

НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ФОТОХИМИОТЕРАПИИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ

Ватазин А.В., Зул'карнаев А.Б., Кильдюшевский А.В., Федулкина В.А., Крстич М.

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

Снижение риска развития отторжения почечного трансплантата – перспективное направление современной медицинской науки. Одним из перспективных методов снижения активности иммунологического конфликта между реципиентом и донорским органом и достижения частичной иммунологической толерантности является фотохимиотерапия. Этот метод широко применяется за рубежом при трансплантации сердца и легких. Отечественный опыт применения этого метода у реципиентов почечного трансплантата крайне мал. В настоящем обзоре литературы представлено современное представление о механизме действия этого метода.

Ключевые слова: фотохимиотерапия, трансплантация почки.

SOME OF THE MECHANISMS OF EXTRACORPOREAL PHOTOCHEMOTHERAPY IN SOLID ORGAN TRANSPLANTATION

Vatazin A.V., Zul'karnaev A.B., Kil'djushevskij A.V., Fedulkina V.A., Krstic M.

Postgraduate Medical M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Clinical and Research Institute, Moscow, Russian Federation

Reducing the risk of kidney transplant rejection is a perspective trend in modern medical science. One of the promising methods for reducing the activity of immune conflict between the recipient and the donor organ and the achievement of partial immunological tolerance is photochemotherapy. This method is widely used in overseas heart and lung Transplantation. Domestic experience of applying this method in renal transplant recipients is extremely small. In this review of literature a modern representation of the scientists on the mechanism of action of this method is presented.

Key words: photochemotherapy, kidney transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно в России, как и во всем мире, отмечается увеличение числа больных с терминальной стадией хронической болезни почек. При этом наиболее оптимальным методом заместительной почечной терапии и, по сути, единственным радикальным способом лечения является аллотрансплантация трупной почки (АТП).

Своеобразной «чашей Грааля» в трансплантологии является достижение иммунологической толерантности к аллоантигенам трансплантата. На протяжении второй половины XX века были достигнуты значительные успехи, что позволило значительно увеличить выживаемость трансплантатов. Однако, к сожалению, не смотря на это, современные иммуносупрессивные препараты, подавляя иммунный ответ, не способны к индукции толерантности по отношению к трансплантату. Бо-

лее того, иммуносупрессивная терапия вследствие своей недостаточной селективности может способствовать ингибированию естественных регуляторных механизмов развития иммунологической толерантности к донорским антигенам, а также естественных факторов иммуносупрессии. Помимо этого, современные иммуносупрессивные препараты имеют множество осложнений, повышают риск развития инфекционных и онкологических осложнений.

В связи с этим разработка новых методов лечения, способствующих снижению активности иммунологического конфликта путем индукции иммунологической толерантности без повышения медикаментозной иммуносупрессивной нагрузки, является одним из перспективных методов повышения выживаемости трансплантатов и уменьшения количества осложнений.

Одним из таких методов является трансляционная клеточная иммунотерапия (ТКИ). Данный метод представляет собой экстракорпоральную фотохимиотерапию (ЭФХТ) – воздействие активированных ультрафиолетовым светом молекул специфического фотосенсибилизатора на лимфоциты крови.

Метод ЭФХТ был предложен в 1987 г. в качестве терапии Т-клеточной лимфомы кожи. Эффективность ЭФХТ была продемонстрирована на основании принципов доказательной медицины при лечении заболеваний, обусловленных нарушением функции Т-клеточной системы иммунитета, таких как: Т-клеточная злокачественная лимфома кожи, системная склеродермия, вульгарная пузырчатка, псориаз, ревматоидный артрит и др.

Эффективность ЭФХТ была подтверждена также многоцентровыми исследованиями [1]. Применение этого метода у больных Т-клеточной злокачественной лимфомой кожи позволило добиться значительного повышения выживания больных. В 1995 г. Международным консенсусным комитетом рекомендовано применение ЭФХТ в качестве метода первой линии терапии эритродермий больных Т-клеточной лимфомой. В настоящее время этот метод лечения используется примерно в 200 крупнейших медицинских центрах мира.

Фотофорез является также эффективным методом лечения острой и хронической форм реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) при трансплантации аллогенных гемопоэтических клеток костного мозга [2].

Экстракорпоральная фотохимиотерапия при трансплантации солидных органов

ЭФХТ с успехом применяется при трансплантации солидных органов для профилактики и лечения

отторжения трансплантата. Так, Jaksch P. et al. продемонстрировали, что лечение фотофорезом было эффективным у 61% реципиентов легких с синдромом облитерирующего бронхиолита. У больных, получающих ЭФХТ, отмечались лучшие показатели: объем формированного выдоха, выживаемость больных и потребность в ретрансплантации, по сравнению с пациентами, которые такой терапии не получали [3]. Lucid C.E. et al. при помощи ЭФХТ удалось стабилизировать стремительно ухудшающуюся функцию легочного трансплантата у реципиентов с рефрактерным к терапии облитерирующим бронхиолитом [4].

ЭФХТ успешно применяется при трансплантации сердца. Dall'Amico R. et al. применили ЭФХТ при рецидивирующих острых отторжениях. В результате у реципиентов значительно снизились частота и тяжесть эпизодов, что было подтверждено ежемесячными эндомикардиальными биопсиями. Также применение ЭФХТ позволило значительно и безопасно снизить дозировки циклоспорина А, преднизолона и азатиоприна [5].

