

ЛЕЧЕНИЕ ОСТРОГО ОТТОРЖЕНИЯ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИ- И МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ЛИМФОЦИТАМ ЧЕЛОВЕКА

С.В. Бутрин, Д.В. Перлин, П.К. Иванов, С.К. Яровой, А.А. Дударева
Волгоградский областной уронефрологический центр

Проведена сравнительная оценка применения препаратов поли- и моноклональных антилимфоцитарных антител в лечении острого криза отторжения трансплантата. Показана высокая эффективность антилимфоцитарных антител для лечения острого криза отторжения. При этом наибольшая годовая выживаемость трансплантатов отмечена при применении препаратов моноклональных антител к CD3 антигенам лимфоцитов человека.

Ключевые слова: трансплантация почки, острое отторжение трансплантата, препараты поли- и моноклональных антилимфоцитарных антител.

TREATMENT OF ACUTE REJECTION AFTER KIDNEY TRANSPLANTATION USING POLY- AND MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST HUMAN LYMPHOCYTES

S.V. Butrin, D.V. Perlin, P.K. Ivanov, S.K. Yarovoi, A.A. Dudarev

Abstract. Comparative evaluation of administration of poly- and monoclonal antilymphocytic antibodies in the treatment of acute rejection of a kidney transplant was carried out. High effectiveness of antilymphocytic antibodies in the treatment of acute rejection was revealed. The highest one-year durability of transplants is registered when monoclonal human anti-CD3-antibodies are administered.

Key words: kidney transplantation, acute transplant rejection, poly- and monoclonal antilymphocytic antibodies.

Трансплантация почки является методом выбора при лечении больных с терминальной хронической почечной недостаточностью. Ежегодно в Европе и США выполняется более 25 тыс. трансплантаций. Несмотря на значительные успехи в иммуносупрессивной терапии, в течение последних десятилетий основной проблемой все еще остается острое отторжение. При отсутствии немедленной функции в раннем послеоперационном периоде крайне трудно решить вопрос о преобладании иммунологического или ишемического механизма повреждения. Кроме того, большое значение имеет нефротоксическое действие базового иммуносупрессанта циклоспорина А. В такой ситуации особое значение принадлежит поли- и моноклональным антителам к лимфоцитам человека, используемым как для профилактики, так и для лечения острого отторжения. Несмотря на большой накопленный опыт их применения, остается нерешенным еще целый ряд вопросов, связанных с выбором препарата, временем начала терапии и необходимой безопасностью лечения.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 45 реципиентов почечных трансплантатов, которым проводили лечение острого криза отторжения антителами к лимфоцитам человека. Диагноз острого криза отторжения устанавливался на основании клини-

ческих данных, биохимических анализов крови, пробы Реберга, УЗИ, пункционной биопсии трансплантата [9]. Всем реципиентам перед введением антител и после введения через 3, 6, 12, 24 ч и далее ежедневно до 14-х суток определялось процентное содержание основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови с помощью проточной цитофлуорометрии. Исследовалась экспрессия следующих антигенов: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD72.

19 реципиентов получали лечение препаратом моноклональных антител "Атэма" (НПО "Медбиоспектр", Россия), 8 больных получали терапию антилимфоцитарным глобулином (АТГ, Fresenius), 18 реципиентов – препараты поликлональных антилимфоцитарных антител "Антилимфолин" (НИИ геронтологии, Россия) и "Атгам" (Pharmacia and Upjohn, США).

Основой препарата "АТЭМА" стали антитела IC0-90 к CD3 антигену Т-лимфоцитов. Известно, что CD3 антиген селективно экспрессируется на поверхности зрелых Т-лимфоцитов, и связывание антител с ним приводит к резкому угнетению клеточного иммунитета [6]. Антитела "АТЭМА" относятся к IgG2a изотипу. Антитела выделяют из асцитической жидкости мышей, которым внутрибрюшинно вводят клетки гибридомы IC0-90, продуцирующей эти антитела [1]. Моноклональные антитела представляют собой вы-

сокоспецифичные антитела к определенному антигену, которые вырабатываются специально создаваемыми линиями клеток – гибридами. Гибридом является продуктом слияния "бессмертной" линии клеток миеломы мыши и клеток селезенки мышей, иммунизированных данным антигеном. Базой для его создания послужила большая коллекция гибридом-продуцентов моноклональных антител, полученная в Российском Онкологическом Научном Центре имени Н.Н. Блохина РАМН под руководством проф. А.Ю. Барышникова и З.Г. Кадагидзе [2]. Специфичность антител определялась по их реактивности с различными клеточными линиями и клетками крови здоровых доноров, в том числе методом двойной метки, а также в функциональных тестах антигенной модуляции и активации Т-лимфоцитов. Степень очистки полученных антител, по данным электрофореза, в полиакриламидном геле составила не менее 99 %. Препарат моноклональных антител вводился в дозе 5 мг внутривенно болюсно ежедневно в течение 7–18 дней.

