DOI: 10.15825/1995-1191-2018-1-55-65

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ФОТОФЕРЕЗА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

А.П. Фаенко, А.Б. Зулькарнаев, Ю.Ю. Чуксина, В.А. Федулкина, Р.О. Кантария, А.В. Кильдюшевский, А.В. Ватазин

Хирургическое отделение трансплантологии и диализа ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

Цель – провести сравнительную оценку отдаленных результатов сочетанного применения фотофереза и медикаментозной иммуносупрессии и стандартной иммуносупрессивной терапии у больных после трансплантации почки. **Материалы и методы.** Проведено открытое когортное рандомизированное исследование, включающее 60 пациентов с хронической болезнью почек стадии 5Д. Всем пациентам выполнена одногруппная трупная трансплантация почки. Пациенты были случайным образом рандомизированы в две группы. Все трансплантаты были парные, причем одну почку получал пациент основной группы, другую – группы сравнения. 30 пациентов основной группы получали стандартную иммуносупрессию и 10–15 сеансов фотофереза в течение первых 6 месяцев после трансплантации. Пациенты группы сравнения получали только иммуносупрессивную терапию. Конечные точки: основная – утрата трансплантата, суррогатные – количество кризов отторжения и инфекционных осложнений, динамика концентрации креатинина в крови, скорости клубочковой фильтрации и суточной протеинурии, динамика С0 концентрации такролимуса в крови. Для изучения механизма действия фотофереза в позднем послеоперационном периоде мы оценили иммунологические показатели: субпопуляцию наивных Т-лимфоцитов CD3+CD4+CD45RO–CD28+, степень экспрессии (MFI) молекулы CD28 на этих клетках, а также Т-регуляторные клетки с фенотипом CD3+CD4+CD25(Hi)CD127–. **Результаты.** Фотоферез способствовал улучшению функции трансплантата в позднем послеоперационном периоде: у больных основной группы в течение всего анализируемого периода была ниже концентрация креатинина ($p = 0,017$) в крови и суточная протеинурия ($p = 0,011$), выше скорость клубочковой фильтрации ($p = 0,027$). Относительный риск (incidence rate ratio – IRR) отторжения в основной группе был значительно ниже, чем в группе сравнения: 0,2509 (95%ДИ 0,05386; 0,9167), $p = 0,0358$. Риск утраты трансплантата также был ниже в основной группе: 0,2782 (95%ДИ 0,07562; 0,8657), $p = 0,026$, как и риск инфекционных осложнений: IRR 0,3888 (95%ДИ 0,2754; 0,5445), $p < 0,0001$. Выживаемость трансплантатов была выше в основной группе (Log Rank $p = 0,009$; Breslow $p = 0,005$). Применение фотофереза позволило в позднем послеоперационном периоде снизить С0 концентрацию такролимуса ($p = 0,0017$) без повышения риска отторжения трансплантата. Толерогенный эффект фотофереза в позднем послеоперационном периоде может быть обусловлен увеличением популяции Т-регуляторных клеток с фенотипом CD3+CD4+CD25(hi)+CD127– по сравнению с больными, получавшими стандартную иммуносупрессивную терапию ($p = 0,024$). **Заключение.** Профилактическое применение фотофереза способствует улучшению долгосрочных результатов трансплантации почки. Необходимы дальнейшие исследования для изучения механизма действия фотофереза и маркеров частичной иммунологической толерантности к аллотрансплантату.

Ключевые слова: трансплантация почки, фотоферез, экстракорпоральная фотохимиотерапия, иммуносупрессия, иммунологическая толерантность, регуляторные клетки.

Для корреспонденции: Фаенко Александр Павлович. Адрес: 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2, корпус 6. Тел. (495) 631-72-82. E-mail: alexfaenko@mail.ru

For correspondence: Faenko Alexandr Pavlovich. Address: Building 6, 61/2, Shchepkina Str., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel. (495) 631-72-82. E-mail: alexfaenko@mail.ru

LONG-TERM OUTCOMES OF PROPHYLAXIS APPLICATION OF PHOTOPHERESIS IN KIDNEY TRANSPLANTATION

A.P. Faenko, A.B. Zulkarnayev, Ju.Ju. Chuksina, V.A. Fedulkina, R.O. Kantaria, A.V. Kildyushevskiy, A.V. Vatazin

Surgical Division of Transplantation and Dialysis in Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Aim – to perform a comparative study of the long-term results of the combined use of extracorporeal photochemotherapy (photopheresis) and drug immunosuppression and standard immunosuppressive therapy in patients after kidney transplantation. **Materials and methods**. An open cohort randomized study was conducted, including 60 patients with chronic kidney disease stage 5D. All patients underwent single-group cadaveric kidney transplantation. Patients were randomly divided into two groups. All transplants were paired, the first kidney transplant was received by the patient of the main group, the second – by comparison group. 30 patients of the main group received standard protocol of immunosuppression and 10–15 sessions of photopheresis during the first six months after transplantation. All patients of the comparison group received standard immunosuppressive therapy only. End points: primary – graft loss, surrogate – the number of acute rejection episodes and infectious complications, the dynamics of creatinine blood concentration, the glomerular filtration rate and daily proteinuria, the dynamics of tacrolimus C0 blood concentration. To study the mechanism of photopheresis action in the late postoperative period, we evaluated the immunological parameters: subpopulation of naive T-cells (CD3+CD4+CD45RO–CD28+), the level of CD28 molecule expression (MFI) on these cells and also – subpopulation of T-regulatory cells (CD3+CD4+CD25 (Hi)CD127–). **Results.** The use of photopheresis leads to the graft function improvement in the late postoperative period: the creatinine concentration (p = 0.017) in the blood and daily proteinuria (p = 0.011) were lower in patients of the main group, the glomerular filtration rate was higher (p = 0.027). The incidence rate ratio (IRR) of rejection in the main group was significantly lower than in the comparison group: 0.2509 (95% CI 0.05386, 0.9167), p = 0.0358. The risk of graft loss was also lower in the main group: IRR 0.2782 (95% CI 0.07562, 0.8657), p = 0.026, as well as the risk of infectious complications: IRR 0.3888 (95% CI 0.2754; 0, 5445), p < 0.0001. Survival rate of transplants was higher in the main group (Log Rank p = 0.009; Breslow p = 0.005). The use of photopheresis made it possible to reduce the concentration of tacrolimus in the late postoperative period (p = 0.0017) without increasing the risk of graft rejection. The photopheresis tolerogenic effect in the late postoperative period may be due to an increase in the population of T-regulatory cells with the CD3+CD4+CD25(Hi)+CD127– phenotype compared to the patients which received only standard immunosuppressive therapy (p = 0.024). **Conclusion.** The preventive use of photopheresis contributes to improvement of the kidney transplantation long-term outcomes. Further studies are needed to study the mechanisms of photopheresis action and markers of partial immunological tolerance to the allograft.