В результате исследований авторы установили, что ЭФХТ является эффективным методом как для профилактики, так и для лечения острого отторжения трансплантата. Особенно интересны и перспективны выводы авторов, что применение ЭФХТ позволяет безопасно частично редуцировать иммуносупрессивную терапию даже у больных с высоким риском развития иммунологических осложнений.

ЭФХТ рекомендована Американским обществом афереза в качестве одного из основных методов профилактики отторжения трансплантата сердца и легких [6].

Urbani L. et al. применили ЭФХТ для профилактики отторжения при трансплантации печени. Интересным в этом является то, что применение этого

Ватазин Андрей Владимирович – д. м. н., профессор, руководитель отдела трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского». *Зулькарнаев Алексей Батыргараевич* – к. м. н., доцент кафедры трансплантологии, нефрологии и искусственных органов ФУВ того же института. *Кильдюшевский Александр Вадимович* – д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник отделения хирургической гемокоррекции и детоксикации того же института. *Федулкина Вероника Андреевна* – врач-нефролог хирургического отделения трансплантологии того же института. *Крстич Мирослав* – к. м. н., старший научный сотрудник хирургического отделения органного донорства отдела трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции того же института.

Для корреспонденции: Зулькарнаев Алексей Батыргараевич. Адрес: 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2, корпус 6. Тел.: +7-916-705-98-99, (495) 684-57-91. E-mail: 7059899@gmail.com.

Vatazin Andrej Vladimirovich – professor, Head of transplantation, nephrology and surgical blood correction division. *Zul'karnaev Aleksey Batyrgaraevich* – associate professor of transplantation, nephrology and surgical blood correction department at the same Institute. *Kil'djushevskij Aleksandr Vadimovich* – professor, leading research fellow at the Department of Surgical hemocorrection and detoxification at the same Institute. *Fedulkina Veronika Andreevna* – nephrologist of transplant surgery department at the same Institute. *Krstic Mirosljub* – senior research fellow of the surgical department of organ donation of transplantation, nephrology and surgical blood correction department at the same Institute.

For correspondence: Zul'karnaev Aleksey Batyrgaraevich. Address: 129110, Moscow, Schepkina, 61/2, Building 6. Tel.: +7-916-705-98-99, (495) 684-57-91. E-mail: 7059899@gmail.com.

метода позволило безопасно отсрочить у трети реципиентов начало приема ингибиторов кальциневрина с целью минимизации нефротоксичности на ранних этапах послеоперационного периода. Также удалось значительно снизить риск как клеточного, так и гуморально-опосредованного отторжения при АВ0-несовместимых трансплантациях: при исследовании биоптатов ни у одного из реципиентов, получавших ЭФХТ, не было зафиксировано признаков острого или хронического отторжения при среднем сроке наблюдения около двух лет. Также у авторов присутствует опыт применения ЭФХТ у реципиентов печени, инфицированных вирусом гепатита С с целью снизить лекарственную иммуносупрессивную нагрузку и повысить эффективность противовирусного лечения комбинацией рибавирина и интерферона. В результате 69% реципиентов завершили курс лечения, а устойчивый вирусологический ответ был достигнут у 50% [7, 8].

Известны результаты нескольких исследований с участием в общей сложности до 50 пациентов, перенесших аллотрансплантацию трупной почки, где курсы ТКИ были с успехом использованы для профилактики отторжения и купирования рефрактерных к терапии эпизодов острого отторжения почечного трансплантата [9]. Авторы отмечают снижение частоты кризов отторжения и уменьшение выраженности лимфоцитарной инфильтрации ткани трансплантатов при хроническом отторжении. Все авторы подчеркивают, что при этом отсутствуют осложнения, свойственные иммуносупрессии: увеличение числа инфекционных осложнений и злокачественных новообразований. Это выгодно отличает ЭФХТ от традиционной медикаментозной иммуносупрессии. Осложнения, развитие которых возможно при применении ЭФХТ, – головная боль, повышение температуры тела (обычно через 4–12 часов после реинфузии обработанной клеточной суспензии), тошнота (чаще развивается при использовании пероральных препаратов 8-метоксипсоралена), гипотензия, вазовагальный обморок, чрезвычайно редки и, как правило, неспецифичны [10].

В одном из исследований, авторы отметили регресс проявлений отторжения почечного трансплантата и улучшение функции трансплантата (наблюдение в течение от 12 до 43 месяцев после трансплантации) в результате применения курса ЭФХТ после безуспешной противокризисной терапии пульсами метилпреднизолона и АТГ или ОКТ-3 [11]. При более длительном наблюдении (в течение 7 лет) за реципиентами, у которых ЭФХТ применена для лечения резистентных к терапии или рецидивирующих кризов отторжения, у шести реципиентов отмечено выраженное улучшение, которое заключалось в стабильном улучшении функции трансплантата и резком сокращении количества кризов, что подтверж-

дено биопсиями. Также авторы отметили снижение числа инфекционных осложнений, что, вероятно, обусловлено уменьшением потребности в противокризисной терапии с применением АТГ и ОКТ-3 [12].

Также фотоферез применяется не только для профилактики и лечения «клеточного» отторжения трансплантата. В сочетании с плазмаферезом и внутривенным иммуноглобулином ЭФХТ с успехом применена для лечения антитело-опосредованного отторжения почечного трансплантата [13].

