

ПРИМЕНЕНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА ДЛЯ ДЕСЕНСИБИЛИЗАЦИИ ПЕРЕД ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ПОЧКИ И ЛЕЧЕНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ОТПОРЖЕНИЯ

Сушков А.И., Мойсюк Я.Г.

ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

В последнее время стала актуальной проблема трансплантации почки пациентам, сенситизированным к HLA-антигенам. Разработано несколько подходов для элиминации этих антител и осуществления успешной пересадки почки. Применение сывороточного иммуноглобулина (ИГ) для лечения некоторых аутоиммунных и воспалительных заболеваний (например, болезнь Кавасаки, синдром Гийена–Барре) оказалось весьма эффективным. Недавно было описано явление снижения титра анти-HLA-антител после введения ИГ сенситизированным пациентам. Противовоспалительное действие сывороточного ИГ также может быть использовано для лечения гуморального отторжения аллотрансплантата почки. Разработано несколько протоколов применения сывороточного ИГ для десенсибилизации перед трансплантацией и лечения гуморального отторжения: ИГ в высоких дозах, ИГ в низких дозах + плазмаферез (ПФ), ИГ + ПФ + ритуксимаб. Лечение по этим протоколам позволяет выполнить пересадку почки пациентам, которые ранее по иммунологическим причинам считались неоперабельными, а их применение в совокупности с новыми диагностическими технологиями привело к появлению новых подходов в лечении гуморального отторжения.

Ключевые слова: трансплантация почки, сывороточный иммуноглобулин, анти-HLA антитела, десенсибилизация, гуморальное отторжение.

INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN ADMINISTRATION FOR DESENSITIZATION BEFORE RENAL TRANSPLANTATION AND MANAGING ANTIBODY-MEDIATED REJECTION

Sushkov A.I., Moysyuk Y.G.

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

Much attention has been placed recently in transplantation in highly HLA-sensitized patients. In attempts to remove these antibodies and enable successful renal transplantation, several approaches have been developed. Intravenous immunoglobulin (IVIG) was found to be effective in the treatment of autoimmune and inflammatory disorders (e. g. Kawasaki disease, Guillain-Barre syndrome). Recently, a beneficial effect of IVIG on the reduction of anti-HLA antibodies was described. The anti-inflammatory effect of IVIG provides hopeful opportunities in antibody-mediated rejection (AMR) management. There are several protocols of IVIG administration for pre-transplant desensitization and AMR treatment: high-dose IVIG, low-dose IVIG + plasmapheresis, IVIG + plasmapheresis + rituximab. These advancements have enabled transplantation in patients previously considered untransplantable and in concert with new diagnostic techniques has resulted in new approaches to management of AMR.

Key words: kidney transplantation, intravenous immunoglobulin, anti-HLA antibodies, desensitization, antibody-mediated rejection.

Статья поступила в редакцию 29.03.11 г.

Контакты: Мойсюк Ян Геннадиевич, д. м. н., профессор, заведующий отделом клинической трансплантологии.

Тел. 8-963-644-96-31; *e-mail:* moysyuktrans@list.ru

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время трансплантация почки является наиболее эффективным и единственным радикальным способом лечения больных с хронической почечной недостаточностью в терминальной стадии [24, 32]. Эффективность метода доказана результатами сотен тысяч успешно выполненных трансплантаций. Однако дефицит донорских органов и постоянно растущее количество пациентов в «листе ожидания» приводят к увеличению сроков ожидания операции, особенно в группе сенсibilизированных пациентов, имеющих в сыворотке крови антитела к комплексу гистосовместимости HLA. Появление анти-HLA-антител может являться результатом предыдущих трансплантаций, гемотрансфузий, беременностей [42].

Проблема трансплантации почки сенсibilизированным пациентам в последние годы становится все более и более актуальной ввиду того, что доля таких пациентов в «листах ожидания» постоянно растет. Например, по данным OPTN/SRTR Annual Report [1], количество пациентов, имеющих уровень предсуществующих антител 80% и более за 10 лет (1999–2008) увеличилось на 81% (табл. 1). И на начало 2009 г. в «листе ожидания» доля пациентов с $PRA \geq 80\%$ составила 17,2%, а доля пациентов с $PRA \geq 10\%$ – 39,5%.

По данным того же источника, за 10 лет общее количество трансплантаций почки в США выросло на 29%, а количество трансплантаций сенсibilизированным пациентам с $PRA \geq 80\%$ – на 89% (табл. 2).

Однако, несмотря на значительный рост абсолютного количества операций сенсibilизированным пациентам, вероятность получить донорский орган в течение 1 года (отношение количества операций, выполненных за год, к количеству пациентов в «листе ожидания») в этой группе выросла всего на 1% и по-прежнему в 2 раза меньше, чем в группе несенсibilизированных пациентов (табл. 3).

Заметим, что даже высокий уровень анти-HLA-антител не является абсолютным противопоказанием к пересадке почки, хотя результаты таких трансплантаций хуже, чем у несенсibilизированных пациентов: выживаемость трансплантатов ниже, частота отторжений выше. Кроме того, само по себе долгое ожидание трансплантации ухудшает ее результат [32].

Схожая ситуация наблюдается не только в Соединенных Штатах, это общемировая тенденция. Каждый центр, где проводят трансплантацию почки, сталкивается с пациентами, имеющими высокий уровень предсуществующих антител. Первостепенной задачей является идентификация таких больных еще на этапе постановки в «лист ожидания», определение уровня анти-HLA-антител, и главное, их донор-специфичности. Существуют со-

временные высокочувствительные методы, которые позволяют проводить такую диагностику [2, 3].

Выделяют два принципиальных подхода к организации трансплантации почки сенсibilизированным пациентам. Первый подход – «биологический», суть его состоит в том, чтобы наилучшим образом подобрать донорский орган реципиенту. Непременным условием такого подбора является отрицательная перекрестная проба и совместимость групп крови по системе АВ0. В идеале необходимо стремиться к максимальному совпадению HLA антигенов донора и реципиента и отсутствию у донора таких HLA-антигенов, к которым у реципиента обнаружены антитела.

Второй подход, «фармакологический», не предъявляет жестких требований к подбору наиболее совместимого донорского органа, а включает в себя два направления: 1) проведение трансплантации, несмотря на положительный кросс-матч за счет модификации иммуносупрессии; 2) десенсibilизация. Как следует из названия, данный подход предполагает применение современных иммуносупрессивных препаратов: поликлональных антилимфоцитарных антител, моноклональных анти-CD20

Таблица 1

Количество пациентов в «активном листе ожидания» на трансплантацию почки в США

Категории пациентов	Год		Тренд
	1999	2008	
Всего	36 951	50 624	+37%
С уровнем PRA 0–9%	22 184	28 898	+30%
С уровнем PRA $\geq 80\%$	4793	8688	+81%

Таблица 2

Количество трансплантаций почки, выполненных в США в 1999 и 2008 гг.