Key words: kidney transplantation, photopheresis, extracorporeal photochemotherapy, immunosuppression, immunological tolerance, regulatory cells.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация почки, несомненно, является оптимальным методом заместительной почечной терапии, способствующим более полной социальной реабилитации и увеличению продолжительности жизни больных по сравнению с гемо- и перитонеальным диализом [1–3].

Причины утраты почечного аллотрансплантата (ПАТ) многочисленны. Патогенетические процессы, лежащие в их основе, могут иметь преимущественно иммунную или неиммунную природу [4]. При этом процесс утраты функции ПАТ, как правило, носит смешанный характер и связан с постепенным наслаиванием нескольких факторов [5].

В структуре причин утраты ПАТ примерно 40% приходится на смерть реципиентов с функционирующим трансплантатом [6]. Среди основных причин смерти реципиентов выделяют инфекционные осложнения (25,4%), сердечно-сосудистые заболевания (23,6%), онкологические заболевания (4,7%) [7].

Отторжение почечного аллотрансплантата, несмотря на совершенствование схем иммуносупрессии, по-прежнему остается одной из основных причин дисфункции трансплантата и его утраты. Признаки острого отторжения уже в течение первого года после трансплантации можно выявить у 15–20% реципиентов [4].

Все причины утраты ПАТ в большей или меньшей мере связаны с несовершенством иммуносупрессивной терапии. В результате эволюции представлений о трансплантационном иммунитете, появления новых препаратов и разработки различных протоколов профилактики и лечения отторжения трансплантата значительно улучшились

ближайшие результаты трансплантации почки. Тем не менее прогресс в улучшении отдаленных результатов не так выражен. Медикаментозная иммуносупрессия не обладает достаточной специфичностью. Профилактика отторжения ПАТ достигается комбинированным подавлением определенных механизмов иммунного ответа на аллоантигены донора. Это способствует увеличению риска развития инфекционных и онкологических осложнений. Помимо этого, особенности метаболизма некоторых иммуносупрессивных препаратов детерминируют нарушения гемопоэза, липидного обмена, способствуют развитию посттрансплантационного сахарного диабета. К тому же, оказывая нефротоксичное действие, эти препараты сами по себе приводят к постепенному ухудшению почечной функции трансплантата [6].

Совершенно другой подход к решению проблемы отторжения ПАТ заключается в формировании иммунологической толерантности, при которой иммунная система реципиента избирательно «не реагирует» на ткани трансплантата при сохранении своих базисных функций – развитие воспалительных реакций к остальным чужеродным антигенам. Существует много перспективных подходов к достижению иммунологической толерантности, одним из которых является экстракорпоральная фотохимиотерапия, или фотоферез (ФФ) [8].

Фотоферез – метод клеточной иммунотерапии, при котором из крови больного выделяют лейкоциты, сенсибилизируют 8-метоксипсораленом, подвергают длинноволновому ультрафиолетовому облучению и затем возвращают больному. Впервые ФФ был предложен в 1987 г. группой исследователей Йельского университета во главе с профессором Ричардом Эдельсоном для терапии Т-клеточной лимфомы кожи [9]. В дальнейшем, по мере изучения данного метода, была доказана его эффективность при лечении стероидрезистентных кризов отторжения трансплантата солидных органов, а также при терапии реакции «трансплантат против хозяина» [10, 11].

При анализе мировой литературы обнаружено небольшое количество публикаций, посвященных профилактическому применению ФФ в раннем посттрансплантационном периоде [12–14]. Их результаты показали значительное улучшение выживаемости и функционального состояния трансплантатов, а также снижение риска различных осложнений в ближайшем посттрансплантационном периоде. Однако отсутствуют данные по долгосрочным результатам профилактического применения ФФ, а также не изучена возможность безопасного снижения базисной иммуносупрессии на фоне его применения, что послужило поводом для проведения данного исследования.

Цель исследования: провести сравнительную оценку отдаленных результатов сочетанного применения фотофереза и медикаментозной иммуносупрессии и стандартной иммуносупрессивной терапии у больных после трансплантации почки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования. Было проведено открытое когортное рандомизированное исследование, включающее 60 пациентов с хронической болезнью почек стадии 5Д. Всем пациентам была выполнена одногруппная трупная трансплантация почки. Пациенты были случайным образом рандомизированы в две группы. Все трансплантаты были парные, причем одну почку получал пациент основной группы, другую – группы сравнения. 30 пациентов основной группы получали стандартную иммуносупрессию и 10–15 сеансов фотофереза в течение первых 6 месяцев после трансплантации. Пациенты группы сравнения получали только иммуносупрессивную терапию.

Конечные точки: основная – утрата трансплантата, суррогатные – количество кризов отторжения и инфекционных осложнений, динамика концентрации креатинина в крови, скорости клубочковой фильтрации и суточной протеинурии, динамика C0 концентрации такролимуса в крови. Для изучения механизма действия фотофереза в позднем послеоперационном периоде мы оценили иммунологические показатели: субпопуляцию наивных Т-лимфоцитов CD3+CD4+CD45RO–CD28+, степень экспрессии (MFI) молекулы CD28 на этих клетках, а также Т-регуляторные клетки с фенотипом CD3+CD4+CD25(Hi)CD127–.

Пациенты. Пациенты на момент включения были сопоставимы по основным клиническим показателям (табл. 1).

В основе развития ХБП на первом месте находился хронический гломерулонефрит – 17 пациентов в основной группе и 17 пациентов в группе сравнения, на втором месте – гипертонический нефросклероз – у 5 и 2, на третьем месте – поликистоз почек – 2 и 4, на четвертом месте – хронический пиелонефрит – 2 и 2, на пятом месте – аномалия развития мочевой системы – у 1 и 3 соответственно. У 3 пациентов основной группы причиной ХБП послужила диабетическая нефропатия, а у 2 пациентов группы сравнения – антифосфолипидный синдром.