Таким образом, ЭФХТ зарекомендовала себя как эффективный метод иммунотерапии, обладающий широким спектром практического применения. От традиционных иммуносупрессивных препаратов, применяемых в трансплантологии, ЭФХТ выгодно отличается тот факт, что при применении этого метода сохраняется зыбкий баланс иммунного гомеостаза: с одной стороны обеспечивается значительное снижение напряженности конфликта между иммунной системой реципиента и трансплантатом, а с другой – сохраняется достаточный физиологический ответ против различных патогенов. Главным образом это связано со способностью ЭФХТ к индукции специфической толерантности путем активации естественных механизмов иммуносупрессии.

Если при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и при лечении Т-клеточных лимфом накоплен достаточно большой опыт применения ЭФХТ, то при трансплантации солидных органов опыт значительно более скромный. При этом абсолютное большинство авторов свидетельствует о высокой эффективности такой терапии и незначительном количестве осложнений по сравнению с традиционными методами профилактики и лечения отторжения трансплантата. В основном это небольшие, одноцентровые и, как правило, достаточно продолжительные исследования (табл.).

Анализируя литературные данные, можно выделить следующие общие характеристики ЭФХТ:

- позволяет снизить количество кризов отторжения трансплантата;
- позволяет значительно повысить эффективность лечения криза отторжения в качестве адьювантного метода;
- позволяет уменьшить лекарственную иммуносупрессивную нагрузку;
- не сопровождается повышением риска развития инфекций;
- обладает ничтожно малой частотой встречаемости побочных эффектов;
- механизм действия до конца не изучен.

При трансплантации солидных органов большинство исследований посвящено изучению клинической эффективности ЭФХТ, тогда как исследования, направленные на определение конкретных механизмов действия ЭФХТ, достаточно редки.

Исследования, посвященные изучению клинической эффективности ЭФХТ при отторжении трансплантатов солидных органов

Автор и год публикации	Период проведения исследования	Кол-во пациентов	Трансплантат
Benden C. et al., 2008 [14]	1997–2007	24	легкое
Jaksch P. et al., 2012 [3]	1989–2010	51	легкое
Morrell M.R. et al., 2011 [15]	2000–2007	60	легкое
Salerno C.T. et al., 1999 [16]	1992–1999	8	легкое
Villanueva J. et al., 2000 [17]	1999–2000	14	легкое
Lucid C.E. et al., 2011 [4]	2008–2009	9	легкое
Dall'Amico R. et al., 2000 [5]	1995–2000	11	сердце
Giunti G., 1999 [18]	1996–1998	6	сердце
Maccherini M., 2001 [19]	1996–2000	12	сердце
Barr M.L. et al., 1998 [20]	1997	33	сердце
Kirklin J.K. et al., 2006 [21]	1990–2003	36	сердце
Urbani L. et al., 2008 [7]	1996–2006	131	печень
Kusztal M. et al., 2011 [9]	2010–2011	10	почка
Genberg H. et al., 2005 [11]	2000–2005	7	почка
Jardine M.J. et al., 2009 [12]	1999–2008	10	почка
Lai Q., 2012 [13]	2006–2009	6	почка

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФОТОФЕРЕЗА

Авторы видят основной механизм действия ЭФХТ в способности индуцировать апоптоз аллоактивированных Т-клеток [22] и моноцитов без существенного нарушения их способности к трансформации в дендритные клетки и эндцитозу [23]. В пользу этого также свидетельствуют Maccherini M. et al., которые изучали иммуномодуляторные свойства ЭФХТ, применив ее у больных с частыми рецидивирующими отторжениями сердечного трансплантата. Авторы отметили, что ЭФХТ значительно уменьшила частоту кризов отторжения и позволила снизить лекарственную иммуносупрессивную нагрузку. Главным механизмом снижения иммунологического конфликта авторы видят развитие апоптоза воспалительных клеток, инфильтрирующих периваскулярное пространство и интерстиций трансплантата. Причем количество апоптопических клеток наиболее велико в первые несколько дней после курса сеансов ЭФХТ и затем достаточно быстро уменьшается. При этом имеется повышение концентрации провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли- α (ФНО α) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) через месяц после проведения ЭФХТ с последующим постепенным снижением их концентрации. Концентрации ИЛ-2, ИЛ-4 и интерферона- γ несколько повышаются сразу после завершения ЭФХТ, а затем так же имеют тенденцию к снижению. По мнению авторов, ЭФХТ гораздо эффективнее глюкокортикостероидов способствует апоптозу воспалительных лимфоцитов [19]. Воспалительная реакция – выделение провоспалительных цитокинов – может быть объяснена выделением молекулярных паттернов, ассоцииро-

ванных с повреждением при апоптозе клеток и последующей активацией Toll-подобных рецепторов. При этом вероятно, что такая реакция при быстрой гибели клеток в случае использования различных антител (антителоопосредованного цитолиза) была бы более выраженной, чем при апоптозе лимфоцитов, индуцированном нарушением синтеза ДНК в результате фотоактивации молекулы псоралена.

Также важным обстоятельством можно считать избирательную способность ЭФХТ в большей степени способствовать апоптозу именно активированных аллореактивных Т-клеток [24].

По мнению Baron E.D. et al., основным механизмом действия ЭФХТ при лечении криза отторжения почечного аллотрансплантата является изменение цитокинового профиля. Авторы установили, что после курса ЭФХТ соотношение клеток, продуцирующих интерферон- γ (ИНФ γ), остается стабильным, а продуцирующих ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10 – значительно повышается, изменяя соотношение клеток с 2,73 на 1,01. Это, по мнению авторов, свидетельствует об изменении направленности дифференцировки Т-клеток в сторону фенотипа Т-хелперов 2-го типа (Тх₂). При этом известно, что Тх₂-клетки имеют взаимную перекрестную отрицательную регуляцию с клетками Тх₁-фенотипа и могут иметь важную роль в развитии толерантности [25].