Категории пациентов	Год		Тренд
	1999	2008	
Всего	12 761	16 517	+29%
С уровнем PRA 0–9%	9058	10 852	+20%
С уровнем PRA $\geq 80\%$	899	1703	+89%

Таблица 3

Вероятность получения пациентом, находящимся в «листе ожидания» на трансплантацию почки, донорского органа в течение одного года в США

Категории пациентов	Год		Тренд
	1999	2008	
Всего	35%	33%	–2%
С уровнем PRA 0–9%	41%	38%	–3%
С уровнем PRA $\geq 80\%$	19%	20%	+1%

(ритуксимаб), анти-CD52 (алемтузумаб), анти-CD25 (базилексимаб) антител, сывороточного иммуноглобулина в различных комбинациях, дозах и последовательностях введения. Кроме того, применение фармакологических агентов может быть дополнено и эфферентными методами, направленными на элиминацию антител: плазмаферез, иммуноабсорбция [14].

Для лечения гуморального отторжения с незначительными модификациями используются те же лекарственные агенты и схемы их введения, что и для индукции иммуносупрессии у высокосенсибилизированных больных. Одним из препаратов с наиболее выраженным иммуномодулирующим эффектом является сывороточный иммуноглобулин [25].

Механизм действия сывороточного иммуноглобулина

Препарат сывороточного иммуноглобулина человека получают из плазмы тысяч доноров, добываясь как можно более широкого спектра антител. Считается, что модуляция и модификация процесса активации системы комплемента и клеточного звена иммунитета являются основой противовоспалительного и иммуномодулирующего действия сывороточного иммуноглобулина [4]. Выделяют также и более конкретные механизмы действия иммуноглобулина, которые могут модулировать сенсибилизированное состояние пациента:

- снижение титра ауто- и аллоантител за счет индукции анти-идиотипических взаимодействий [8, 19, 20, 38];
- угнетение активации генов цитокинов и прямая антицитокиновая активность [5, 12, 25, 26];
- взаимодействие через Fc-рецепторы с антиген-презентирующими клетками, приводящее к угнетению Т-клеточной активации [6, 10, 25, 26, 35, 44];
- индукция апоптоза В- и Т-лимфоцитов за счет активации Fas-рецептора (CD95) [12, 26, 36];
- активность против CD 4 [44];
- блокада связывания между Т-лимфоцитами и суперантигенами [10, 12, 26, 41];
- снижение активности системы комплемента [25, 30, 31, 38];
- контроль аутореактивности и индукция толерантности к «своим» антигенам [6, 10, 12, 26, 38];
- угнетение дифференцировки и созревания дендритных клеток [6, 10, 12].

Toyoda et al., используя смешанную культуру лимфоцитов, показали, что сывороточный иммуноглобулин может значительно угнетать активацию Т-лимфоцитов и снижать экспрессию молекул CD40, CD19, CD86, МНС класса II на антиген-презентирующих клетках [44]. Эта же

группа исследователей показала, что иммуноглобулин *in vitro* индуцирует апоптоз В-клеток за счет Fc-рецептор-опосредованного механизма. Ранее, в 2001 г., Samuelsson et al. описали другой иммунорегуляторный механизм иммуноглобулина. Оказалось, что сывороточный иммуноглобулин повышает экспрессию ингибирующего рецептора FcγRIIB на В-лимфоцитах, таким образом, угнетая их активность [39].

В 1995 г. Magee et al. показали, что введение иммуноглобулина увеличивает выживаемость ксено-трансплантатов при пересадке органов от свиньи приматам с 30–60 мин до 10 дней. Этот эффект связан с тем, что иммуноглобулин угнетает процессы комплемент-опосредованного повреждения эндотелиальных клеток. Мишенью действия являются фракции комплемента C3b и C4b. Этот механизм может быть использован при лечении как острого, так и хронического гуморального отторжения почечного аллотрансплантата у людей [31]. Помимо этого иммуноглобулин тормозит образование C5b-C9 мембрано-атакующего комплекса и может предупреждать развитие острого гуморального отторжения [30].

Gill et al., используя модель ишемического реперфузионного повреждения на животных, показали, что иммуноглобулин ингибирует активацию лейкоцитов как *in vitro*, так и *in vivo*, блокируя их рецепторы селективного и интегринового семейств [15].

Клиническое применение сывороточного иммуноглобулина при трансплантации почки

Существуют три клинические задачи при трансплантации почки, когда может потребоваться внутривенное введение сывороточного иммуноглобулина:

- 1) десенсибилизация пациента перед трансплантацией почки;
- 2) лечение гуморального отторжения аллотрансплантата почки;
- 3) профилактика и лечение инфекций при терапии цитостатиками и иммунодепрессантами.

Режим дозирования и показания к началу применения сывороточного иммуноглобулина для терапии инфекций у пациентов, перенесших трансплантацию почки и получающих иммуносупрессивную терапию, такие же, как и для пациентов без пересаженного органа (от 0,4 до 1,0 г/кг сывороточного иммуноглобулина внутривенно ежедневно в течение 1–4 дней). Поэтому подробно остановимся на первых двух клинических ситуациях: десенсибилизация перед трансплантацией и лечение гуморального отторжения.

Применение сывороточного иммуноглобулина для десенсибилизации пациента перед трансплантацией почки

В настоящее время существуют 2 протокола десенсибилизации, в основе которых лежит применение сывороточного иммуноглобулина, и они успешно применяются в клинической практике: введение высоких доз сывороточного иммуноглобулина (Cedars-Sinai Protocol) [22] и комбинированное использование плазмафереза и сывороточного иммуноглобулина в низкой дозе (Johns Hopkins University Hospital Protocol) [34]. Разработка этих протоколов была основана на результатах исследования NIH IGO2 [19].

Исследование NIH IGO2

В 1997–2000 гг. национальные институты здоровья США проводили мультицентровое, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование эффективности применения сывороточного иммуноглобулина для снижения уровня предсуществующих антител у высоко-сенсibilизированных пациентов, ожидающих трансплантацию почки (Исследование IGO2) [19]. Также оценивалась способность сывороточного иммуноглобулина улучшать результаты трансплантации почки и при этом не повышать риск потери трансплантата в группе сенсibilизированных пациентов.

Результаты исследования показали, что сывороточный иммуноглобулин достоверно лучше, чем плацебо, снижает уровень анти-HLA-антител ($p = 0,004$) и улучшает результаты трансплантаций. Трехлетний срок наблюдения показал, что оценочное время ожидания трансплантата в группе пациентов, получавших иммуноглобулин, составило 4,8 года, а в группе получавших плацебо – 10,3 года ($p = 0,02$). При медиане срока наблюдения 3 года после трансплантации жизнеспособные трансплантаты функционировали нормально: сывороточный креатинин $1,68 \pm 0,28$ мг/дл ($148,5 \pm 24,6$ мкмоль/л) в группе, получавшей иммуноглобулин; $1,28 \pm 0,13$ мг/дл ($113,2 \pm 11,5$ мкмоль/л) в группе, получавшей плацебо, $p = 0,29$.

Данное исследование показало, что введение сывороточного иммуноглобулина по сравнению с плацебо достоверно лучше снижает уровень предсуществующих анти-HLA-антител у высоко-сенсibilизированных пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, ожидающих трансплантацию почки. Несмотря на то, что эпизоды острого клеточного отторжения чаще встречались в группе пациентов, получавших сывороточный иммуноглобулин, трехлетняя выживаемость трансплантатов в этой группе была выше, а достоверных различий уровней сывороточного креатинина не было.

