

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ФОТОХИМИОТЕРАПИИ ПРИ ЛИМФОМАХ КОЖИ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ

А.В. Кильдюшевский, В.А. Федулкина, О.А. Фомина, А.М. Фомин

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)

Описан новый иммунотерапевтический метод – экстракорпоральная фотохимиотерапия. Освещены вопросы, касающиеся его применения при Т-клеточной лимфоме кожи и трансплантации солидных органов. Особое внимание уделено механизму терапевтического действия данного метода.

Ключевые слова: экстракорпоральная фотохимиотерапия, фотоферез, Т-клеточная лимфома кожи, трансплантация.

APPLICATION OF EXTRACORPOREAL PHOTOCHEMOTHERAPY IN SKIN LYMPHOMAS AND TRANSPLANTATION OF SOLID ORGANS

A.V. Kildyushevsky, V.A. Fedulkina, O.A. Fomina, A.M. Fomin

M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical Research Institute (MONIKI)

The new immunotherapeutic method is presented in the review – an extracorporeal photochemotherapy. The questions concerning its application in the T-cellular lymphoma of skin and transplantation of solid bodies are discussed. The special attention is paid to the mechanism of its therapeutic action.

Key words: extracorporeal photochemotherapy, photopheresis, T-cellular lymphoma skin, transplantation.

Экстракорпоральная фотохимиотерапия (ЭФХТ), или фотоферез, – это метод лечения, в основе которого лежит воздействие *in vitro* активированных ультрафиолетовым светом молекул 8-метоксипсоралена (8-МОП) на лимфоциты крови. ЭФХТ была предложена в 1987 г. группой исследователей Йельского университета (США) во главе с профессором R. Edelson в качестве терапии Т-клеточной лимфомы кожи (ТЛК) [20]. Применение этого метода у больных позволило добиться повышения медианы выживания вдвое. В настоящее время ЭФХТ применяется более чем в 200 медицинских центрах по всему миру. Она зарекомендовала себя как наиболее успешный и эффективный метод иммунотерапии для лечения заболеваний, обусловленных нарушением функции Т-клеточной системы иммунитета [35].

Эффективность ЭФХТ была доказана на основании принципов доказательной медицины при высокодозной химиотерапии и трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в случае развития реакции «трансплантат против хозяина» у больных гемобластозами [32], а также лечения и профилактики острого отторжения при трансплантации сердца [7]. При почечной трансплантации есть несколько со-

общений с участием около 50 пациентов, когда курсы ЭФХТ различной интенсивности были с успехом использованы для купирования устойчивых эпизодов острого отторжения [6, 17, 27, 38, 52]. Применение данного метода эффективно и при некоторых аутоиммунных заболеваниях: системном склерозе (склеродермии) [48], вульгарной пузырчатке [1], псориазе [2], ревматоидном артрите [37] и др. Все авторы подчеркивают, что при этом отсутствуют свойственные иммуносупрессии инфекционные осложнения и злокачественные новообразования.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ФОТОХИМИОТЕРАПИИ

Процедура ЭФХТ включает в себя три последовательных этапа: сбор мононуклеарных клеток (МНК), облучение этих клеток в присутствии 8-МОП ультрафиолетовым светом с длиной волны 320-400 нм и мощностью 2 Дж/см² и реинфузию облученных МНК в течение 30-40 минут [55].

Авторы этой методики совместно с фирмой Therakos разработали аппарат UVAR, в котором последовательно происходят сепарация клеток и ультрафиолетовое облучение. Сбор МНК проводится ме-

тодом прерывистого разделения клеток из вены. Вся процедура состоит из 6 (при емкости колокола 125,0 мл) или 3 (при емкости колокола 250,0 мл) циклов. В ходе процедуры лейкоциты собирали и облучали в специальной камере, интегрированной в тот же аппарат. В первых исследованиях больные принимали внутрь фотосенсибилизирующий препарат 8-МОП из расчета 0,6 мг/кг массы тела за 1-2 часа до сбора МНК. Впоследствии с целью стандартизации концентрации фотоактивных препаратов и уменьшения частоты побочных эффектов (тошнота, рвота), обусловленных этими препаратами, были разработаны жидкие формы (UVADEX от Therakos и EC-8-МОП от Gerot Pharmaceutical), которые применяются в низкой концентрации (200 нг/мл) и добавляются непосредственно в суспензию выделенных клеток.

В 1994 г. G. Andreu и соавт. [4] предложили изменения в процедуре проведения ЭФХТ: первый шаг – сбор МНК – выполнялся с использованием клеточного сепаратора непрерывного действия (Gambro Spectra), затем в собранную клеточную фракцию добавляли 200 нг/мл 8-МОП и переводили ее в специальный пластиковый контейнер (Macopharma) с последующим ультрафиолетовым облучением в специализированных устройствах (UV-Matic, Vilber-Lourmat). Этот метод был назван техникой offline в отличие от техники online, предложенной фирмой Therakos, которая впоследствии разработала новую оригинальную версию устройства: полностью автоматизированную с непрерывным потоком крови машину UVAR®XTSTM, оснащенную ротором 120 или 225 мл.