Антиген-специфичный Т-клеточный ответ характеризуются различными профилями секретруемых цитокинов. Поляризация Т-клеточного ответа в сторону Тх₁ или Тх₂ зависит от типа антигенпрезентирующей клетки. Дендритные клетки (ДК) 1-го типа («моноцитоподобные») инициируют Тх₁-ответ, в то время как ДК 2-го типа («плазмоци-

тоидные») – T_H2 ответ. Существует гипотеза, согласно которой ДК 2-го типа могут быть ответственными за поддержание периферической Т-клеточной толерантности к аутоантигенам, в то время как ДК 1-го типа – за антиген-специфичный Т-клеточный ответ. При реакции отторжения, инициированной макрофагами ДК 1-го типа, происходит секреция ФНО α и усиливается экспрессия CD40L, что способствует активации ДК 2-го типа. При этом ДК 2-го типа способствуют пролиферации антиген-специфичных Т-клеток, продуцирующих ИЛ-4 и ИЛ-10. Эти цитокины имеют отрицательную обратную регуляторную связь с T_H1 -клетками и снижают активность воспалительной реакции. Это было подтверждено в ряде экспериментальных моделей [26].

Частично действие ЭФХТ обусловлено апоптозом моноцитов крови, что было подтверждено исследованием Setterblad N. et al. [27] При этом ЭФХТ стимулирует спонтанный апоптоз клеток, а также повышает чувствительность клеток к индукции HLA-DR-опосредованного апоптоза. Этот механизм клеточного апоптоза до конца не изучен. Имеются свидетельства, что HLA-DR-опосредованный апоптоз не зависит от активации каспаз и ключевым медиатором этого процесса является AIF (apoptosis-inducing factor), вызывая фрагментацию ДНК и конденсацию хроматина [28]. Таким образом, ЭФХТ, способствуя активации различных механизмов апоптоза зрелых «профессиональных» антигенпрезентирующих (дендритных) клеток, а также клеток, способных трансформироваться в дендритные (моноциты), ограничивает иммунный ответ.

Уменьшение количества мононуклеарных клеток – Т-клеток и моноцитов, продуцирующих провоспалительные цитокины – ИФН γ , ФНО α , – было продемонстрировано и Vladon J. et al. [29]. При этом уменьшается не только количество этих клеток, но и меняется их функциональное состояние: этим же коллективом авторов было продемонстрировано, что после процедуры ЭФХТ, снижается способность Т-клеток к продукции ФНО α , ИФН γ , ИЛ-2 и способность моноцитов к продукции ФНО α , ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8. Изменяется также и регуляторный потенциал Т-клеток: Т-клетки, подвергшиеся действию ЭФХТ, снижают цитокин-продуцирующую способность даже не подвергшихся этой процедуре моноцитов после совместной инкубации [30]. Это выгодно отличает ЭФХТ от классической медикаментозной противокризовой и базовой иммуносупрессивной терапии, направленной на неселективное сокращение популяции Т-клеток или нарушение их функции. В то же время Ghafari A. et al. считают, что сама по себе концентрация в периферической крови таких активно участвующих в отторжении цитокинов, как ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 или ИФН γ , не может быть предиктором отторже-

ния трансплантата: содержание этих цитокинов у больных, перенесших криз отторжения, и без иммунологических осложнений в раннем послеоперационном периоде существенно не различается [31]. По нашему мнению, это может служить очередным доказательством несостоятельности современной концепции неселективной иммуносупрессии.

По данным Holtick U. et al., в результате ЭФХТ часть моноцитов клеточного концентрата трансформируются в незрелые дендритные клетки, с повышенной экспрессией PD-L1 [32]. PD-L1 (B7-H1, CD274) является лигандом PD-1 (CD279), экспрессируемого неактивированными CD4- и CD8-клетками, а также активированными В-лимфоцитами, NK-клетками и макрофагами. Молекула PD-1 (programmed cell death 1 ligand) частично схожа с молекулой CTLA-4. PD-1 имеет два лиганда – PD-L1 (B7-H1, CD273) и PD-L2 (B7-DC, CD273), которые, возможно, несут несколько различные функции. Лиганды PD-1 представлены на АПК после их активации. Помимо этого PD-L1 представлены на активированных Т-клетках, FoxP3+ Treg, эндотелиоцитах, некоторых паренхиматозных клетках. Известно также, что PD-L1 может связываться не только с PD-1, но и с B7-1. Активация данного сигнального пути ингибирует пролиферацию и продукцию цитокинов антиген-специфичными CD4 и CD8 клетками. Выраженность ингибирующего действия этих молекул зависит от наличия костимуляционных сигналов, в частности CD28-B7. Блокирование PD-1-PD-L1/2 сигнального пути может ускорять отторжение трансплантата в эксперименте. Введение PD-L1-Ig в результате конкурентного связывания с PD-1 тормозит реакцию отторжения [33]. Вероятно, этот механизм также участвует в ЭФХТ-индуцированной толерантности к трансплантату. В то же время в исследовании Wolnicka-Glubisz A. установлено, что фрагменты клеток, подвергшихся апоптозу активно захватываются моноцитами, что сопровождается повышенной продукцией ИЛ-10 [34]. При этом присутствие лимфоцитов, подвергнутых апоптозу, является важным фактором для продукции ИЛ-10 [35].