Таким образом, внутривенное введение сывороточного иммуноглобулина может быть успешно использовано для десенсибилизации пациентов с высоким уровнем предсуществующих анти-HLA-антител, ожидающих трансплантацию почки.

Протокол десенсибилизации Cedars-Sinai (сывороточный иммуноглобулин в высоких дозах)

Протокол десенсибилизации пациентов, ожидающих трансплантацию почки, разработанный медицинским центром Cedars-Sinai, предполагает введение сывороточного иммуноглобулина человека в дозе 2 г/кг массы тела (но не более 140 г) один раз в месяц в течение 4 мес. Доза 2 г/кг массы тела была выбрана на основе данных о высокой эффективности применения иммуноглобулина в такой дозе для лечения тяжелых воспалительных заболеваний (например, болезнь Кавасаки) [25].

Согласно протоколу Cedars-Sinai, перед проведением десенсибилизации должна быть определена специфичность анти-HLA-антител. Кроме того, до начала лечения проводят тест *in vitro*, который предсказывает эффективность терапии (IVIG PRA test). При проведении этого исследования к сыворотке пациента в соотношении 1:1 добавляют иммуноглобулин и проводят по стандартной методике определение уровня предсуществующих антител. Отдельно для Т- и В-лимфоцитов сравнивают степень снижения цитотоксичности смеси «сыворотка пациента – иммуноглобулин» по сравнению с сывороткой пациента без добавления иммуноглобулина [45]. Если цитотоксичность сыворотки пациента в присутствии иммуноглобулина снижается, пациент включается в программу десенсибилизации.

В случае если планируется трансплантация от живого донора, но перекрестная проба между сывороткой реципиента и лимфоцитами донора (микрелимфоцитотоксический тест) [43] положительная, проводят аналог IVIG PRA теста – IVIG XM тест (кросс-матч с добавлением сывороточного иммуноглобулина – ИГ-кросс-матч), как было описано выше, с той лишь разницей, что используется не панель лимфоцитов, а только клетки от предполагаемого живого донора. Если при добавлении к сыворотке иммуноглобулина ее цитотоксичность против лимфоцитов донора снижается или исчезает (кросс-матч становится отрицательным), то пациент начинает получать лечение иммуноглобулином в дозе 2 г/кг (но не более 140 г) один раз в месяц, до тех пор пока кросс-матч между сывороткой реципиента и лимфоцитами донора не станет отрицательным. Обычно требуется не более 4 введений.

Если высокосенсибилизированный кандидат на трансплантацию почки от трупного донора на-

ходится в «листе ожидания» более 5 лет, уровень предсуществующих антител более 50% и он довольно часто имеет приемлемую совместимость по HLA с донорами почек, но из-за положительного кросс-матча пересадка не может быть выполнена, то такому пациенту проводят IVIG PRA тест. Снижение цитотоксичности при проведении IVIG PRA теста является критерием включения в программу десенсибилизации.

В период с июля 2002 г. по октябрь 2005 г. в клинике Cedars-Sinai 89 высокосенсибилизированным пациентам, имеющим положительный кросс-матч с потенциальным донором, был проведен *in vitro* IVIG PRA тест. В 79 случаях было отмечено снижение цитотоксичности сыворотки, проведен курс десенсибилизации сывороточным иммуноглобулином по протоколу и выполнена трансплантация почки (в 46 случаях почки были изъяты у живого родственного донора, в 33 – у трупного). Из 10 пациентов, не получивших пересадку в этот период, 6 успешно прошли курс десенсибилизации и ожидают трупный орган; два пациента также были успешно подготовлены к трансплантации от живого донора, но пересадки не состоялись из-за возникших медицинских противопоказаний; в двух случаях, несмотря на проведенное лечение сывороточным иммуноглобулином, не удалось добиться десенсибилизации. Среднее значение уровня предсуществующих антител в группе пациентов, получивших орган от трупного донора, составило 83%, антитела этих пациентов были специфичны к HLA-антигенам их доноров, но благодаря терапии иммуноглобулином удалось добиться их элиминации и выполнить трансплантацию. Частота эпизодов острых отторжений трансплантатов составила 28%. Трехлетняя выжи-

ваемость трансплантатов и пациентов составила соответственно 87,1 и 97,5%. Пять трансплантатов были утрачены в результате рефрактерных к терапии отторжений. Средний уровень сывороточного креатинина к 3-му году после трансплантации составил 1,4 мг/дл [21].

Протокол десенсибилизации Johns Hopkins University Hospital (плазмаферез + специфичный к цитомегаловирусу иммуноглобулин в низких дозах)

К 1998 г. в клинике Johns Hopkins University Hospital разработали и внедрили в клиническую практику интенсивный протокол десенсибилизации, целью которого является преодоление барьера в виде положительного кросс-матча при трансплантации почки [33]. Десенсибилизирующая терапия включает в себя комбинацию плазмафереза, внутривенное введение иммуноглобулина, специфичного к цитомегаловирусу (ЦМВ-ИГ), прием ингибиторов кальциневрина и микофенолата мофетила (табл. 4).

Целью десенсибилизирующей терапии как до, так и после трансплантации является элиминация донор-специфических анти-HLA-антител.

Данный протокол подразумевает некоторую модификацию в зависимости от степени сенсибилизации [33]. Высокосенсибилизированные пациенты имеют больший риск развития криза гуморального отторжения и утраты трансплантата. Пациенты с низким риском (например, первая трансплантация, а сенсибилизирующим событием явилась беременность) до трансплантации получают терапию ПФ/ЦМВ-иммуноглобулином и после трансплантации получают четырехкомпонентную иммуносупрес-

Таблица 4

Протокол десенсибилизации и иммуносупрессивной терапии Johns Hopkins University Hospital

До трансплантации
– Плазмаферез через день с замещением одного объема плазмы крови 5% альбумином. – ЦМВ-ИГ в дозе 100 мг/кг массы тела после каждого ПФ. – Начало перорального приема такролимуса и микофенолата мофетила одновременно с началом ПФ и введением ЦМВ-ИГ. – Для пациентов, имеющих положительный кросс-матч, десенсибилизация продолжается до тех пор, пока кросс-матч (дополненный античеловеческим глобулином комплементзависимый цитотоксический тест) не станет отрицательным
День трансплантации
– Индукция иммуносупрессии анти-CD25 моноклональными антителами (базиликсимаб 2 мг/кг). – Глюкокортикостероиды (метилпреднизолон 500 мг). – Спленэктомия и/или введение анти-CD20 моноклональных антител (ритуксимаб – 375 мг/м²) у пациентов очень высокого риска
После трансплантации
– 3–5 сеансов ПФ через день + ЦМВ-ИГ (100 мг/кг) в дни пропуска ПФ. – Трехкомпонентная поддерживающая иммуносупрессия (такролимус, микофенолата мофетил, метилпреднизолон). – 4 введения моноклональных анти-CD25-антитела (базиликсимаб 1 мг/кг) 1 раз в 2 нед.

сию (базиликсимаб, такролимус, микофенолата мофетил, метилпреднизолон). Пациенты высокого риска (третья трансплантация, первые два органа имели множественные несовпадения по системе HLA с фенотипом реципиента) в дополнение к стандартному протоколу получают либо анти-CD20 моноклональные антитела (ритуксимаб 375 мг/м² однократно), либо им выполняется спленэктомия.