Препарат ATG (Fresenius, Германия) производится посредством иммунизацией кроликов линией человеческих Т-клеток Jurkat [10]. При разработке препарата клинически было показано, что сыворотка кролика при внутривенном введении относительно хорошо переносится больными, что нельзя сказать о лошадиной сыворотке, которая подвергается обработке с целью выделения глобулиновой фракции [11]. Препарат вводился в дозе 5 мг/кг/сут. инфузионно с 250–500 мл физиологического раствора в течение 4–6 ч ежедневно.

Препарат лошадиного антилимфоцитарного глобулина (ATGAM, Pharmacia and Upjohn, США) производится путем множественной иммунизации лошадей человеческими тимоцитами. Сыворотка обрабатывается и разделяется на фракции с целью получения очищенного IgG экстракта. Каждая партия состоит из иммуноглобулина, полученного после нескольких иммунизаций. При контрольных исследованиях каждой партии препарата особое внимание уделяется отсутствию реактогенности в отношении базальной мембраны клубочков [3, 8].

Антилимфолин (НИИ геронтологии, Россия) – препарат антилимфоцитарного глобулина, который производится посредством множественной иммунизации коз. Антилимфолин вводили в дозе 15–20 мг/кг/сут. внутривенно инфузионно на 250–500 мл физиологического раствора в течение 5–6 ч.

Для снижения выраженности побочных эффектов, связанных с синдромом выброса цитокинов, за 30 мин до инъекции любого антилимфоцитарного препарата вводились антигистаминные препараты (тавегил 2,0), а за 30 мин до первого введения внутривенно вводилось 500 мг метилпреднизолона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что антитела к лимфоцитам человека для лечения острого отторжения после трансплантации почки применяются около 30 лет, все еще остается ряд вопросов, связанных с тактикой и безопасностью их применения, а также контролем эффективности. В нашей работе мы провели сравнительную оценку применения препаратов поли- и моноклональных антилимфоцитарных антител в лечении острого криза отторжения трансплантата.

Для оценки клинической эффективности препаратов мы выбрали следующие параметры: доля некупированных кризов, рецидивы острого отторжения в течение первого года после терапии, восстановление функции трансплантата через 1 месяц после курса терапии, годовая выживаемость трансплантатов и годовая выживаемость реципиентов, а также частота развития хронической нефропатии трансплантата: протеинурия >0,5 г/сут. и уровень креатинина >0,2 ммоль/л через 1 год после терапии (табл. 1).

Годовая выживаемость трансплантатов отражает потери трансплантатов от следующих основных причин: острого отторжения, хронической нефропатии трансплантата, смерти реципиента, в том числе и с функционирующим трансплантатом. В нашем исследовании все умершие за 1 год реципиенты были с работающими трансплантатами. Годовая выживаемость трансплантатов оказалась достоверно наиболее высокая в группе больных, получавших "АТЭМА" (84,2 %), как при сравнении с группой реципиентов, получавших АТГ, так и при сравнении с больными, получавшими антилимфоцитарный глобулин ($p_2, p_3 < 0,05$). Годовая выживаемость трансплантатов при назначении поликлональных антител к лимфоцитам человека несколько ниже – 75,0 и 66,7 % и соответственно достоверно не отличается между группами ($p_1 > 0,05$). Смерть реципиентов с работающими трансплантатами наиболее часто наступает по причине тяжелых инфекционных или сердечно-сосудистых осложнений. Мы не обнаружили достоверных различий между группами по выживаемости реципиентов, что связано с относительно небольшим числом наблюдений ($p_1, p_2, p_3 > 0,05$), однако несколько больше случаев смерти отмечено в группах больных, получавших поликлональные антитела.

Вероятность повторного острого криза отторжения наиболее высока в течение первого года после трансплантации. Рецидивы острого отторжения наблюдались при назначении препаратов моноклональных антител к антигену CD3 лимфоцитов человека (10,5 % в течение года после успешно проведенной терапии); несколько выше она была при применении антилимфоцитарного глобулина (25,0 %) и при использовании препаратов антилимфоцитарного глобулина (22,2 %).