Срок наблюдения за пациентами составил от 2 до 7 лет, в среднем 4,5 ± 2,0 года.

Развитие отторжения ПАТ мы выявляли по клинико-лабораторной симптоматике при исключении иных причин дисфункции. Во всех случаях старались выполнить биопсию и провести морфологическое исследование (не выполнено у 2 пациентов –

Таблица 1

Клиническая характеристика больных

Clinical characteristics of the patients in the both groups

Параметр	Основная группа	Контрольная группа	p
Возраст реципиентов, лет	41,4 ± 10,9[1]	41,5 ± 12,8[1]	0,991
Соотношение мужчин/женщин	16/14	19/11	0,432
Продолжительность диализа до трансплантации, месяцев	24,9 ± 19,2[1]	28,4 ± 23[1]	0,521
Возраст доноров, лет	39 ± 12,9[1]		
Тип доноров (смерть головного мозга / асистолический эффективный донор)	18/12		
Продолжительность консервации, часы	18,2 ± 3,4[1]	17,9 ± 4,4[1]	0,799
Продолжительность тепловой ишемии, минуты	28,6 ± 9,8[1]	27,9 ± 9,7[1]	0,345
Ретрансплантация	3	4	0,694
Индекс совместимости	9 (5; 15)[2]	8 (4; 14)[2]	0,458

Примечание. [1] – среднее, стандартное отклонение; [2] – медиана, интерквартильный размах.

категорический отказ от биопсии). У всех больных выполнялись протокольные биопсии через полгода после трансплантации (выполнено у всех пациентов), а также биопсии *ondemand* при развитии дисфункции. Морфологическую оценку патологии ПАТ мы проводили согласно международной классификации Banff 2007 года [15].

Иммуносупрессивная терапия. Индукция осуществлялась базиликсимабом 20 мг внутривенно до операции и на 4-е сутки после. Метилпреднизолон вводился внутривенно капельно во время трансплантации 10 мг/кг, затем на 1-е и 4-е сутки по 250 мг.

Базисная иммуносупрессия включала такролимус в стартовой дозе 0,12 мг/кг массы тела в сутки. Поддерживались общепринятые целевые концентрации препарата в крови [6]. Микофенолата мофетил применялся в дозе 2 г/сут. Стартовая доза преднизолона составляла 30 мг в сутки. При стабильной функции трансплантата с 14-го дня доза преднизолона снижалась по 2,5 мг в течение 3 дней до дозы 20 мг/сут к концу месяца.

При развитии острого отторжения трансплантата больным проводилась пульс-терапия с внутривенным введением метилпреднизолона по 250 мг в течение 4 последовательных суток. При развитии острого отторжения с гуморальным компонентом у 1 пациента основной группы и 2 пациентов контрольной группы помимо пульс-терапии метилпреднизолоном применялся антитимоцитарный глобулин в дозе 4 мг на 1 кг массы тела совместно с 3–5 сеансами каскадной плазмофильтрации.

Процедуры ФФ начинали проводить на 3–7-й день после трансплантации почки и продолжали по следующей схеме: в первые 2 недели после трансплантации почки – по 2 процедуры в неделю, следующие 6 недель – по 1 процедуре в неделю, в течение 3-го месяца – 1 раз в 2 недели, затем 1 раз в месяц в течение 4, 5 и 6-го месяца после трансплантации. Суммарно за курс лечения проводилось 15 процедур ФФ. Для осуществления фотосенсибилизации мы использовали аммифурин, который рассчитывался в дозе 1 мг/кг массы тела и принимался пациентом за 2–3 часа до начала процедуры заготовки клеток крови. Сепарацию и накопление мононуклеарных клеток мы проводили при помощи аппарата «Haemonetics MCS+» (США). В течение одной процедуры заготавливалось около 40–70 мл концентрата мононуклеарных клеток. Затем полученный концентрат клеток ресуспендировался в 200 мл 0,9% раствора хлористого натрия. Клеточную взвесь подвергали ультрафиолетовому воздействию при длине волны 320–400 нм. Общая доза экспозиции составляла 0,8–1,2 Дж/см^2. После 90 минут инкубационного периода при температуре 20–24 °C клетки реинфузировались пациенту в течение 30 мин.

Методы статистического анализа. Переменные, имеющие нормальное распределение, представлены как среднее ± стандартное отклонение (M ± SD). Переменные с распределением, отличным от нормального, представлены как медиана и интерквартильный размах (Me [ИКР]).

При сравнении двух независимых выборок, имеющих нормальное распределение, применялся непарный критерий Стьюдента с учетом равности дисперсий. Для попарного межгруппового сравнения двух выборок, имеющих распределение, отличное от нормального, применялись критерии Манна–Уитни (несвязанные выборки).

При анализе динамики креатинина, скорости клубочковой фильтрации и протеинурии применялся двухфакторный дисперсионный анализ – (RMANOVA – дисперсионный анализ с повторными измерениями) с двумя факторами – «время» и «группа». Апостериорные сравнения проводили с помощью критерия Тьюки.

Выживаемость оценивалась по методу Каплана–Майера. Значимость различий оценивалась с

помощью критериев Log rank (отдаленный период) и Breslow (ближайший период).

При определении относительного риска рассчитывали инцидентность в двух группах (отношение количества случаев к суммарному времени наблюдения), а затем их отношение (incidence rate ratio – IRR) и 95% доверительные интервалы (95%ДИ).

Расчеты производили в программах SPSS v.23, Statistica v.10 и GraphPadPrizm v.7.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Функция трансплантата. Как показал дисперсионный анализ, динамика креатинина статистически значимо различалась (p = 0,017) между группами (рис. 1). Видно, что в основной группе концентрация креатинина оставалась относительно стабильной, тогда как в группе сравнения на поздних этапах отмечалась монотонная тенденция к ее росту. Такие изменения уровня креатинина во многом были детерминированы динамикой скорости клубочковой фильтрации (рис. 2). Различия в динамике (взаимодействие факторов «группа» и «время») между группами также были статистически значимы: на протяжении всего анализируемого периода СКФ была выше в основной группе (p = 0,011). Известно, что уровень протеинурии является не только показателем дисфункции ПАТ, но и прогностическим маркером [16]. В целом и в основной группе, и в группе сравнения мы отметили постепенное нарастание уровня суточной протеинурии. Тем не менее эта тенденция была значительно выраженнее в группе сравнения, таким образом, различия в динамике суточной протеинурии между группами были статистически значимы (p = 0,027) (рис. 3).