Данный протокол десенсибилизации приводит к быстрому снижению титра анти-HLA-антител, что позволяет выполнить трансплантацию почки уже после 4–5 сеансов плазмафереза. Разработчики протокола отмечают, что введение низких доз иммуноглобулина предотвращает нарастание титра антител.

Отдаленные результаты трансплантаций, проведенных пациентам, получившим курс десенсибилизации как по протоколу Cedars-Sinai, так и по протоколу Johns Hopkins University Hospital, схожи и

не сильно отличаются от результатов в группе несенсибилизированных пациентов [21]. Mayo Clinic при подготовке сенсибилизированных пациентов к трансплантации почки используют оба описанных протокола и также сообщают о приемлемых результатах операций [11, 16]. Результаты трансплантаций, проведенных в этих трех центрах, представлены в табл. 5.

Выбор протокола десенсибилизации

Стратегии организации и проведения трансплантации почки от живого родственного и от трупного донора отличаются. В случае если пересадка планируется сенсибилизированному пациенту – отличий еще больше. Главная задача состоит в том, чтобы выбрать оптимальный протокол десенсибилизации в каждой конкретной ситуации. На рис. 1–3 представлены схемы протоколов десенсибилизации

Таблица 5

Отдаленные результаты трансплантаций почки сенсибилизированным пациентам, получившим в предтрансплантационном периоде десенсибилизирующую терапию по протоколам Cedars-Sinai или Johns Hopkins University Hospital

Центр трансплантации	Кол-во пациентов	Протокол десенсибилизации	Выживаемость пациентов (3–5 лет)	Выживаемость трансплантатов (3–5 лет)	Частота острых отторжений	Среднее значение сывороточного креатинина (3–5 лет)
Cedars-Sinai Medical Center	96	Сывороточный иммуноглобулин в высоких дозах	97% (5 лет)	87% (5 лет)	36%	132,6 ± 44,2 мкмоль/л
Johns Hopkins University Hospital	90	Плазмаферез + ЦМВ-иммуноглобулин в низких дозах	95% (3 года)	81% (3 года)	62%	106,1 ± 26,5 мкмоль/л
Mayo Clinic	94	Сывороточный иммуноглобулин в высоких дозах; плазмаферез + иммуноглобулин в низких дозах	97% (5 лет)	80% (5 лет)	35%	141,4 ± 53,0 мкмоль/л

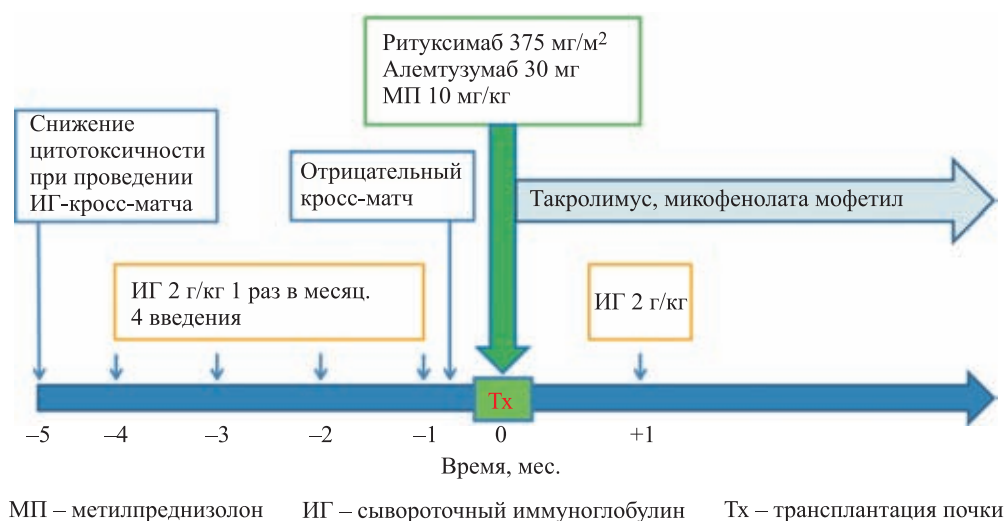


Рис. 1. Протокол десенсибилизации при трансплантации почки от живого донора при положительном кросс-матче (высокие дозы сывороточного иммуноглобулина)

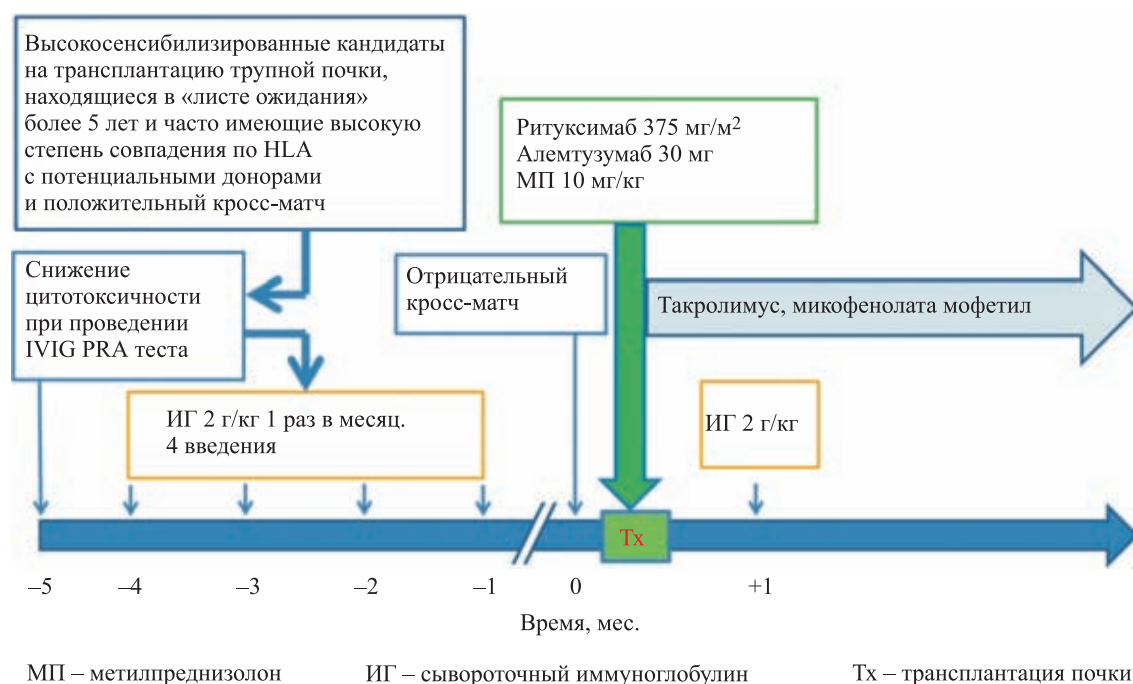


Рис. 2. Протокол десенсибилизации при трансплантации почки от трупного донора при частых положительных кросс-матчах (высокие дозы иммуноглобулина)