Результаты применения антител к лимфоцитам человека для лечения острого криза отторжения

Параметры / Применяемые препараты	Антитимоцитарный глобулин	Антилимфоцитарный глобулин	Моноклональные антитела к CD3 антигенам лимфоцитов человека АТЭМА
Количество больных, <i>n</i>	8	18	19
Количество больных, имевших некупированные кризы	2 (25,0 %)	4 (22,2 %)	1 (5,3 %)
Количество больных, имевших рецидивы острого отторжения в течение 1 года после терапии	1 (12,5 %)	4 (22,2 %)	2 (10,5 %)
Уровень креатинина плазмы через 1 мес. после терапии	0,15±0,10	0,18±0,08	0,14±0,07
Клубочковая фильтрация через 1 мес. после терапии	47,1±5,0	41,7±5,2	54,0±4,8
Годовая выживаемость трансплантатов	6 (75,0 %)	12 (66,7 %)	16 (84,2 %)
Годовая выживаемость реципиентов	7 (87,5 %)	16 (88,9 %)	18 (94,7 %)
Количество больных с уровнем креатинина крови >0,2 ммоль/л через 1 год	1 (12,5 %)	3 (16,7 %)	1 (5,3 %)
Количество больных с протеинурией >0,5 г/сут. через 1 год	1 (12,5 %)	4 (22,2 %)	2 (10,5 %)

Некупируемый криз отторжения – это гибель трансплантата вследствие неэффективности антикризовой терапии, в том числе и антилимфоцитарным препаратом, а иногда и двумя препаратами этой группы. Доля больных с некупируемыми кризами отторжения также была достоверно наименьшей при терапии моноклональными антителами к антигену CD3 лимфоцитов человека – 5,3 % ($p_2, p_3 < 0,05$), а наибольшей (27,8 %) – при лечении препаратами антилимфоцитарных антител. Достоверных различий между группами реципиентов, получавших АТГ и антилимфоцитарный глобулин, не выявлено ($p_1 > 0,05$).

Кроме того, об эффективности терапии свидетельствуют скорость и степень восстановления функции трансплантата. Поэтому мы исследовали уровень креатинина плазмы крови и скорость клубочковой фильтрации. Значимых различий между группами больных по среднему уровню креатинина плазмы и средней величине клубочковой фильтрации через 1 месяц после терапии (то есть по функциональным показателям трансплантата) не выявлено. Из этого наблюдения следует важное заключение – количество сохраненных нефронов скорее зависит от своевременности терапии, чем от типа препарата. При исследованиях клеточного иммунитета реципиентов, получавших терапию различными антилимфоцитарными препаратами, отмечено, что эффект моноклональных антител "Атэма" наступает очень быстро – резкое снижение уровня циркулирующих CD3+ лимфоцитов наблюдалось уже через несколько минут после первого введения, а через 1 час после инъекции CD3+ лимфоциты в крови практически отсутствовали. Доказательством того, что при введении антител в пер-

вые часы происходит именно гибель CD3-положительных клеток, а не просто исчезновение антигена, является массовое появление в периферической крови кариотипов с гиподиплоидным содержанием ДНК, характерного для активации апоптоза. Однако эффект относительно нестабилен: на фоне проводимой терапии количество CD3+ лимфоцитов медленно нарастает, достигая исходного уровня уже к 6-м суткам. При назначении препаратов поликлональных антител эффект менее избирателен, развивается медленнее, но более стойко. В ситуации острого отторжения чем быстрее подействует препарат, тем меньше нефронов будет повреждено и само повреждение должно быть более обратимо. От объема поражения зависит и то, насколько полно восстановится функция трансплантата.

Основная причина потери функции трансплантата в отдаленном периоде – хроническая нефропатия трансплантата. Патогенез развития нефросклероза трансплантата по всей видимости имеет целый ряд причин и все еще недостаточно изучен. Тем не менее очевидно, что иммунологические механизмы играют здесь ведущую роль. Основным критерием развития хронической нефропатии трансплантата является прогрессирующее снижение функции пересаженной почки. Этому зачастую предшествует появление протеинурии. Поэтому мы исследовали частоту этих признаков в качестве критерия хронической нефропатии трансплантата. По нашим данным, доля больных с протеинурией более 0,5 г/сут. через 1 год после трансплантации была несколько ниже в группе больных, получивших курс моноклональных антител к CD3 рецепторам лимфоцитов человека, в сравнении с другими груп-

пами больных и составила 10,5 % (при терапии антитимоцитарным глобулином – 12,5 %; препаратами антилимфоцитарного глобулина – 22,2 %), однако различия не достигают выбранной степени достоверности ($p_1, p_2, p_3 > 0,05$).