Поглощение дендритными клетками фрагментов лимфоцитов, подвергшихся апоптозу, имеет несколько толерогенных эффектов: снижение продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО α , ИЛ-12); увеличение продукции противовоспалительных цитокинов (TGF β , ИЛ-10); снижение способности стимулировать Т-клеточный ответ; снижение количества эффекторных CD8-клеток; индукция пролиферации регуляторных Т-клеток [36].

Di Renzo M. et al. установили, что культивирование лимфоцитов после ЭФХТ и незрелых дендритных клеток приводит к снижению последними плотности экспрессии костимуляционных молекул CD40 и CD86, а также молекулы клеточной ад-

гезии ICAM-1 (CD54) и повышению продукции ИЛ-10 [37].

С одной стороны, ИЛ-10, являясь противовоспалительным цитокином, подавляет продукцию цитокинов Тх₁-клетками и уменьшает экспрессию молекул HLA II класса. С другой стороны, если моноциты пиноцитируют аллогенные пептиды с последующей трансформацией в дендритные клетки с толерогенным фенотипом, это может стать мощным перспективным методом индукции периферической толерантности к донорским антигенам. Так, в исследовании Dhodapkar M.V. et al. было показано, что незрелые дендритные клетки могут способствовать аллоантиген-специфическому ингибированию эффекторных Т-клеток, а также повышению активности продукции противовоспалительных цитокинов, в частности – ИЛ-10, Т-клетками. Кроме этого, активированные Т-клетки посредством взаимодействия с незрелыми дендритными клетками сохраняют способность к пролиферации и дифференцировке в клетки памяти. При этом они обладают крайне ослабленной способностью к продукции ИНФγ и киллингу [38]. Также незрелые дендритные клетки способствуют продукции аллоантигенспецифических CD8-регуляторных клеток, обладающих выраженным ингибирующим действием на течение реакции отторжения [39].

Подобный вывод был сделан Spisek R. et al. в рамках изучения механизма действия ЭФХТ при реакции «трансплантат против хозяина», которые отметили, что в результате применения этого метода происходит образование незрелых дендритных клеток, способных к активной продукции ИЛ-10 и индукции быстрого и массивного апоптоза аллореактивных лимфоцитов [40]. Di Renzo M. et al. также установили, что совместное культивирование лимфоцитов, подвергнутых ЭФХТ, и незрелых дендритных клеток снижает плотность экспрессии CD54, CD40, CD86 и сопровождается повышенной продукцией ИЛ-10 [37]. Незрелым толерогенным дендритным клеткам, полученным в результате ЭФХТ, авторы отводят главную роль в индукции специфической толерантности.

Дендритные клетки могут быть как индукторами адаптивного иммунного ответа, так и толерантности. Множество факторов играют важную роль в формировании направленности их действия: цитокиновое окружение, миграционная активность, набор кластеров дифференцировки, происхождение и др., однако, согласно одной из гипотез, ключевым фактором в снижении активности иммунологического конфликта при трансплантации солидных органов считают степень их зрелости [41]. Частично толерогенные свойства незрелых дендритных клеток можно объяснить слабой экспрессией молекул HLA I и II классов, а также CD80/86, в результате

чего эти клетки неспособны эффективно презентировать антиген CD4 и CD8 клеткам [42]. Однако имеется и другая теория механизма их толерогенных свойств дендритных клеток.

Предполагается, что в силу того, что ранние незрелые дендритные клетки неспособны к эффективному процессингу антигенов и презентации их в комплексе с HLA, это делает невозможным их взаимодействие с Т-клетками. Помимо этого, ранние дендритные клетки обладают низкой миграционной активностью из-за недостаточной экспрессии некоторых молекул, в частности – CCR7 (CD197). В связи с этим незрелые дендритные клетки, возможно, неспособны к миграции в лимфоузлы и индукции толерантности. В рамках этой теории существует как минимум два типа дендритных клеток – с толерогенным или иммуногенным фенотипом, и вариант дифференцировки зависит от микроокружения клетки. При наличии «сигналов опасности» формируется специфическая смесь цитокинов, которая способствует пиноцитозу пептидов и созреванию клеток с иммуногенным фенотипом к данным антигенам. При отсутствии таких сигналов происходит активация альтернативной программы и спонтанное созревание клеток с формированием толерогенного фенотипа клеток к захваченным антигенам. При этом формирование комплексов «HLA–эпитоп» происходит лишь единожды в период созревания клетки по одному из путей [43].

Также механизмом толерогенного действия ЭФХТ может быть продукция CD4+CD25+ Т-клеток, популяция которых увеличивается после курса у больных с положительным клиническим эффектом [44]. При этом среди CD4+CD25+ Т-регуляторных клеток существенно возрастает популяция FoxP3+ клеток [45]. Эффект от ЭФХТ, выражающийся в увеличении популяции CD4+CD25+ FoxP3+ Т-регуляторных клеток может сохраняться в течение 3 [9] и даже 12 месяцев после терапии и дольше [46, 47].