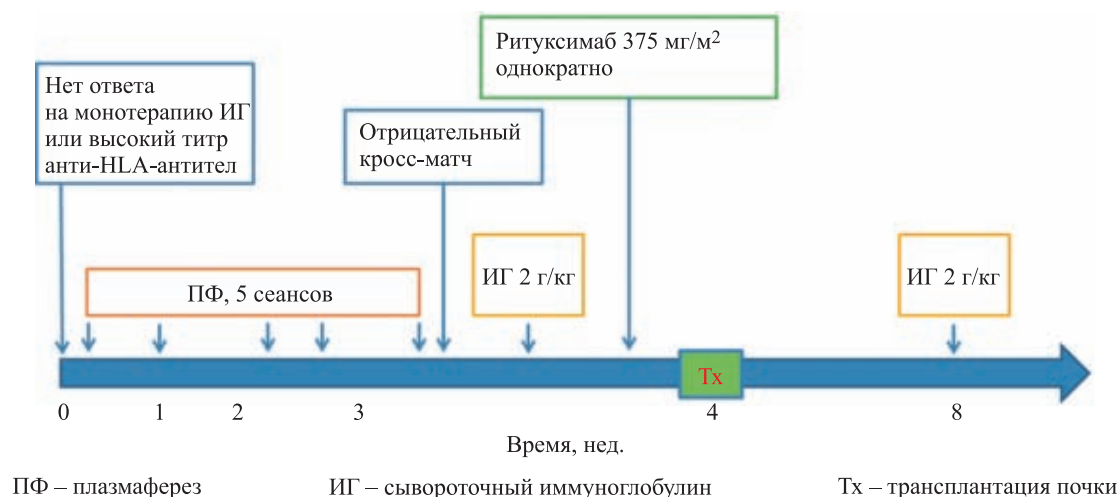


Рис. 3. Протокол десенсибилизации высокосенсибилизированных пациентов, резистентных к монотерапии высокими дозами сывороточного иммуноглобулина (плазмаферез + иммуноглобулин + ритуксимаб)

перед трансплантацией от живого родственного донора (рис. 1), от трупного донора (рис. 2) и интенсивный протокол десенсибилизации пациентов, резистентных к монотерапии сывороточным иммуноглобулином (рис. 3).

Если планируется трансплантация почки от живого родственного донора, однако положительная перекрестная проба не позволяет выполнить пересадку, проводят кросс-матч между сывороткой реципиента, смешанной с иммуноглобулином в соотношении 1:1 (ИГ-кросс-матч). Если отмечается снижение цитотоксичности, то пациент в течение 4 мес. ежемесячно получает сывороточный имму-

ноглобулин в дозе 2 г/кг (но не более 140 г). После того как перекрестная проба становится отрицательной, может быть выполнена трансплантация. Через месяц после операции сывороточный иммуноглобулин вводится еще раз (рис. 1).

Если пациент ожидает трансплантацию почки от трупного донора, то протокол десенсибилизации такой же, как и для пересадки от живого родственного донора. Если при добавлении к сыворотке пациента иммуноглобулина в соотношении 1:1 отмечается снижение цитотоксичности, то больной включается в программу десенсибилизации. После каждого введения у пациента отбирается сыворотка и от-

правляется в лабораторию трансплантационной иммунологии, и именно с этой сывороткой нужно проводить перекрестную пробу при появлении донорского органа. В случае отрицательного кросс-матча выполняется трансплантация почки. Через месяц после пересадки выполняется еще одно введение иммуноглобулина (2 г/кг но не более 140 г) (рис. 2).

Jordan et al. сообщили о модификации протокола Johns Hopkins University Hospital для пациентов, у которых не удается добиться десенсибилизации за счет использования только иммуноглобулина. Модифицированный протокол предполагает проведение 5 сеансов плазмафереза и после этого введение иммуноглобулина в дозе 2 г/кг массы тела и ритуксимаба в дозе 375 мг/м². Перекрестную пробу проводят после последнего плазмафереза до введения иммуноглобулина и ритуксимаба. Если кросс-матч отрицательный, принимается решение о выполнении трансплантации. Авторы сообщают о 4 трансплантациях почки, выполненных после десенсибилизации по модифицированному протоколу (рис. 3). Ни в одном случае не развилось острое отторжение [21].

Применение сывороточного иммуноглобулина для лечения гуморального отторжения аллотрансплантата почки

Острое гуморальное отторжение

В 1999 г. Jordan et al. первыми сообщили о применении сывороточного иммуноглобулина для лечения острого гуморального отторжения у реципиентов аллогенной почки и аллогенного сердца [17]. В 1994 г. первый пациент, которому вводили высокие дозы иммуноглобулина, был успешно вылечен от гуморального отторжения. Попытки использовать стандартные методы лечения отторжения – пульс-терапию стероидными гормонами и введение моноклональных анти-CD3 антител (ОКТ3) – были неэффективны. Решение применить иммуноглобулин для лечения этого больного было основано на том, что перекрестная проба (микролимфоцитотоксический тест) между сывороткой реципиента, собранной во время развития клинических признаков отторжения, и лимфоцитами его донора почки была положительной. Однако при добавлении к сыворотке реципиента иммуноглобулина *in vitro* тест становился отрицательным. Введение иммуноглобулина в высокой дозе (2 г/кг) имело потрясающий эффект. В течение 3–4 дней после введения иммуноглобулина уровень сывороточного креатинина снизился с 3,0 мг/дл (265 мкмоль/л) до 1,0 мг/дл (88 мкмоль/л). Через 15 лет после трансплантации этот пациент имеет сывороточный креатинин 1,7 мг/дл (150 мкмоль/л). После этого слу-

чая все пациенты клиники Cedars-Sinai, имеющие «кросс-матч-положительное» гуморальное отторжение, стали получать лечение высокими дозами иммуноглобулина (2 г/кг) [17, 23].

Другие центры трансплантации также сообщили об успешном применении высоких доз иммуноглобулина для лечения острого гуморального отторжения [9, 28, 29]. До 2004 г. наиболее распространенный протокол лечения гуморального отторжения проводился по схеме: сывороточный иммуноглобулин (2 г/кг, но не более 140 г) однократно + пульс-терапия метилпреднизолоном (500 мг 3 раза) ± плазмаферез (в зависимости от эффективности введения иммуноглобулина и пульс-терапии) [23].

В 2009 г. Lefaucher et al. [27] опубликовали результаты ретроспективного исследования, в котором сравнивалось два протокола лечения острого гуморального отторжения: монотерапия сывороточным иммуноглобулином в высокой дозе (2 г/кг) и комбинация плазмафереза + сывороточный иммуноглобулин в низкой дозе (100 мг/кг) + ритуксимаб (375 мг/кг 2 дозы).

Диагноз острого гуморального отторжения и в группе пациентов получивших монотерапию иммуноглобулином, и в группе, получавшей комбинированное лечение, устанавливался на основании пункционной биопсии трансплантата. Биоптаты подвергали стандартному гистологическому и иммуногистохимическому исследованиям. Результаты оценивали на основании классификации Banff 97 [37]. Фиксация C4d-компонента в препаратах при отсутствии патологических изменений при световой микроскопии не расценивалась как отторжение. Сыворотка всех пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом гуморального отторжения исследовалась на наличие донор-специфических анти-HLA-антител. Для исследования применяли мультиплексную технологию Luminex®.