Уровень креатинина выше 0,2 ммоль/л свидетельствует о грубом поражении фильтрационного аппарата трансплантата. Реже всего стойкое повышение уровня креатинина плазмы отмечено при применении моноклональных антител "Атэма" – 5,3 %, несколько чаще – при использовании АТГ и антилимфоцитарного глобулина – 12,5 и 13,7 %. Незначительное число наблюдений не позволяет сделать статистически достоверные выводы ($p_1, p_2, p_3 > 0,05$).

Немаловажным аспектом назначения любого препарата являются побочные действия – их частота, тяжесть и возможность коррекции развившихся нарушений. При назначении антител к лимфоцитам человека наиболее частыми побочными действиями являются миелотоксичность [4] и реакция, связанная с выбросом цитокинов; редким, но тяжелым следствием этого может являться отек легких. В нашей практике явления отека легких развились у двух пациентов. У обоих реципиентов до введения антилимфоцитарного препарата имелась выраженная гипергидратация. Отек легких купирован экстренным проведением ультрафильтрации. Апластический эффект антилимфоцитарных препаратов мы исследовали на основании следующих показателей: количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов в периферической крови (табл. 2). В наше исследование не вошли больные, у которых анемия не была скорректирована в предоперационном периоде с помощью препаратов эритропоэтина ($Hb < 90$ г/л).

Стойкое снижение числа эритроцитов в течение 1 месяца после начала терапии антителами указывает на угнетение красного ростка крови. Мы учитывали именно снижение числа эритроцитов, возникшее после начала применения антилимфоцитарного препарата. Реже всего это побочное действие наблюдалось при назначении

моноклональных антител к CD3 антигенам лимфоцитов человека – всего у 5,3 % реципиентов, что достоверно ниже, чем в группах реципиентов, получавших поликлональные антитела, где апластический эффект отмечался практически у каждого пятого больного – 25,0 и 16,7 % ($p_1 > 0,05, p_2, p_3 < 0,05$). Апластический эффект в отношении белого ростка крови опасен в плане развития тяжелых инфекционных осложнений. Лейкопения достоверно реже отмечена при применении моноклональных антител к CD3 антигенам ($p_2, p_3 < 0,05$). При использовании антитимоцитарного и антилимфоцитарного глобулинов лейкопения возникла в 37,5 и 44,4 % соответственно. Между группами реципиентов, получавших поликлональные антитела, достоверных различий по частоте развития лейкопении не выявлено ($p_1 > 0,05$). Меньшая вероятность развития лейкопении при применении моноклональных антител объясняется их строго избирательным действием на CD3 рецепторы. Тромбоцитопения достоверно реже встречалась в группах реципиентов, получавших "АТЭМА", чем у больных, получавших АТГ и АЛГ ($p_2, p_3 < 0,05$). Статистически значимых различий между группами больных, получавших АТГ и АЛГ, не выявлено ($p_1 > 0,05$).

Обратной стороной быстрого эффекта моноклональных антител является выраженность синдрома выброса цитокинов. Несмотря на проводимую профилактику метилпреднизолоном и антигистаминными препаратами, практически у каждого третьего реципиента, получавшего моноклональные антитела, при первом введении препарата отмечалась лихорадка 38 °С и выше. Однако последняя имела кратковременный характер: продолжалась 2–3 ч и крайне редко наблюдалась после второго введения (лишь у одного пациента). Отек легких развился у двух больных. У обоих больных имелись признаки гипергидратации. Один больной получал "АТЭМА", другой – антилимфоцитарный глобулин. Отек легких потребовал проведения экстренного сеанса гемодиализа с ультрафильтрацией и в обоих случаях был успешно купирован.

Таблица 2

Побочные действия применения антител к лимфоцитам человека, примененных для лечения острого криза отторжения

