болезнь сердца. Среди 34 реципиентов, получающих такролимус, было 30 (85,29%) мужчин и 4 (14,71%) женщины, средний возраст ($42,1 \pm 10,8$) года. У 23 (67,65%) пациентов причиной сердечной недостаточности до трансплантации сердца была дилатационная кардиомиопатия, у 11 (32,35%) пациентов – ишемическая болезнь сердца.

Таблица

Сравнительная характеристика пациентов, получающих циклоспорин А и такролимус

Параметр	Пациенты, получающие циклоспорин А	Пациенты, получающие такролимус
Количество пациентов	20	34
Возраст, лет	от 18 до 64 ($43,5 \pm 9,5$)	от 18 до 56 ($41,5 \pm 11,5$)
Пол, количество пациентов:		
Мужчин (%)	19 (95)	20 (90,9)
Женщин (%)	1 (5)	2 (9,1)
Диагноз до трансплантации сердца, количество пациентов:		
ДКМП (%)	13 (65)	14 (63,6)
ИБС (%)	7 (35)	8 (36,4)

Анализ показал, что до трансплантации сердца средние уровни sCD40L не различались у реципиентов, получающих после трансплантации терапию, включающую циклоспорин А ($1,9 \pm 1,0$ нг/мл) или такролимус ($2,1 \pm 1,1$ нг/мл), $p > 0,05$ (рис. 1).

В то же время оказалось, что уровень sCD40L, определяемый до трансплантации сердца, непосредственно связан с риском развития сердечно-сосудистых осложнений после трансплантации (острое клеточное и антителообусловленное отторжение трансплантата, развитие васкулопатии

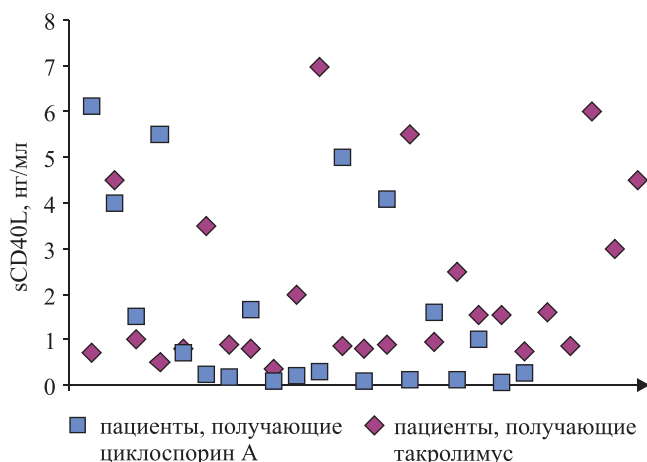


Рис. 1. Исходные уровни sCD40L у реципиентов сердца, получающих циклоспорин А или такролимус в составе иммуносупрессивной терапии

трансплантата в течение первых трех лет после трансплантации). Эта зависимость имеет место и у реципиентов, получающих циклоспорин А, и у реципиентов, получающих такролимус.

У реципиентов, получающих циклоспорин А, сердечно-сосудистые осложнения после трансплантации сердца развились у 11 из 12 (91,7%) с высоким уровнем sCD40L до трансплантации (выше медианы распределения, 1,6 нг/мл) в среднем через $12,5 \pm 5$ месяцев и у 2 из 8 (25%) реципиентов с низким уровнем sCD40L до трансплантации сердца (ниже медианы распределения) через 1 и 35 месяцев после трансплантации соответственно.

Сравнительный анализ с использованием теста Каплана–Майера позволил выявить достоверные различия в заболеваемости среди пациентов с уровнем sCD40L выше и ниже медианы распределения ($p < 0,05$) (рис. 2, а).

У реципиентов, получающих такролимус, сердечно-сосудистые осложнения после трансплантации сердца были выявлены у 9 из 16 (56,25%) с высоким уровнем sCD40L до трансплантации сердца (выше медианы распределения, 1,6 нг/мл), в среднем через $6,2 \pm 3,75$ месяца и только у 2 из 18 (11,1%) с низким уровнем sCD40L до трансплантации сердца (ниже медианы распределения) в среднем через $3,5 \pm 2,1$ месяца после трансплантации сердца.

Сравнительный анализ с использованием теста Каплана–Майера позволил выявить достоверные различия в заболеваемости пациентов с уровнем sCD40L выше и ниже медианы распределения ($p < 0,05$) (рис. 2, б).

С клиническими результатами трансплантации сердца связан исходный, определяемый на этапе дотрансплантационного обследования уровень sCD40L, но не показатели активности воспаления. В отличие от уровня sCD40L уровень С-реактивного белка, определяемый до трансплантации сердца, не имел прогностического значения в отношении развития сердечно-сосудистых осложнений после трансплантации. Последнее справедливо как для реципиентов, получающих циклоспорин А, так и для реципиентов, получающих такролимус.

Относительный риск (ОР) развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов с уровнями С-реактивного белка ≥ 5 мг/л до трансплантации сердца составил 1,1; 95% доверительный интервал – 0,4–3,8 признан статистически недостоверным.