Пациенты обеих групп получили почечные трансплантаты от трупных доноров. Предоперационный Т-клеточный IgG-кросс-матч был отрицательным у всех пациентов. Положительный Т-клеточный IgM-кросс-матч не являлся противопоказанием к трансплантации. Положительный Т-клеточный IgG или В-клеточный кросс-матч и обнаружение в сыворотке анти-HLA-антител класса II являлись противопоказанием к трансплантации. В качестве индукции все пациенты получали тимоглобулин (1,5 мг/кг в день курсом на 7–10 дней) и поддерживающую иммуносупрессию метилпреднизолоном (5 мг/день к 3-му мес. после трансплантации), микофенолата мофетилом и такролимусом или циклоспорином.

Все пациенты с морфологически подтвержденным диагнозом острого гуморального отторжения и присутствием донор-специфических анти-HLA-антител в сыворотке (Luminex®) получали пульс-

терапию метилпреднизолоном (500 мг × 3 раза), переводились на прием такролимуса, если раньше получали циклоспорин, и начинали получать терапию, направленную на элиминацию анти-HLA-антител (по одному из двух протоколов). Первый протокол: сывороточный иммуноглобулин в дозе 2 г/кг каждые 3 нед., всего 4 введения. Второй протокол: плазмаферез ежедневно с замещением одного объема плазмы 5% альбумином, после каждого сеанса плазмафереза вводился сывороточный иммуноглобулин в низкой дозе (100 мг/кг). Всего проводили 4 процедуры плазмафереза и после последнего сеанса вводили сывороточный иммуноглобулин в высокой дозе 2 г/кг каждые 3 нед., всего 4 введения, и ритуксимаб 375 мг/м² 1 раз в неделю, всего 2 введения.

Результаты комбинированной терапии острого гуморального отторжения были лучше, чем при монотерапии сывороточным иммуноглобулином в высокой дозе. Выживаемость трансплантатов на сроке 36 мес. составила 91,7% (комбинированная терапия) и 50,0% (монотерапия), $p = 0,02$. Комбинированная терапия позволяет добиться долгосрочного снижения титра донор-специфических анти-HLA-антител.

На основании собственного опыта и результатов других групп исследователей клиника Cedars-Sinai предложила свой обновленный протокол лечения острого гуморального отторжения аллотрансплантатов почки [18]. Пациентам с факторами риска развития острого гуморального отторжения (присутствие в сыворотке донор-специфических анти-HLA-антител,

гемотрансфузии и/или беременности в анамнезе, повторная трансплантация), у которых развилась дисфункция трансплантата и при морфологическом исследовании биоптата обнаружена фиксация C4d-компонента комплемента в перитубулярных капиллярах с незначительными изменениями при проведении световой микроскопии (острый канальцевый некроз или пограничные изменения), проводят лечение пульс-терапией метилпреднизолоном (500 мг × 3 раза), вводят сывороточный иммуноглобулин в высокой дозе (2 г/кг, но не более 140 г, 2 введения) и ритуксимаб (375 мг/м² однократно) (рис. 4).

Пациенты с более тяжелыми проявлениями отторжения (быстрое прекращение функции трансплантата, диффузная инфильтрация перитубулярных капилляров C4d-компонентом комплемента, высокий титр донор-специфических анти-HLA-антител в сыворотке, тромбоз капилляров и/или клубочков при световой микроскопии) должны получать более интенсивный курс лечения, включающий в себя плазмаферез, введение сывороточного иммуноглобулина и ритуксимаба (рис. 5).

Авторы отмечают, что наиболее важным в лечении острого гуморального отторжения является фактор времени. Промедление с началом терапии может привести к необратимой утрате функции трансплантата. Наиболее важным диагностическим мероприятием является определение титра донор-специфических антител до трансплантации. Если титр высокий, то пациент должен пройти курс десенсибилизации, и лишь после того, как донор-специфические анти-HLA-антитела будут

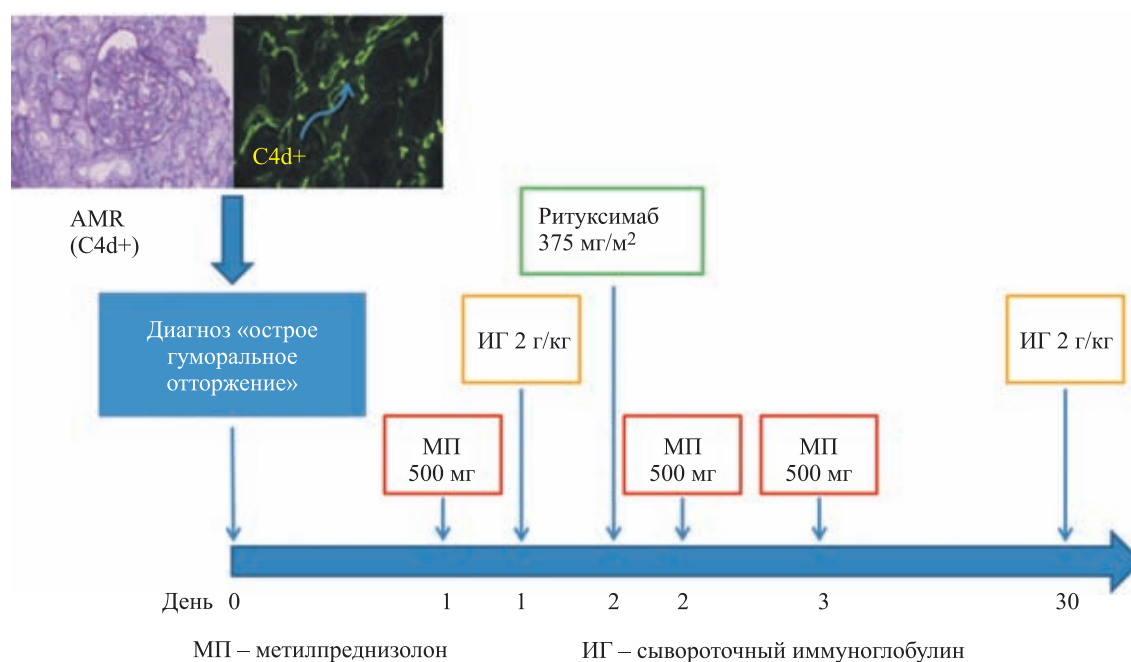


Рис. 4. Протокол лечения острого гуморального отторжения (C4d+ по результатам иммуногистохимического анализа и острый канальцевый некроз или пограничные изменения по результатам световой микроскопии), клиника Cedars-Sinai