Отторжение. Отторжение развилось у 2 больных основной группы (3 эпизода) и у 7 пациентов группы сравнения (8 эпизодов). Как правило, отторжение носило смешанный характер (табл. 2). В биоптатах мы отметили очаговую инфильтрацию и отек интерстиция, признаки интимального артериита, склероз клубочков в сочетании со свечением C4d-фрагмента системы комплемента на перитубулярных капиллярах. При этом анти-HLA антитела до АТП отсутствовали у всех пациентов. Анти-HLA антитела к HLA-A, B, DR исследовали на платформе Luminex – single antigen bead assay.

Инцидентность (как функция риска) отторжения в основной группе составила 2,479 (95%ДИ 0,631; 6,748) на 100 пациенто-лет, а в группе сравнения – 9,877 (4,587; 18,75) на 100 пациенто-лет. Риск отторжения в основной группе был значительно ниже, чем в группе сравнения: IRR 0,2509 (95%ДИ 0,05386; 0,9167), p = 0,0358. Бессобытийная выживаемость (до первого криза отторжения) была зна-

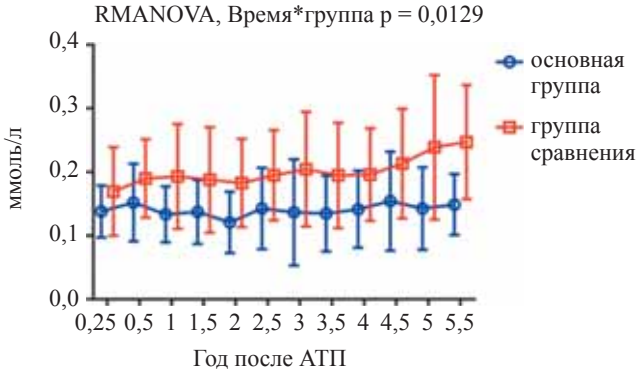

Рис. 1. Динамика уровня креатинина в отдаленном периоде после аллотрансплантации трупной почки (АТП) в двух группах (M ± SD)

Fig. 1. Dynamics of the creatinine serum concentration in the long-term period after transplantation of cadaveric kidney in the both groups (M ± SD)

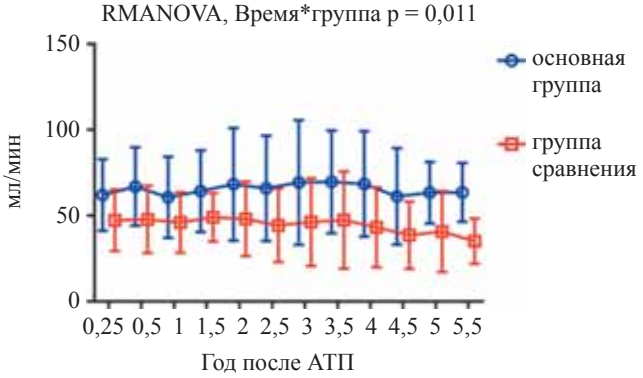

Рис. 2. Динамика уровня СКФ в отдаленном периоде после аллотрансплантации трупной почки (АТП) в двух группах (M ± SD)

Fig. 2. Dynamics of the glomerular filtration rate in the long-term period after transplantation of cadaveric kidney in the both groups (M ± SD)

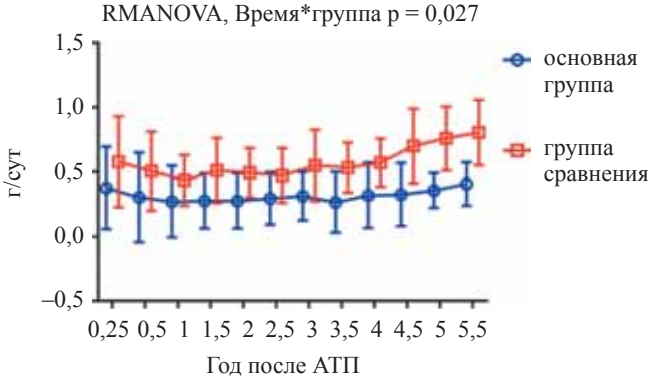

Рис 3. Динамика уровня суточной протеинурии в отдаленном периоде после аллотрансплантации трупной почки (АТП) в двух группах (M ± SD)

Fig. 3. Dynamics of the daily proteinuria in the long-term period after transplantation of cadaveric kidney in the both groups (M ± SD)

Таблица 2

Частота отторжения и его морфологический вариант (согласно классификации Banff-2007) в двух группах

The rejection frequency and its morphological categories (according to Banff-2007 classification) in the both groups

Диагностические категории	Основная группа (n = 30)	Группа сравнения (n = 30)
IA Banff	1	1
IB Banff	0	2
IIA Banff	1 (C4d+)	0
IIB Banff	0	1 (C4d+)
III Banff	0	1 (C4d+)
Хроническое смешанное отторжение	0	1 (C4d+)
Пограничные изменения	1 (C4d+)	0
Отторжение без морфологической верификации	0	2
Всего эпизодов отторжения	3	8

Таблица 3

Причины утраты функции почечного аллотрансплантата в обеих группах

Causes of loss of renal allograft function in both groups

Причина потери	Основная группа (n = 30)	Группа сравнения (n = 30)
Смерть пациентов с функционирующим трансплантатом	0	3
Отторжение трансплантата	0	2
IgA-нефропатия	1	0
Гипертонический нефроангиосклероз	1	0
Фокальный и сегментарный гломерулосклероз	1	3
Гидронефроз трансплантата	0	1
Тромботическая микроангиопатия на фоне тромбофилии	1	0
Тромбоз вены трансплантата	0	1
Всего утрачено трансплантатов	4	10

чительно выше в основной группе (Log Rank p = 0,037; Breslow p = 0,025) – рис. 4.

Выживаемость ПАТ. Несмотря на проводимую противокризовую терапию, отторжение привело к утрате ПАТ у 2 пациентов группы сравнения (табл. 3).

Трое пациентов группы сравнения умерли с функционирующим трансплантатом. Двое из них умерли вследствие тяжелой респираторной инфекции на 2–3-й месяц после АТП, у третьего пациента произошла реактивация гепатита с развитием фульминантной печеночной недостаточности через 5 лет после АТП. В основной группе летальных исходов не было отмечено.