Таким образом, существует множество гипотез механизма действия ЭФХТ:

- повреждение ДНК и последующий апоптоз клеток (моноцитов, Т-клеток);
- рецептор-опосредованная модуляция макрофагов и дендритных клеток;
- индукция антиген-специфической толерантности путем пролиферации Т-регуляторных клеток;
- торможение процесса окончательного созревания дендритных клеток;
- снижение способности дендритных клеток к активации Т-клеток;
- увеличение Т-регуляторных клеток;
- генерация толерогенных дендритных клеток;
- периферическая клональная делеция эффекторных Т-клеток;

- поляризация дифференцировки Т-клеток в сторону Th₂-фенотипа;
- снижение количества цитотоксических Т-клеток;
- нормализация CD4/CD8 соотношения клеток;
- ингибирование продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-12, интерферона- γ , ФНО α) и индукция продукции противовоспалительных цитокинов: ИЛ-10, TGF β , ИЛ-1Ra и др. [26].

Эффективность метода ЭФХТ доказана в лечении Т-клеточной лимфомы и реакции «трансплантат против хозяина» при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Однако при трансплантации солидных органов работы носят экспериментальный характер, несмотря на то что практически все из них свидетельствуют о высокой клинической эффективности метода в профилактике и лечении отторжения трансплантата [48].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, описано множество механизмов действия ЭФХТ. Интересно, что одна и та же процедура при разных состояниях (например, Т-клеточная лимфома и отторжение трансплантата) может приводить к прямо противоположным эффектам: повышению или снижению активности антигенспецифичного иммунного ответа. Возможно, широта терапевтического действия ЭФХТ частично может быть объяснена тем, что в результате фотоактивации молекулы псоралена нарушается синтез именно активно синтезируемых в данный период времени белков.

В то же время единой концепции, объясняющей действие этого метода, нет, что требует проведения дальнейших исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. MCKenna K.E., Whittaker S., Rhodes L.E., Taylor P., Lloyd J., Ibbson S., Russel-Jones R. Evidence – based practice of photopheresis 1987 – 2001: a report of a workshop of the British Photodermatology group and the U.K. skin lymphoma group. *Br. J. Dermatol.* 2006; 154: 7–20.
2. Pierelli L., Perseghin P., Marchetti M., Messina C., Perotti C., Mazzoni A., Bacigalupo A., Locatelli F., Carlier P., Bosi A. Società Italiana di Emaferesi and Manipolazione Cellulare (SIdEM) and Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO). Extracorporeal photopheresis for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease in adults and children: best practice recommendations from an Italian Society of Hemapheresis and Cell Manipulation (SIdEM) and Italian Group for Bone Marrow Transplantation (GITMO) consensus process. *Transfusion.* 2013; 53 (10): 2340–2352.
3. Jaksch P., Scheed A., Keplinger M., Ernst M.B., Dani T., Just U., Nahavandi H., Klepetko W., Knobler R. A prospective interventional study on the use of extracorporeal photopheresis in patients with bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J. Heart Lung Transplant.* 2012; 31 (9): 950–957.
4. Lucid C.E., Savani B.N., Engelhardt B.G., Shah P., Clifton C., Greenhut S.L., Vaughan L.A., Kassim A., Schuening F., Jagasia M. Extracorporeal photopheresis in patients with refractory bronchiolitis obliterans developing after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46 (3): 426–429.
5. Dall'Amico R., Montini G., Murer L., Andretta B., Zaccello G., Gambino A., Feltrin G., Caforio A., Tursi V., Livi U. Extracorporeal photochemotherapy after cardiac transplantation: a new therapeutic approach to allograft rejection. *Int. J. Artif. Organs.* 2000; 23 (1): 49–54.
6. Marques M.B., Schwartz J. Update on extracorporeal photopheresis in heart and lung transplantation. *J. Clin. Apher.* 2011; 26 (3): 146–151.
7. Urbani L., Mazzoni A., Colombatto P., Biancofiore G., Bindi L., Tascini C., Menichetti F., Brunetto M., Scatena F., Filipponi F. Potential applications of extracorporeal photopheresis in liver transplantation. *Transplant. Proc.* 2008; 40 (4): 1175–1178.
8. Urbani L., Mazzoni A., Bianco I., Grazzini T., De Simone P., Catalano G., Montin U., Petruccioli S., Morelli L., Campani D., Pollina L., Biancofiore G., Bindi L., Tascini C., Menichetti F., Scatena F., Filipponi F. The role of immunomodulation in ABO-incompatible adult liver transplant recipients. *J. Clin. Apher.* 2008; 23 (2): 55–62.
9. Kuztal M., Kościelska-Kasprzak K., Gdowska W., Zabińska M., Myszka M., Kłak R., Krajewska M., Boratynska M., Szyber P., Chudoba P., Patrzalek D., Klinger M. Extracorporeal photopheresis as an antirejection prophylaxis in kidney transplant recipients: preliminary results. *Transplant. Proc.* 2011; 43 (8): 2938–2940.
10. Scarisbrick J. Extracorporeal photopheresis: what is it and when should it be used? *Clin. Exp. Dermatol.* 2009; 34 (7): 757–760.
11. Genberg H., Kumlien G., Shanwell A., Tydén G. Refractory acute renal allograft rejection successfully treated with photopheresis. *Transplant. Proc.* 2005; 37 (8): 3288–3289.
12. Jardine M.J., Bhandari S., Wybourn K.R., Misra A.K., McKenzie P.R., Eris J.M. Photopheresis therapy for problematic renal allograft rejection. *J. Clin. Apher.* 2009; 24 (4): 161–169.
13. Lai Q., Pretagostini R., Gozzer M., Cinti P., Meo D., Vita F., Bafti M.S., Poli L., Novelli G., Rossini M., Girelli G., Berloco P.B. Multimodal treatment for acute antibody-mediated renal transplant rejection: successful rescue therapy with combined plasmapheresis, photopheresis and intravenous immunoglobulin. *G. Ital. Nefrol.* 2012; 29 Suppl 54: S31–35.
14. Benden C., Speich R., Hofbauer G.F., Irani S., Eichwanger C., Russi E.W., Weder W., Boehler A. Extracorporeal photopheresis after lung transplantation: a 10-year single-center experience. *Transplantation.* 2008; 86 (11): 1625–1627.
15. Morrell M.R., Despotis G.J., Lublin D.M., Patterson G.A., Trulock E.P., Hachem R.R. The efficacy of