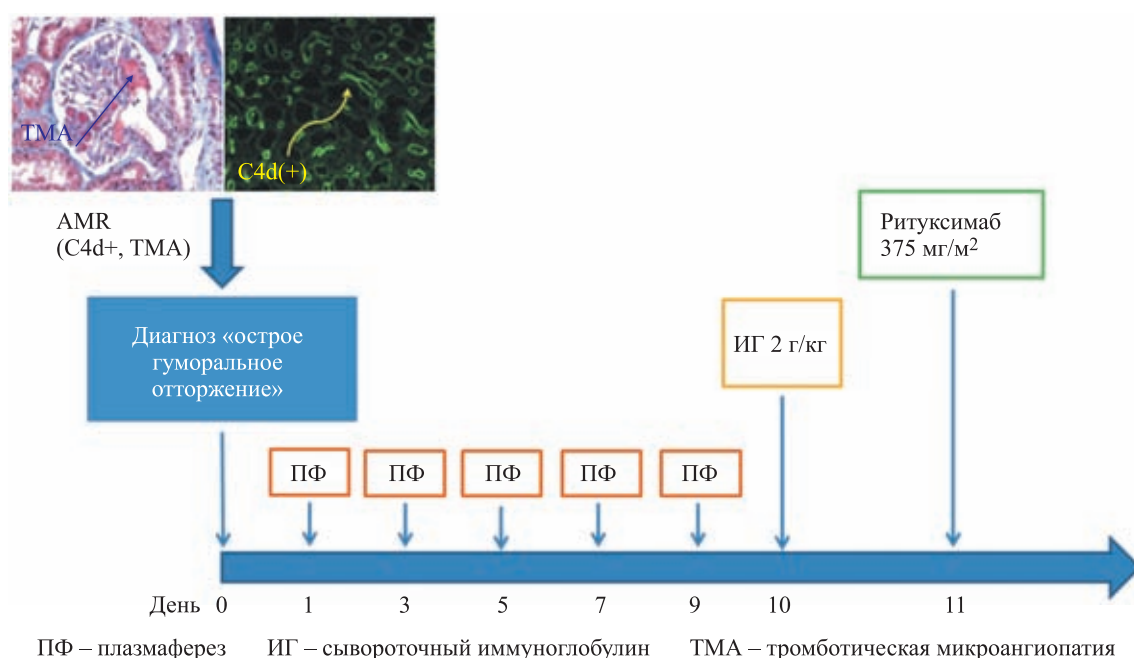


Рис. 5. Протокол лечения острого гуморального отторжения (C4d+ по результатам иммуногистохимического анализа и тромботическая микроангиопатия по результатам световой микроскопии), клиника Cedars-Sinai

элиминированы или их титр станет клинически не значимым, может быть выполнена трансплантация почки.

Хроническое гуморальное отторжение

Диагноз «хроническое гуморальное отторжение» устанавливается по результатам пункционной биопсии трансплантированной почки на основании обновленных критериев Banff 2007 [40]. Хроническое гуморальное отторжение имеет неблагоприятный прогноз, и в настоящее время отсутствует четкий протокол его лечения.

Billing et al. провели на 6 пациентах (в возрасте 10–26 лет) пилотное исследование протокола лечения хронического гуморального отторжения, который основан на применении сывороточного иммуноглобулина и ритуксимаба [7]. Пациентам ежедневно вводили сывороточный иммуноглобулин в дозе 1 г/кг в течение 4 нед. Сразу после окончания курса лечения иммуноглобулином однократно вводили ритуксимаб в дозе 375 мг/м². Через год после окончания лечения функция трансплантатов стабилизировалась у 4 пациентов. Один трансплантат был утрачен через 18 мес. после лечения, еще у одного пациента улучшения функции не произошло, но трансплантат утрачен не был.

В 2009 г. Fehr et al. сообщили результаты лечения комбинацией сывороточного иммуноглобулина и ритуксимаба 4 пациентов с хроническим гуморальным отторжением [13]. Во всех четырех случаях после проведенного лечения было отмечено улучшение клинической картины. Однако у одного паци-

ента развилось острое клеточное отторжение спустя год после окончания терапии. Авторы делают вывод, что комбинированная терапия хронического гуморального отторжения сывороточным иммуноглобулином и ритуксимабом эффективна, однако требуются дальнейшие исследования с вовлечением большего количества пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сывороточный иммуноглобулин является мощным иммуномодулирующим препаратом, который воздействует как на гуморальное, так и на клеточное звенья иммунной системы. Применение иммуноглобулина для десенсибилизации кандидатов на пересадку почки, имеющих высокий уровень предсуществующих антител, позволяет выполнить им успешную трансплантацию и сократить срок ожидания донорского органа. Существует множество протоколов десенсибилизации, однако в нашем обзоре мы остановились на основных, наиболее эффективных режимах лечения, которые вошли в клиническую практику ведущих центров трансплантации.

Проблема терапии гуморального отторжения является, пожалуй, одной из самых серьезных во всем процессе трансплантации почки. Патогенез гуморального отторжения отличается от патогенеза отторжения клеточного типа, соответственно, тактика диагностики и лечения должна быть иной. Главным, на наш взгляд, при подозрении на развитие у больного гуморального отторжения является бы-

строе проведение морфологического исследования (световая микроскопия, иммуногистохимическое исследование) биоптата пересаженной почки и при подтверждении диагноза – незамедлительное начало терапии. Даже незначительное промедление может серьезно ухудшить прогноз.

Мы считаем, что в ближайшее время частота развития кризов гуморального отторжения возрастет, это связано в первую очередь с тем, что количество сенсibilизированных пациентов в «листах ожидания» многих центров, где выполняют трансплантацию почки, постоянно растет, увеличивается и количество трансплантаций таким пациентам. В рутинную практику вошли трансплантации почки от ABO-несовместимых доноров. Все эти пациенты входят в группу высокого риска развития отторжения именно по гуморальному типу.