Выживаемость ПАТ в основной группе была значительно выше, чем в группе сравнения: Log Rank p = 0,009; Breslow p = 0,005 (рис. 5).

При оценке риска утраты ПАТ за весь период наблюдения для основной группы инцидентность составила 3,307 (95%ДИ 0,89; 8,465) на 100 пациенто-лет, для группы сравнения – 11,89 (95%ДИ 5,691; 21,86) на 100 пациенто-лет. Таким образом, риск утраты трансплантата также был ниже в основной группе: IRR 0,2782 (95%ДИ 0,07562; 0,8657), p = 0,026.

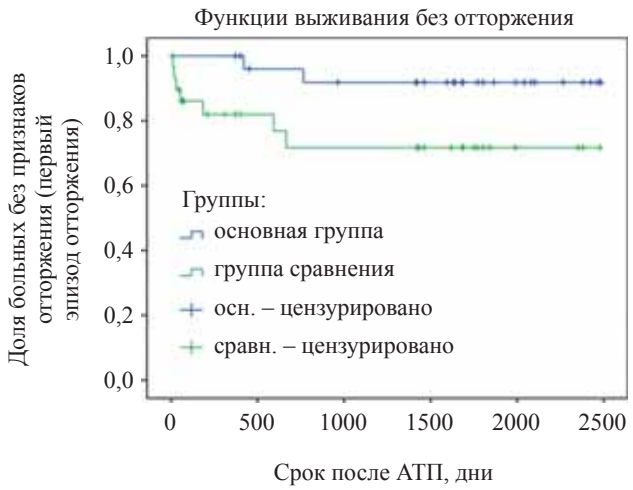

Рис. 4. График выживаемости без отторжения аллотрансплантата трупной почки (АТП) в двух группах

Fig. 4. Kaplan–Meier curve of rejection-free graft survival after kidney transplantation in the both groups

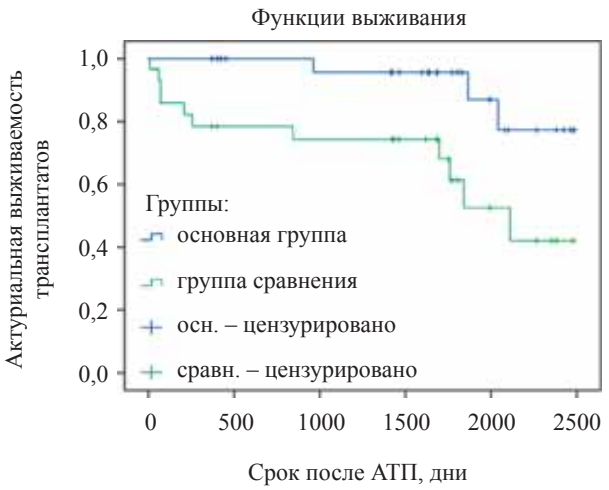

Рис. 5. График выживаемости трансплантатов в двух группах

Fig. 5. Kaplan–Meier graft survival of a kidney transplants in the both groups

Иммуносупрессивная терапия. В случае если функция ПАТ была стабильна, а по данным протокольной биопсии на 180-е сутки признаки отторжения отсутствовали, мы старались снизить С0 концентрацию такролимуса под тщательным контролем.

Как показал дисперсионный анализ с повторными измерениями, динамика средней С0 концентрации такролимуса в крови в основной группе статистически значимо отличалась от группы сравнения (p = 0,0017) (рис. 6). Пациенты основной группы на протяжении первого года после АТП имели сопоставимую с пациентами группы сравнения концентрацию: так, через 3 месяца в основной группе концентрация составляла 9,24 ± 2,71 нг/мл, в группе сравнения – 11,97 ± 4,66 нг/мл (p = 0,61). Однако, начиная с 1,5 года (основная группа – 6,64 ± 0,89 нг/мл, группа сравнения – 8,14 ± 0,96, p = 0,004) и до конца анализируемого периода различия были статистически значимы.

У 13 больных основной группы со стабильной функцией ПАТ в позднем послеоперационном периоде мы снизили С0 концентрацию такролимуса несколько ниже рекомендованной без повышения риска отторжения. Таким образом, в целом концентрация такролимуса в основной группе была на 23% ниже, чем в группе сравнения.

Инфекционные осложнения. У 24 из 30 пациентов основной группы всего было зарегистрировано 52 эпизода инфекций, у 24 из 30 пациентов группы сравнения – 93 эпизода инфекций. За весь период наблюдения инцидентность в основной группе составила 4,299 (95%ДИ 3,21; 5,637), а в группе сравнения – 11,06 (95%ДИ 08,923; 11,06) на 10 пациенто-лет. Таким образом, риск инфекционных осложнений в основной группе был меньше, чем в группе сравнения: IRR 0,3888 (95%ДИ 0,2754; 0,5445), p < 0,0001.

Мы выделили основные типы инфекционных осложнений (табл. 4).

В одном случае у пациента группы сравнения развитие пневмонии происходило на фоне введения антитимоцитарного глобулина для купирования острого отторжения ПАТ. В отличие от общей популяции пациентов реципиенты почечного трансплантата имеют высокий риск молниеносного течения инфекционного процесса. Так, у двух пациентов группы сравнения развилась пневмония, которая осложнилась острой дыхательной недостаточностью и развитием сердечно-сосудистой недостаточности, что привело к смерти пациентов.

Острый пиелонефрит ПАТ был диагностирован у 3 пациентов основной группы (3 эпизода) и у 3 пациентов группы сравнения (4 эпизода). Течение острого пиелонефрита в 5 случаях сопровождалось ухудшением функции ПАТ. Во всех случаях исходом терапии было восстановление функции ПАТ к первоначальным значениям клинико-лабораторных показателей до возникновения пиелонефрита.