- photopheresis for bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J. Heart Lung Transplant.* 2010; 29 (4): 424–431.
16. Salerno C.T., Park S.J., Kreykes N.S., Kulick D.M., Savik K., Hertz M.I., Bolman R.M. 3rd. Adjuvant treatment of refractory lung transplant rejection with extracorporeal photopheresis. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1999; 117 (6): 1063–1069.
 17. Villanueva J., Bhorade S.M., Robinson J.A., Husain A.N., Garrity E.R. Jr. Extracorporeal photopheresis for the treatment of lung allograft rejection. *Ann. Transplant.* 2000; 5 (3): 44–47.
 18. Giunti G., Schürfeld K., Maccherini M., Tanganelli P., Rubegni P., Alfani D., D'Ascenzo G., Diciolla F., Bernazzali S., Fimiani M., Toscano M., Sani G. Photopheresis for recurrent acute rejection in cardiac transplantation. *Transplant. Proc.* 1999; 31 (1–2): 128–129.
 19. Maccherini M., Diciolla F., Laghi Pasini F., Lisi G., Tanganelli P., D'Ascenzo G., Mondillo S., Carone E., Orichio L., Baraldi C., Capecechi P.L., Lazzarini P.E., Toscano T., Barretta A., Giunti G., Schuerfeld K., Fimiani M., Papalia U. Photopheresis immunomodulation after heart transplantation. *Transplant. Proc.* 2001; 33 (1–2): 1591–1594.
 20. Barr M.L., Meiser B.M., Eisen H.J., Roberts R.F., Livi U., Dall'Amico R., Dorent R., Rogers J.G., Radovancević B., Taylor D.O., Jeevanandam V., Marboe C.C. Photopheresis for the prevention of rejection in cardiac transplantation. Photopheresis Transplantation Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339 (24): 1744–51.
 21. Kirklin J.K., Brown R.N., Huang S.T., Naftel D.C., Hubbard S.M., Rayburn B.K., McGiffin D.C., Bourge R.B., Benza R.L., Tallaj J.A., Pinderski L.J., Pamboukian S.V., George J.F., Marques M. Rejection with hemodynamic compromise: objective evidence for efficacy of photopheresis. *J. Heart Lung Transplant.* 2006; 25 (3): 283–288.
 22. Holtick U., Wang X.N., Marshall S.R., Scheid C., von Bergwelt-Baildon M., Dickinson A.M. In vitro PUVA treatment preferentially induces apoptosis in alloactivated T cells. *Transplantation.* 2012; 94 (5): e31–34.
 23. Hannani D., Gabert F., Laurin D., Sall M., Molens J.P., Hequet O., Chaperot L., Plumas J. Photochemotherapy induces the apoptosis of monocytes without impairing their function. *Transplantation.* 2010; 89 (5): 492–499.
 24. Hannani D., Merlin E., Gabert F., Laurin D., Deméocq F., Chaperot L., Kanold J., Plumas J. Photochemotherapy induces a faster apoptosis of alloreactive activated T cells than of nonalloreactive resting T cells in graft versus host disease. *Transplantation.* 2010; 90 (11): 1232–1238.
 25. Baron E.D., Heeger P.S., Hricik D.E., Schulak J.A., Tary-Lehmann M., Stevens S.R. Immunomodulatory effect of extracorporeal photopheresis after successful treatment of resistant renal allograft rejection. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 2001; 17 (2): 79–82.
 26. Fimiani M., Di Renzo M., Rubegni P. Mechanism of action of extracorporeal photochemotherapy in chronic graft-versus-host disease. *Br. J. Dermatol.* 2004; 150 (6): 1055–1060.
 27. Setterblad N., Garban F., Weigl R., Assier E., Drillat P., Charron D., Dickinson A., Greinix H., Mooney N. Extracorporeal photopheresis increases sensitivity of monocytes from patients with graft-versus-host disease to HLA-DR-mediated cell death. *Transfusion.* 2008; 48 (1): 169–177.
 28. Bains S.K., Mone A., Yun Tso J., Lucas D., Byrd J.C., Weiner G.J., Green J.M. Mitochondria control of cell death induced by anti-HLA-DR antibodies. *Leukemia.* 2003; 17 (7): 1357–1365.
 29. Bladon J., Taylor P. Extracorporeal photopheresis reduces the number of mononuclear cells that produce pro-inflammatory cytokines, when tested ex-vivo. *J. Clin. Apher.* 2002; 17 (4): 177–182.
 30. Bladon J., Taylor P.C. Lymphocytes treated by extracorporeal photopheresis can down-regulate cytokine production in untreated monocytes. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 2005; 21 (6): 293–302.
 31. Ghafari A., Makhdoomi K., Ahmadpour P., Afshari A.T., Lak S.S., Fakhri L. Serum T-lymphocyte cytokines cannot predict early acute rejection in renal transplantation. *Transplant. Proc.* 2007; 39 (4): 958–961.
 32. Holtick U., Wang X.N., Marshall S.R., Scheid C., von Bergwelt-Baildon M., Dickinson A.M. Immature DC isolated after co-culture with PUVA-treated peripheral blood mononuclear cells downregulate graft-versus-host reactions in the human skin explant model. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2013; 8 (4): 324–332.
 33. del Rio M.L., Buhler L., Gibbons C., Tian J., Rodriguez-Barbosa J.I. PD-1/PD-L1, PD-1/PD-L2, and other co-inhibitory signaling pathways in transplantation. *Transpl. Int.* 2008; 21 (11): 1015–1028.
 34. Wolnicka-Glubisz A., Fraczek J., Skrzeczynska-Moncznik J., Friedlein G., Mikolajczyk T., Sarna T., Pryjma J. Effect of UVA and 8-methoxypsoralen, 4, 6, 4'-trimethylangelicin or chlorpromazine on apoptosis of lymphocytes and their recognition by monocytes. *J. Physiol. Pharmacol.* 2010; 61 (1): 107–114.
 35. Di Renzo M., Rubegni P., Pasqui A.L., Pompella G., De Aloe G., Sbano P., Cuccia A., Castagnini C., Auteri A., Laghi Pasini F., Fimiani M. Extracorporeal photopheresis affects interleukin (IL)-10 and IL-12 production by monocytes in patients with chronic graft-versus-host disease. *Br. J. Dermatol.* 2005; 153 (1): 59–65.
 36. Peritt D. Potential mechanisms of photopheresis in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2006; 12 (1 Suppl 2): 7–12.
 37. Di Renzo M., Sbano P., De Aloe G., Pasqui A.L., Rubegni P., Ghezzi A., Auteri A., Fimiani M. Extracorporeal photopheresis affects co-stimulatory molecule expression and interleukin-10 production by dendritic cells in graft-versus-host disease patients. *Clin. Exp. Immunol.* 2008; 151 (3): 407–413.
 38. Dhodapkar M.V., Steinman R.M., Krasovskiy J., Munz C., Bhardwaj N. Antigen-specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells. *J. Exp. Med.* 2001; 193 (2): 233–238.
 39. Dhodapkar M.V., Steinman R.M. Antigen-bearing immature dendritic cells induce peptide-specific CD8(+) regulatory T cells in vivo in humans. *Blood.* 2002; 100 (1): 174–177.