Параметры / Применяемые препараты	Антитимоцитарный глобулин	Антилимфоцитарный глобулин	Моноклональные антитела к CD3 антигенам лимфоцитов человека
Количество больных, <i>n</i>	8	18	19
Снижение числа эритроцитов ниже $3,0 \cdot 10^{12}$ /л в течение 1 мес. с момента начала терапии	2 (25,0 %)	3 (16,7 %)	1 (5,3 %)
Снижение числа лейкоцитов ниже $3,0 \cdot 10^9$ /л в течение 1 мес. с момента начала терапии	3 (37,5 %)	8 (44,4 %)	2 (10,5 %)
Снижение числа тромбоцитов ниже $150 \cdot 10^9$ /л в течение 1 мес. с момента начала терапии	3 (37,5 %)	7 (38,9 %)	3 (15,8 %)
Выраженная температурная реакция на введение препарата	1 (12,5 %)	4 (22,2 %)	7 (36,8 %)
Отек легких	0 (0,0 %)	1 (5,6 %)	1 (5,3 %)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Препараты антилимфоцитарных антител эффективны для лечения острого криза отторжения. При этом наибольшая годовая выживаемость трансплантатов отмечается при применении препаратов моноклональных антител к CD3 антигенам лимфоцитов человека. Прежде всего, это обусловлено большей эффективностью препарата в отношении купирования острого криза отторжения. При этом развитие хронической нефропатии трансплантата, также влияющей на выживаемость, мало зависит от типа применяемых антител, а в большей степени от своевременности начала антикризовой терапии. Быстрый клинический и иммунологический эффект, связанный с развитием апоптоза, сопровождается массивным выбросом цитокинов, что обуславливает выраженные температурные реакции. Едва ли есть смысл относить цитокиновые реакции к побочным эффектам. Фактически это является следствием основного действия препарата. Менее избирательный (многорецепторный) механизм действия поликлональных антител определяет и большую выраженность апластического эффекта по сравнению с "АТЭМА".

Таким образом, препарат моноклональных анти-CD3 антител "Атэма" является наиболее

эффективным средством для купирования острого криза отторжения. Применение этого препарата сопровождается большей частотой и выраженностью синдрома выброса цитокинов, но существенно меньшим апластическим эффектом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсуков А.А., Иванов П.К., Барышников А.Ю. // Усп. совр. биол. – 2000. – Т. 120, № 4. – С. 406–414.
2. Барышников А.Ю. // Гематология и трансфузиология. – 1988. – Т. 33, № 2. – С. 15–20.
3. Burdick J.F., Sensesberrner L. Атам. Клинический экспертный отчет. Январь, 1993 года.
4. Burke G.W., Vercellotti G.M., Simmons R.L., et al. // Transplantation. – 1989. – № 48/3. – P. 403–408.
5. Harbison M.A., De Girolami P.C., Jenkins R.L., et al. // Transplantation. – 1988. – № 46. – P. 82.
6. Kung P.C., Goldstein G., Reinherz E.L., et al. // Science. – 1979. – Vol. 206. – P. 347.
7. Marks W.H., Perkal M., Lorber M.I. // Clin. Transplant. – 1991. – № 5. – P. 435.
8. Matas A.J., Tellis V.A., Quinn T., et al. // Transplantation. – 1986. – № 41. – P. 579–583.
9. Mihatsch M.J., Ryffel B., Gudat F. // Kidney Int. – 1995. – № 48. – Suppl. 52. – P. S63–S69.
10. O'Donoghue D.J., Johnson R.W.G., Mallick N.P., et al. // Transplant Proc. – 1989. – № 21. – P. 1736–1737.
11. Richardson A.J., Higgins R.M., Liddington M., et al. // Transpl. Int. – 1989. – №2. – P. 27–32.

УДК 616.379–008.64:611–018.4

МИНЕРАЛЬНАЯ ПЛОТНОСТЬ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ I ТИПА РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ И СТЕПЕНИ КОМПЕНСАЦИИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

М.Ю. Кондраченко

ГОУ ДПО ПИУВ Росздрава, г. Пенза

В статье анализируется зависимость плотности костной ткани у пациентов с сахарным диабетом I типа от продолжительности заболевания и степени компенсации углеводного обмена.

Ключевые слова: костная ткань, минеральная плотность, сахарный диабет I типа, углеводный обмен.

MINERAL DENSITY OF THE BONE TISSUE IN DIABETES MELLITUS TYPE I WITH VARIOUS DURATION AND LEVEL OF CARBOHYDRATE METABOLISM COMPENSATION

M.Y. Kondratchenko

Abstract. To maintain the normal bone density in patients with diabetes mellitus I type, it is necessary to monitor the compensation of carbohydrate metabolism and select the agents, improving the structure of the bone, from the onset of the of disease.

Key words: bone, mineral density, diabetes mellitus type I, carbohydrate metabolism.

Одной из важных проблем диабетологии является разработка профилактики и лечения диабетической остеопении [1, 3, 4]. Денситометрическое измерение минеральной плотности костной ткани (МПКТ) позволяет уже на ранних

стадиях остеопороза выявить снижение минерализации костей и, следовательно, определить риск переломов [2, 5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