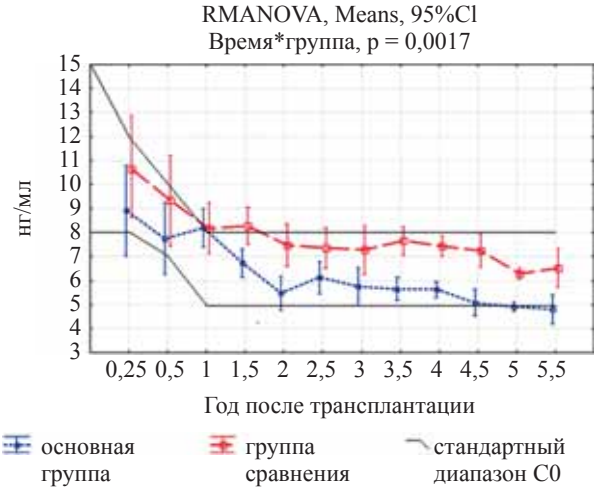

Рис. 6. График С0 концентрации такролимуса в обеих группах

Fig. 6. The blood tacrolimus C0 concentration in the both groups

Таблица 4

Типы инфекционных осложнений после трансплантации почки в двух группах

Types of infectious complications after kidney transplantation in the both groups

Тип инфекции	Основная группа, n пациентов (n эпизодов)	Группа сравнения, n пациентов (n эпизодов)
Респираторные	2 (2)	6 (9)
Пиелонефрит	3 (3)	3 (4)
Бессимптомная бактериурия	18 (26)	17 (47)
Виремия	8 (21)	11 (32)
Все эпизоды	24 (52)	24 (92)

Бессимптомная бактериурия встречается довольно часто у больных после АТП (от 26 до 61% случаев) [17]. В нашем исследовании бессимптомная бактериурия была отмечена у 18 из 30 пациентов основной группы и у 17 из 30 пациентов группы сравнения.

Наличие бессимптомной вирусной инфекции было диагностировано методом генамплификации (табл. 5).

Как правило, виремия, вызванная ЦМВ, ЭБВ, ВПГ-1,2, ВВО, у всех пациентов носила транзиторный характер и при назначении противовирусной терапии была элиминирована в течение месяца. У двух пациентов основной группы и у

Таблица 5

Результаты вирусологического обследования пациентов обеих групп

Virological test results of the both groups of patients

Основные возбудители	Основная группа, % (n эпизодов)	Группа сравнения, % (n эпизодов)
Цитомегаловирус (ЦМВ)	23,8 (5)	21,9 (7)
Вирус Эпштейна–Барр (ЭБВ)	47,6 (10)	31,3 (10)
Вирус простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ-1,2)	28,6 (6)	37,5 (12)
Вирус ветряной оспы (ВВО)	0	6,2 (2)
Гепатит В (ВГВ)	0	3,1 (1)
Итого	100 (21)	100 (32)

трех пациентов группы сравнения в отдаленном посттрансплантационном периоде произошла реактивация ЦМВ, осложнившаяся дисфункцией трансплантата. По результатам морфологического исследования выявлены пограничные изменения с лимфоцитарной инфильтрацией канальцев до 2–4 клеток. Терапия включала внутривенный ганцикловир, пульс-терапию метилпреднизолоном. Также у 2 пациентов группы сравнения имела место тяжелая панцитопения, также ассоциированная с ЦМВ, потребовавшая отмены микофеноловой кислоты и введения гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора роста.

Иммунологические исследования. Ранее мы продемонстрировали [14, 18], что в раннем посттрансплантационном периоде в группе у больных, получивших сеансы фотофереза, по сравнению с группой без ФФ отмечается снижение доли наивных Т-лимфоцитов, имеющих фенотип CD3+CD4+CD45RO–CD28+, а также снижение степени экспрессии молекулы (MFI) CD28+ на данной субпопуляции лимфоцитов к 30-м суткам после АТП. Это может указывать на снижение коактивационного потенциала этих клеток и формирование частичной иммунологической толерантности к донорским антигенам. Мы оценили динамику этих маркеров в отдаленном периоде (табл. 6).

Из представленных в таблице результатов очевидно отсутствие различий между группами, а полученные значения соответствовали показателям здоровых людей без ПАТ. По-видимому, в отдаленном периоде существуют другие механизмы поддержания частичной иммунологической толерантности. Известно, что применение ФФ при трансплантации сердца стимулирует образование Т-регуляторных клеток (Т-рег.) [19]. Поэтому мы исследовали количество периферических Т-рег. в крови по фенотипу CD3+CD4+CD25(hi)+CD127– у пациентов в двух группах в отдаленном посттрансплантационном периоде (табл. 7).

Мы не получили достоверных статистических различий между двумя группами при анализе относительных величин Т-рег. по фенотипу CD3+CD4+CD25+(hi)CD127–, однако при оценке абсолютных значений были выявлены достоверно значимые различия (p = 0,024). Это позволяет сделать предположение, что частичная иммунологическая толерантность к трансплантату в позднем послеоперационном периоде сохраняется за счет присутствия большего количества Т-регуляторных клеток.

Таблица 6

Молекулы активации CD28+ на нативных Т-лимфоцитах, M ± SD

Coactivation molecules CD28 + on native T-lymphocytes, M ± SD

Показатель	Основная группа [1]	Группа сравнения [2]	$P_{1–2}$	Практически здоровые лица без АТП (n = 16)
CD3+CD4+CD45RO–CD28+ (%)	41,77 ± 7,05	40,05 ± 8,36	0,47	42,42 ± 4,8
CD3+CD4+CD45RO–CD28+ (10^6/л)	781 ± 385	539 ± 372	0,89	850 ± 211
MFI, ед.	307,93 ± 73,47	288,03 ± 55,8	0,26	290,21 ± 77,03

Таблица 7

Анализ Т-регуляторных клеток в отдаленном посттрансплантационном периоде, M ± SD

T-regulatory cells analysis in the long-term post-transplant period, M ± SD

Показатель	Основная группа [1]	Группа сравнения [2]	$P_{1–2}$	Практически здоровые лица без АТП (n = 16)
CD3+CD4+CD25+(hi)CD127– (%)	2,19 ± 0,79	1,84 ± 0,63	0,22	3,09 ± 0,88
CD3+CD4+CD25+(hi)CD127– (10^6/л)	17,9 ± 5,16	12,9 ± 4,97	0,024	28,7 ± 13,3

ОБСУЖДЕНИЕ

Профилактическое применение фотофереза позволило улучшить функцию трансплантата у больных основной группы. Главным образом мы связываем это со снижением риска отторжения трансплантата: частота и тяжесть кризов была значительно ниже в основной группе. Подобные результаты профилактического применения фотофереза при трансплантации почки описывают другие авторы [20, 21].