Принципиальное значение имеет проведение мониторинга уровня анти-HLA-антител, как до трансплантации, так и в послеоперационном периоде, определение донор-специфичности этих антител. Динамика титра донор-специфических антител как при проведении десенсибилизации, так и при лечении гуморального отторжения является одним из основных показателей эффективности терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. OPTN/SRTR Annual Report. 2009; Available from: <http://optn.transplant.hrsa.gov/ar2009/default.htm>.
2. Сушков А.И., Абрамов В.Ю., Мойсюк Я.Г. Роль предсуществующих и *de novo* анти-донорских антител в трансплантации почки // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2011. Т. 13, № 1. С. 84–91.
3. Хубутия М.Ш. и др. HLA-антитела и их значение при трансплантации почки // Трансплантология. 2010. № 3–4. С. 32–36.
4. Arumugam T.V. et al. Intravenous immunoglobulin (IVIG) protects the brain against experimental stroke by preventing complement-mediated neuronal cell death // Proc. Natl. Acad. Sci U S A. 2007. Vol. 104 (35). P. 14104–14109.
5. Aukrust P. et al. Release of cytokines, soluble cytokine receptors, and interleukin-1 receptor antagonist after intravenous immunoglobulin administration *in vivo* // Blood. 1994. Vol. 84 (7). P. 2136–2143.
6. Bayry J. et al. Inhibition of maturation and function of dendritic cells by intravenous immunoglobulin // Blood. 2003. Vol. 101 (2). P. 758–765.
7. Billing H. et al. Successful treatment of chronic antibody-mediated rejection with IVIG and rituximab in pediatric renal transplant recipients // Transplantation. 2008. Vol. 86 (9). P. 1214–1221.
8. Buchwald B. et al. Intravenous immunoglobulins neutralize blocking antibodies in Guillain-Barre syndrome // Ann Neurol. 2002. Vol. 51 (6). P. 673–680.
9. Casadei D.H. et al. A randomized and prospective study comparing treatment with high-dose intravenous immunoglobulin with monoclonal antibodies for rescue of kidney grafts with steroid-resistant rejection // Transplantation. 2001. Vol. 71 (1). P. 53–58.
10. Dalakas M.C. The use of intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune neuromuscular diseases: evidence-based indications and safety profile // Pharmacol Ther. 2004. Vol. 102 (3). P. 177–193.
11. Dean P.G., Gloor J.M., Stegall M.D. Conquering absolute contraindications to transplantation: positive-crossmatch and ABO-incompatible kidney transplantation // Surgery. 2005. Vol. 137 (3). P. 269–273.
12. Ephrem A. et al. Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immunoglobulin // Clin. Exp. Med. 2005. Vol. 5 (4). P. 135–140.
13. Fehr T. et al. Rituximab and intravenous immunoglobulin treatment of chronic antibody-mediated kidney allograft rejection // Transplantation. 2009. Vol. 87 (12). P. 1837–1841.
14. Gebel H.M., Bray R.A. Approaches for transplanting the sensitized patient: biology versus pharmacology // Nephrol. Dial. Transplant. 2008. Vol. 23 (8). P. 2454–2457.
15. Gill V. et al. Targeting adhesion molecules as a potential mechanism of action for intravenous immunoglobulin // Circulation. 2005. Vol. 112 (13). P. 2031–2039.
16. Gloor J.M. et al. Persistence of low levels of alloantibody after desensitization in crossmatch-positive living-donor kidney transplantation // Transplantation. 2004. Vol. 78 (2). P. 221–227.
17. Jordan S.C. et al. Posttransplant therapy using high-dose human immunoglobulin (intravenous gammaglobulin) to control acute humoral rejection in renal and cardiac allograft recipients and potential mechanism of action // Transplantation. 1998. Vol. 66 (6). P. 800–805.
18. Jordan S.C. et al. Advances in diagnosing and managing antibody-mediated rejection // Pediatr. Nephrol. 2010. Vol. 25 (10). P. 2035–2045.
19. Jordan S.C. et al. Evaluation of intravenous immunoglobulin as an agent to lower allosensitization and improve transplantation in highly sensitized adult patients with end-stage renal disease: report of the NIH IG02 trial // J. Am. Soc. Nephrol. 2004. Vol. 15 (12). P. 3256–3262.
20. Jordan S.C. et al. Intravenous immune globulin treatment inhibits crossmatch positivity and allows for successful transplantation of incompatible organs in living-donor and cadaver recipients // Transplantation. 2003. Vol. 76 (4). P. 631–636.
21. Jordan S.C. et al. Desensitization therapy with intravenous gammaglobulin (IVIG): applications in solid organ transplantation // Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc. 2006. Vol. 117. P. 199–211.
22. Jordan S.C. et al. Use of high-dose human intravenous immunoglobulin therapy in sensitized patients awaiting transplantation: the Cedars-Sinai experience // Clin. Transpl. 2003. P. 193–198.
23. Jordan S.C. et al. Current approaches to treatment of antibody-mediated rejection // Pediatr. Transplant. 2005. Vol. 9 (3). P. 408–415.
24. Kaplan B., Schold J., Meier-Kriesche H.U. Overview of large database analysis in renal transplantation // Am. J. Transplant. 2003. Vol. 3 (9). P. 1052–1056.

25. *Kazatchkine M.D., Kaveri S.V.* Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin // *N. Engl. J. Med.* 2001. Vol. 345 (10). P. 747–755.
26. *Knezevic-Maramica I., Kruskall M.S.* Intravenous immune globulins: an update for clinicians // *Transfusion.* 2003. Vol. 43 (10). P. 1460–1480.
27. *Lefaucheur C. et al.* Comparison of combination Plasmapheresis/IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection // *Am. J. Transplant.* 2009. Vol. 9 (5). P. 1099–1107.
28. *Lefaucheur C. et al.* Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation // *Am. J. Transplant.* 2008. Vol. 8 (2). P. 324–331.
29. *Luke P.P. et al.* Reversal of steroid- and anti-lymphocyte antibody-resistant rejection using intravenous immunoglobulin (IVIg) in renal transplant recipients // *Transplantation.* 2001. Vol. 72 (3). P. 419–422.
30. *Lutz H.U. et al.* Intravenously applied IgG stimulates complement attenuation in a complement-dependent autoimmune disease at the amplifying C3 convertase level // *Blood.* 2004. Vol. 103 (2). P. 465–472.
31. *Magee J.C. et al.* Immunoglobulin prevents complement-mediated hyperacute rejection in swine-to-primate xenotransplantation // *J. Clin. Invest.* 1995. Vol. 96 (5). P. 2404–2412.
32. *Meier-Kriesche H.U. et al.* Effect of waiting time on renal transplant outcome // *Kidney Int.* 2000. Vol. 58 (3). P. 1311–1317.
33. *Montgomery R.A., Zachary A.A.* Transplanting patients with a positive donor-specific crossmatch: a single center's perspective // *Pediatr. Transplant.* 2004. Vol. 8 (6). P. 535–542.
34. *Montgomery R.A. et al.* Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients // *Transplantation.* 2000. Vol. 70 (6). P. 887–895.
35. *Ott V.L., Fong D.C., Cambier J.C.* Fc gamma RIIB as a potential molecular target for intravenous gamma globulin therapy // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001. Vol. 108 (4 Suppl.). P. S95–98.
36. *Prasad N.K. et al.* Therapeutic preparations of normal polyspecific IgG (IVIg) induce apoptosis in human lymphocytes and monocytes: a novel mechanism of action of IVIg involving the Fas apoptotic pathway // *J. Immunol.* 1998. Vol. 161 (7). P. 3781–3790.
37. *Racusen L.C. et al.* Antibody-mediated rejection criteria – an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection // *Am. J. Transplant.* 2003. Vol. 3 (6). P. 708–714.
38. *Sacher R.A.* Intravenous immunoglobulin consensus statement // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001. Vol. 108 (4 Suppl.). P. S139–S146.
39. *Samuelsson A., Towers T.L., Ravetch J.V.* Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor // *Science.* 2001. Vol. 291 (5503). P. 484–486.
40. *Solez K. et al.* Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions // *Am. J. Transplant.* 2008. Vol. 8 (4). P. 753–760.
41. *Takei S., Arora Y.K., Walker S.M.* Intravenous immunoglobulin contains specific antibodies inhibitory to activation of T cells by staphylococcal toxin superantigens [see comment] // *J. Clin. Invest.* 1993. Vol. 91 (2). P. 602–607.
42. *Terasaki P.I.* Humoral theory of transplantation // *Am. J. Transplant.* 2003. Vol. 3 (6). P. 665–673.
43. *Terasaki P.I., McClelland J.D.* Microdroplet Assay of Human Serum Cytotoxins // *Nature.* 1964. Vol. 204. P. 998–1000.
44. *Toyoda M. et al.* Pooled human gammaglobulin modulates surface molecule expression and induces apoptosis in human B cells // *Am. J. Transplant.* 2003. Vol. 3 (2). P. 156–166.
45. *Tyan D.B. et al.* Intravenous immunoglobulin suppression of HLA alloantibody in highly sensitized transplant candidates and transplantation with a histoincompatible organ // *Transplantation.* 1994. Vol. 57 (4). P. 553–562.