Относительный риск развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов с исходно высоким уровнем sCD40L ($\geq 1,6$ нг/мл) до трансплантации сердца составил 3,13. С достоверностью 95% относительный риск попадал в пределы 1,68–5,82. Относительный риск развития сердечно-сосудис-

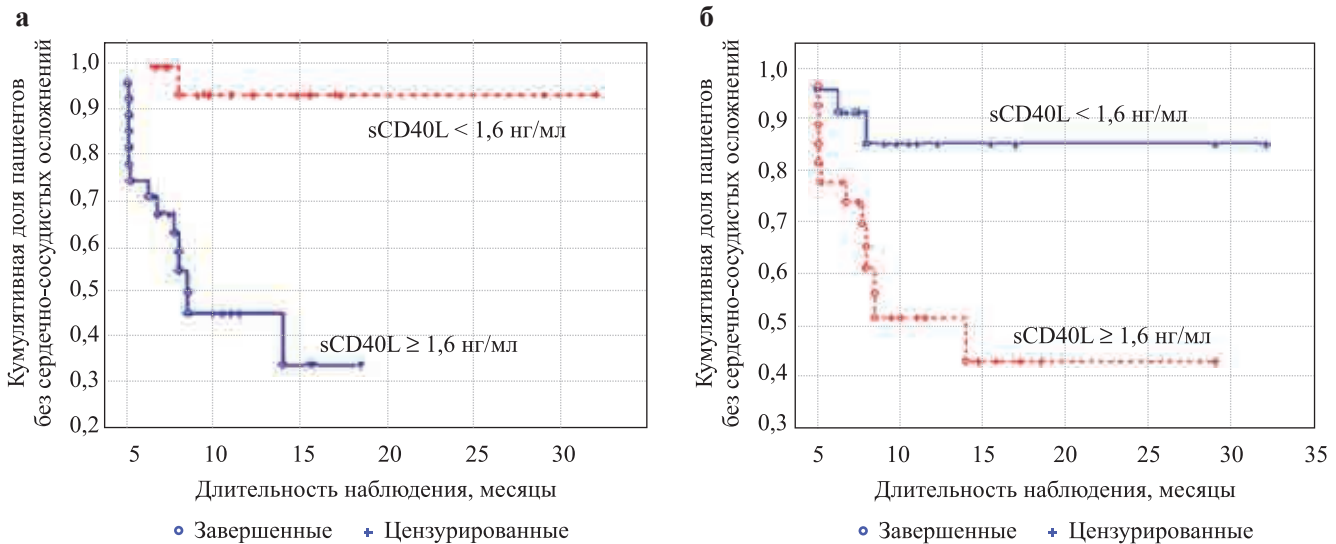


Рис. 2. Кумулятивная доля реципиентов без развившихся сердечно-сосудистых осложнений в группах реципиентов с различным уровнем sCD40L до трансплантации сердца: а – пациенты, получавшие циклоспорин А; б – пациенты, получавшие такролимус

тых осложнений при исходно повышенных уровнях sCD40L оставался статистически достоверным у реципиентов сердца, получающих циклоспорин А, и у реципиентов, получающих такролимус (рис. 3).

У реципиентов, получающих циклоспорин А, относительный риск развития сердечно-сосудистых осложнений с высокими уровнями sCD40L до трансплантации составил 3,2. С достоверностью 95% относительный риск попадал в пределы 1,4–12,0. У получающих такролимус реципиентов с исходно высоким уровнем sCD40L относительный риск развития сердечно-сосудистых осложнений составил 2,69. С достоверностью 95% относительный риск попадал в пределы 1,1–8,5.

Таким образом, риск развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов с высоким уровнем sCD40L до трансплантации сердца более чем в 3 раза выше, чем у реципиентов с низким уровнем

sCD40L. Это касается как пациентов, получающих циклоспорин А (риск выше в 3,2 раза), так и реципиентов, получающих такролимус (риск выше в 2,69 раза).

Приведенные результаты анализа могут указывать на наличие связи сигнальной системы CD40/CD40L с развитием сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов сердца. Кроме того, они являются фактическим аргументом в пользу обоснованности и целесообразности разработки подходов к улучшению клинических результатов трансплантации путем воздействия на систему CD40/CD40L.

Более высокая величина уровня sCD40L в плазме крови, выявляемая после трансплантации, также связана с риском развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов сердца.

Средний уровень sCD40L был достоверно выше у реципиентов с сердечно-сосудистыми осложнениями, чем у реципиентов без сердечно-сосудистых осложнений после трансплантации сердца. Это касалось как реципиентов, получавших циклоспорин А, так и реципиентов, получавших такролимус ($3,7 \pm 1,2$ нг/мл против $2,4 \pm 1,0$ нг/мл).