Снижения частоты развития инфекций мы связываем с меньшей потребностью в противокризовой терапии. Это важно, что все три смертельных исхода в группе сравнения были связаны с инфекционными заболеваниями (2 случая пневмонии, 1 – реактивация вирусного гепатита В). Кроме того, уменьшению риска инфекций в значительной мере способствовало и снижение базовой иммуносупрессии. Применение ФФ позволило безопасно снизить концентрацию такролимуса в крови несколько ниже рекомендованной терапевтической концентрации. Тем не менее необходим постоянный мониторинг для своевременного выявления дисфункции трансплантата. В настоящее время при трансплантации солидных органов ФФ является лишь адъювантным методом иммунотерапии. Разработка протокола иммуносупрессии со сниженной С0 концентрацией такролимуса на фоне профилактического применения будет возможна после определения информативных критериев формирования частичной иммунологической толерантности к трансплантату. Как показали наши прошлые исследования [14], на ранних этапах посттрансплантационного периода толерогенный эффект ФФ достигается за счет антиген-специфического переключения второго коактивационного сигнала по пути CD80/86-CD28 на коингибирующий путь CD80/86-CTLA4 вследствие снижения плотности экспрессии молекулы CD28 на CD4+Т-клетках, а также доли CD4+Т-клеток, экспрессирующих эту молекулу. Как показало наше настоящее исследование, в позднем посттрансплантационном периоде выраженность этого эффекта снижается: плотность экспрессии молекулы CD28 между группами не различалась.

Предполагается, что Т-регуляторные клетки играют ключевую роль в поддержании иммунологической толерантности в трансплантации [22, 23]. Также известно, что фотоферез стимулирует образование Т-регуляторных клеток, что, по мнению ряда авторов, может объяснить толерогеннный эффект данной процедуры [23, 25]. Поэтому мы проанализировали данную субпопуляцию по маркерам CD3+CD4+CD25+(hi)CD127– в отдаленном периоде и обнаружили их достоверное увеличение у пациентов основной группы. Однако количество Т-регуляторных клеток все же было ниже по сравнению с практически здоровыми лицами без ПАТ, что может быть обусловлено несколькими причинами. С одной стороны, уменьшение Т-регуляторных клеток может быть связано с применением фармакологической иммуносупрессии, в частности ингибиторов кальциневрина, которые могут снижать уровень данных клеток [26]. С другой стороны, Т-регуляторные клетки могут мигрировать в лимфатические ткани или ткани трансплантата, что снижает их количество в периферической крови [27].

Есть свидетельства, что увеличение популяции CD4+CD25+ FoxP3+ Т-регуляторных клеток может сохраняться в течение 3 [20] и даже 12 месяцев после курса ФФ и дольше [19, 28].

Мы получили данные, которые свидетельствуют, что на разных этапах посттрансплантационного периода протективный эффект ФФ может быть обусловлен двумя различными механизмами. Вместе с тем существуют и другие гипотезы механизма действия ФФ при трансплантации солидных органов:

- 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 толлерогенных дендритных клеток;
- периферическая клональная делеция эффекторных Т-клеток;
- поляризация дифференцировки Т-клеток в сторону Тх2-фенотипа;
- снижение количества цитотоксических Т-клеток;
- нормализация CD4/CD8 соотношения клеток;
- ингибирование продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-12, интерферон-γ, ФНОα) и индукция продукции противовоспалительных цитокинов: ИЛ-10, TGFβ, ИЛ-1Ra и др. [10, 19].

Однако это лишь разрозненные гипотезы. Механизм действия ФФ сложен и до конца не изучен. В настоящее время не существует единой теории механизма действия этого метода иммунотерапии.

Тем не менее практически все работы, посвященные изучению эффективности фотофереза в профилактике и лечении отторжения трансплантатов солидных органов, свидетельствует о высокой клинической эффективности метода и его высокой безопасности (ФФ не имеет серьезных специфических осложнений) [10–14, 19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Профилактическое применение фотофереза способствует улучшению функции почечного аллотрансплантата в отдаленном периоде, снижению риска его отторжения и утраты, а также инфекционных осложнений. На фоне фотофереза возможно безопасное снижение иммуносупрессивной нагрузки.