40. Spisek R., Gasova Z., Bartunkova J. Maturation state of dendritic cells during the extracorporeal photopheresis and its relevance for the treatment of chronic graft-versus-host disease. *Transfusion*. 2006; 46 (1): 55–65.
41. Failli A., Legitimo A., Mazzoni A., Urbani L., Scatena F., Mosca F., Consolini R. The combination of immunosuppressive drugs with 8-methoxypsoralen and ultraviolet a light modulates the myeloid-derived dendritic cell function. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2011; 24 (1): 89–99.
42. Tan J.K., O'Neill H.C. Maturation requirements for dendritic cells in T cell stimulation leading to tolerance versus immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 78 (2): 319–324.
43. Usharauli D. Dendritic cells and the immunity/tolerance decision. *Med. Hypotheses*. 2005; 64 (1): 112–113.
44. Meloni F., Cascina A., Miserere S., Perotti C., Vitulo P., Fietta A.M. Peripheral CD4(+)CD25(+) TREG cell counts and the response to extracorporeal photopheresis in lung transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2007; 39 (1): 213–217.
45. George J.F., Gooden C.W., Guo L., Kirklin J.K. Role for CD4(+)CD25(+) T cells in inhibition of graft rejection by extracorporeal photopheresis. *J. Heart Lung Transplant.* 2008; 27 (6): 616–622.
46. Rubegni P., Sbrano P., Cevenini G., Perari M.G., Marotta G., Risulo M., Carcagni M.R., D'Ascenzo G., De Aloe G., Fimiani M. CD4+CD25+ lymphocyte subsets in chronic graft versus host disease patients undergoing extracorporeal photochemotherapy. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2007; 20 (4): 801–807.
47. Lamioni A., Carsetti R., Legato A., Landolfo A., Isacchi G., Emma F., Bottazzo G.F., Dello Strologo L. Induction of regulatory T cells after prophylactic treatment with photopheresis in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2007; 83 (10): 1393–1396.
48. Dupont E., Craciun L. UV-induced immunosuppressive and anti-inflammatory actions: mechanisms and clinical applications. *Immunotherapy*. 2009; 1 (2): 205–210.
49. Федулкина В.А., Ватазин А.В., Кильдюшевский А.В., Столяревич Е.С., Кантария Р.О., Зулкарнаев А.Б. Трансляционная клеточная иммунотерапия при аллотрансплантации трупной почки у урологических больных. *Альманах клинической медицины*. 2013; 28: 25–31.
- Fedulkina V.A., Vatazin A.V., Kil'djushevskij A.V., Stoljarevich E.S., Kantarija R.O., Zul'karnaev A.B. Translational cellular immunotherapy in urological patients after cadaveric kidney allograft. *Al'manah klinicheskoy mediciny*. 2013; 28: 25–31 (in rus).

Статья поступила в редакцию 5.11.2013 г.