Среди реципиентов без сердечно-сосудистых осложнений уровень sCD40L был достоверно выше у пациентов, получающих циклоспорин А, в сравнении с реципиентами, получающих такролимус ($2,0 \pm 0,7$ против $1,1 \pm 0,6$ нг/мл, $p < 0,05$). Различия в уровнях sCD40L у реципиентов с сердечно-сосудистыми осложнениями, получающих циклоспорин А или такролимус, носили характер тенденции ($3,1 \pm 1,2$ нг/мл против $2,6 \pm 1,1$ нг/мл, $p > 0,05$).

Таким образом, полученные нами результаты исследований позволяют сделать несколько выводов и заключений.

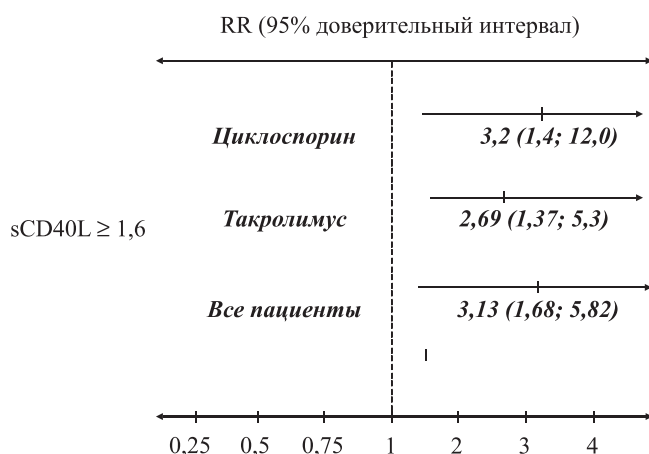


Рис. 3. Относительный риск (RR) развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов сердца с исходно высоким уровнем sCD40L

Несмотря на то что такролимус и циклоспорин А относятся к одному классу – ингибиторов кальциневрина, их клинический эффект несколько различается, и одним из проявлений этих различий является их действие на систему CD40/CD40L, индикатором которого является более высокая концентрация sCD40L у пациентов, принимающих в составе многокомпонентной иммуносупрессивной терапии циклоспорин А.

Анализ уровней sCD40L в плазме крови реципиентов сердца позволяет выявить различия в действии иммуносупрессивных препаратов – ингибиторов кальциневрина (циклоспорина А и такролимуса), на систему CD40/CD40L, что может быть использовано для оценки механизмов действия различных иммуносупрессивных препаратов на молекулярном уровне.

Более высокая концентрация sCD40L, определяемая как до, так и после трансплантации, связана с более высокой частотой развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов сердца. Можно предположить, что этот биомаркер окажется полезным не только для прогнозирования клинических результатов, но и при сравнении действия различных иммуносупрессивных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов / Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2011. 470 с.
2. Шевченко О.П., Природова О.Ф., Шевченко А.О., Орлова О.В. Уровень в крови лиганда CD40 – активность сосудистого воспаления и отдаленный прогноз у больных ишемической болезнью сердца // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2008. № 7 (1). С. 39–45.
3. Шевченко О.П., Орлова О.В., Казаков Э.Н. и др. Клиническое значение растворимого лиганда CD40 у реципиентов сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009. № 1. С. 40–45.
4. Balla J., Magyar M., Bereczki D. et al. Serum levels of released CD40L are increased in early onset occlusive coronary artery disease // Disease Markers. 2006. Vol. 22. P. 133–140.
5. Garlachs C.D., Eskafi S., Raaz D. et al. Patients with acute coronary syndromes express enhanced CD40 ligand/CD154 on platelets // Heart. 2001. Vol. 86. P. 649–655.
6. Heeschen C., Dimmeler S., Hamm C.W. et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes // N. Engl. J. Med. 2003. Vol. 348. P. 1104–1111.
7. Johnson M.R., Meyer K.H., Haft J. et al. Heart transplantation in the United States, 1999–2008 // Am. J. Transplant. 2010. Vol. 10 (4 part 2). P. 1035–1046.
8. De Lemos J.A., Zirlik A., Schonbeck U. et al. Associations between soluble CD40 ligand, atherosclerosis risk factors, and subclinical atherosclerosis. Results from the Dallas Heart Study // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005. Vol. 25. P. 2192–2196.
9. Schonbeck U., Libby P. CD40 signaling and plaque instability // Circ. Res. 2001. Vol. 89. P. 1092–1103.
10. Sipahi I., Starling R.C. Cardiac allograft vasculopathy: an update // Heart. Fail. Clin. 2007. Vol. 3. P. 87–95.
11. Valantine H. Cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation: risk factors and management // J. Heart. Lung. Transplant. 2004. Vol. 23. P. 187–193.
12. Verbrinnen B., Billiau A.D., Vermeiren J. et al. Contribution of regulatory T cells and effector T cell deletion in tolerance induction by costimulation blockade // J. Immunol. 2008. Vol. 181. P. 1034–1042.
13. Varo N., de Lemos J.A., Libby P. et al. Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes // Circulation. 2003. Vol. 108. P. 1049–1052.
14. Zarkhin V., Sarwal M.M. Microarrays: monitoring for transplant tolerance and mechanistic insights // Clin. Lab. Med. 2008. Vol. 28. P. 385–410.