Протективный эффект фотофереза в позднем послеоперационном периоде может быть обусловлен формированием частичной иммунологической толерантности к трансплантату за счет увеличения популяции Т-регуляторных клеток.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Ватазин АВ, Зулькарнаев АБ.* Трансплантация почки как оптимальный метод лечения хронической болезни почек. *Лечебное дело.* 2013; 3: 47–52. *Vatazin AV, Zulkarnaev AB.* Kidney Transplantation as an Optimal Treatment for Chronic Kidney Disease. *Journal of General Medicine.* 2013; 3: 47–52.
2. *Готье СВ, Хомяков СМ.* Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2015 году. VIII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2016; 18 (2): 6–26. *Gautier SV, Khomyakov SM.* Organ donation and transplantation in Russian Federation in 2015. 8th report of National Register. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2016; 18 (2): 6–26. [In Russ, English abstract] DOI:10.15825/1995-1191-2016-2-6-26.
3. *Хубутия МШ.* Экономическая эффективность трансплантации органов на примере трансплантации почки. *Трансплантология*. 2012; 4: 30–34. *Khubutia MSh.* An economic efficacy of organ transplantationafter the example of kidney transplantation. *Russian Journal of Transplantology.* 2012; 4: 30–34.
4. *Столяревич ЕС, Томилина НА.* Эволюция представлений о причинах поздней дисфункции трансплантированной почки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2015; 17 (2): 113–115. *Stolyarevich ES, Tomilina NA.* Understanding evolution on the causes of late renal allograft dysfunction. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2015; 17 (2): 113–115. DOI: 10.15825/1995-1191-2015-2-113-115.
5. *Naesens M, Kuypers DR, De Vusser K et al.* The histology of kidney transplant failure: a long-term follow-up study. *Transplantation.* 2014; 98 (4): 427–35. DOI:10.1097/TP.0000000000000183.
6. *Готье СВ, Мойсюк ЯГ.* Трансплантология. Фармакотерапия без ошибок. Руководство для врачей. М.: Е-ного, 2014: 432. *Gautier SV, Moisyuk YaG.* Transplantologija. Farmakoterapija bez oshibok. Rukovodstvo dlja vrachej. M.: E-noto, 2014: 432.
7. *Бикбов БТ, Томилина НА.* Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью методами перитонеального диализа и трансплантации почки в Российской Федерации в 1998–2011 гг. (отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии. Часть вторая). *Нефрология и диализ.* 2014; 16 (2): 192–227. *Bikbov BT, Tomilina NA.* Renal Replacement Therapy for ESRD patients with CAPD and kidney transplantation in Russian Federation, 1998–2011. *Nephrology and dialysis.* 2014; 16 (2): 192–227.
8. *Ватазин АВ, Зулькарнаев АБ, Кильдюшевский АВ, Федулкина ВА, Крстич М.* Некоторые механизмы действия экстракорпоральной фотохимиотерапии при трансплантации солидных органов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2014; 16 (1): 76–84. *Vatazin AV, Zulkarnaev AB, Kil'dyushevskiy AV, Fedulkina VA, Krstich M.* Some of the mechanisms of extracorporeal photochemotherapy in solid organ transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2014; 16 (1): 76–84.
9. *Edelson RL.* Extracorporeal photopheresis. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.* 1984; 30: 674–675. PMID: 6335934.
10. *Knobler R, Berlin G, Calzavara-Pinton P et al.* Guidelines on the use of extracorporeal photopheresis. *J. Clin. Apher.* 2014; 28 (1): 1–37. DOI:10.1111/jdv.12311.
11. *Schwartz J, Winters JL, Padmanabhan A et al*. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: the sixth special issue. *Journal of Clinical Apheresis.* 2013; 28 (3): 145–284. DOI:10.1002/jca.21470.
12. *Kusztal M, Kościelska-Kasprzak K, Gdowska W et al.* Extracorporeal photopheresis as an antirejection prophylaxis in kidney transplant recipients: preliminary results. *Transplant Proc.* 2011; 43 (8): 2938–2940. DOI:10.1016/j.transproceed.2011.08.061.
13. *Fernández EJ, López C, Ramírez A et al.* Role of photopheresis in the treatment of refractory cellular rejection in kidney transplantation. *Nefrologia.* 2016; 36 (3): 327–328. DOI:10.1016/j.nefro.2015.06.023.
14. *Федулкина ВА, Ватазин АВ, Кильдюшевский АВ, Столяревич ЕС, Кантария РО, Зулькарнаев АБ.* Трансляционная клеточная иммунотерапия при аллотрансплантации трупной почки у урологических больных. *Альманах клинической медицины.* 2013; 28: 25–31. *Fedulkina VA, Vatazin AV, Kildyushevskiy AV, Stolyarevich ES, Kantaria RO, Zulkarnayev AB.* Translational cellular immunotherapy for cadaveric kidney allograft in urological patients. *Almanac of Clinical Medicine.* 2013; 28: 25–31.
15. *Solez K, Colvin RB, Racusen LC et al.* Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am. J. Transplant.* 2008; 8 (4): 753–760. DOI:10.1111/j.1600-6143.2008.02159.x.
16. *Tsampalieros A, Knoll GA.* Evaluation and Management of Proteinuria After Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2015; 99 (10): 2049–2060. DOI:10.1097/TP.0000000000000894.

17. *Шилов ЕМ, Смирнов АВ, Козловская НЛ.* Нефрология. Клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, (2016), 816. *Shilov EM, Smirnov AV, Kozlovskaja NL.* Nefrologija. Klinicheskie rekomendacii. M.: GJeOTAR-Media, 2016: 816.
18. *Федулкина ВА, Ватазин АВ, Кильдюшевский АВ.* Трансляционная клеточная иммунотерапия – новое направление трансплантационной медицины. *Современные проблемы науки и образования.* 2015; 5: 133. *Fedulkina VA, Vatazin AV, Kildyushevskiy AV.* Translational cellular immunotherapy – a new direction of transplant medicine. *Modern problems of science and education.* 2015; 5: 133.
19. *Heshmati F.* Updating ECP action mechanisms. *Transfus. Apher. Sci.* 2014; 50 (3): 330–339. DOI:10.1016/j.transci.2014.04.003.
20. *Kusztal M, Koscielska-Kasprzak K, Gdowska W et al.* Extracorporeal photopheresis as an antirejection prophylaxis in kidney transplant recipients: Preliminary results. *Transplant. Proc.* 2011; 43: 2938–2940. DOI:10.1016/j.transproceed.2011.08.061.
21. *Russo GE, D'Angelo AR, Testorio M et al.* New therapeutic prospects for renal transplant: extracorporeal photochemotherapy. *G. Ital. Nefrol.* 2012; 29 (54): 36–39. PMID: 22388828.
22. *Lamarche C, Levings MK.* Guiding regulatory T cells to the allograft. *Curr. Opin. Organ. Transplant.* 2018; 23 (1): 106–113. DOI:10.1097/MOT.0000000000000483.
23. *Morath C, Schmitt A, Kälble F et al.* Cell therapeutic approaches to immunosuppression after clinical kidney transplantation. *Pediatr. Nephrol.* 2018; 33 (2): 199–213. DOI:10.1007/s00467-017-3599-2.
24. *Denney HA, Whittle RJ, Lai J, Jacques RM, Taylor PC.* Regulatory T Cells in Chronic Graft-Versus-Host Disease After Extracorporeal Photopheresis: Correlation With Skin and Global Organ Responses, and Ability to Taper Steroids. *Transplantation.* 2017; 101 (1): 204–211. DOI:10.1097/TP.0000000000001165.
25. *Piloni D, Morosini M, Magni S et al.* Analysis of long term CD4+CD25highCD127– T-reg cells kinetics in peripheral blood of lung transplant recipients. *BMC Pulm. Med.* 2017; 17 (1): 102. DOI:10.1186/s12890-017-0446-y.
26. *San Segundo D, Ruiz JC, Fernández-Fresnedo G et al.* Calcineurin inhibitors affect circulating regulatory T cells in stable renal transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2006; 38: 2391–2393. DOI:10.1016/j.transproceed.2006.08.081.
27. *Burrell BE, Nakayama Y, Xu J, Brinkman CC, Bromberg JS.* Regulatory T cell induction, migration, and function in transplantation. *J. Immunol.* 2012; 189 (10): 4705–4711. DOI:10.4049/jimmunol.1202027.
28. *Denney HA, Whittle RJ, Lai J, Jacques RM, Taylor PC.* Regulatory T Cells in Chronic Graft-Versus-Host Disease After Extracorporeal Photopheresis: Correlation With Skin and Global Organ Responses, and Ability to Taper Steroids. *Transplantation.* 2017; 101 (1): 204–211. doi: 10.1097/TP.0000000000001165.

Статья поступила в редакцию 15.02.2018 г.
The article was submitted to the journal on 15.02.2018