Метод offline стал очень популярным, особенно в Европе, за счет своей простоты, доступности и безопасности даже в педиатрической практике [46, 51]. Более того, этот метод обеспечивает гематокрит менее 2% при оптимальной концентрации МНК, что имеет особое значение, так как более высокие концентрации эритроцитов, перекрывая спектр излучения, снижают эффективность процедуры. Следует отметить, что объем собранного продукта обычно больше при использовании устройств UVAR XTS (от 280 до 540 мл) по сравнению с методом offline (50-150 мл) [47]. Кроме того, данный метод позволяет более точно контролировать клеточный состав собранных МНК и их дифференциальный подсчет, что имеет важное значение с клинической точки зрения.

В последние годы в соответствии с правилами Европейского союза о медицинском оборудовании постепенно внедряются в практику такие UVA-облучатели, как Macogenic фирмы Macopharma и UVA Photo Immune Therapy System фирмы Med Tech Solutions, которые позволяют полностью отслеживать процедуру облучения и имеют маркировку CE.

В своем первом отчете об эффективности ЭФХТ при ТЛК R.L. Edelson и соавт. показали, что из 37 паци-

ентов у 29 с эритродермической стадией заболевания (73%) было отмечено улучшение состояния кожного покрова более чем на 25%. У 83% пациентов с эритродермией был достигнут положительный клинический ответ. У больных с опухолевой и бляшечной формой заболевания клинический ответ был отмечен в 38% случаев. Полная клиническая ремиссия наблюдалась у 6 пациентов и продолжалась 5-7 лет [40]. Аналогичные результаты были достигнуты G. Crovetti и соавт. при обследовании 30 пациентов. Положительный клинический ответ был получен у 16 из 21 больного грибовидным микозом (81%) и у 6 из 9 больных с синдромом Сезари (66%) [16]. В 2003 г. R. Knobler и соавт., проанализировав данные 448 больных с ТЛК, подвергнутых ЭФХТ, сообщили, что общий показатель положительного эффекта составляет 61% [36]. Все процедуры ЭФХТ проводили при помощи метода online, в ходе которого выделяли и обрабатывали около 5-10% циркулирующих Т-клеток от общего объема.

Таким образом, как показывают большинство авторов, больным ТЛК при прогрессировании патологического процесса, резистентности к ранее проводимой терапии и неблагоприятном прогнозе ЭФХТ в виде монотерапии или в сочетании с другими видами иммунотерапии обеспечивает выраженную клиническую эффективность с существенным увеличением продолжительности ремиссии и выживания больных.

Тем не менее разная степень клинического ответа у больных послужила основанием для выявления прогностических факторов благоприятного ответа [8, 22, 54]. К ним относятся:

- короткая продолжительность заболевания (не более двух лет);
- отсутствие выраженной лимфаденопатии или вовлечения внутренних органов;
- лейкоцитоз, не превышающий 20 000 мм³;
- наличие определенного уровня клеток Сезари (10-20%);
- количество естественных киллерных клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов в пределах нормы;
- отсутствие предшествующей интенсивной химиотерапии;
- площадь поражения кожного покрова не более 10-15% от общей поверхности кожи.

Хотя эти критерии и полезны в определении вероятности лучшего ответа на ЭФХТ, они не являются абсолютными, и некоторые больные, не соответствующие этим критериям, также могут иметь положительный ответ. Основным фактором успешного лечения служит достаточная реакция иммунного ответа против злокачественных клеток, которые подверглись фотоактивации.

Учитывая очень низкий уровень побочных эффектов ЭФХТ по сравнению с другими методами лечения и её эффективность в развернутых стадиях заболевания, этот способ также показан на ранних стадиях [42, 58].

Европейская организация по исследованию и лечению рака (EORTC) в 2006 г. рекомендовала в качестве первой линии лечения грибвидного микоза и синдрома Сезари [59] метод ЭФХТ. В 2008 г. аналогичное заключение было опубликовано группой экспертов по использованию ЭФХТ в Великобритании [54] и Национальным институтом рака США (в руководстве по лечению грибвидного микоза и синдрома Сезари) [60]. Такой же стратегии придерживается и Ассоциация научных медицинских обществ Германии, которая рекомендовала проведение ЭФХТ в качестве терапии первой линии при эритродермическом варианте грибвидного микоза III, IVA1, IVA2 стадии и синдроме Сезари [57].

Большинство авторов рекомендуют проводить лечение 2 дня подряд каждые 2 недели в течение первых 3 месяцев, затем 1 раз в месяц. Эффективность терапии следует оценивать не ранее 6 месяцев с момента её начала [54].

МЕХАНИЗМ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ФОТОХИМИОТЕРАПИИ ПРИ Т-КЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ КОЖИ

Хотя ЭФХТ применяется в клинической практике уже более 25 лет и широко используется при различных клинических состояниях, механизм её действия остается до конца не изученным. На сегодняшний день наиболее приемлемая теория, объясняющая механизм действия ЭФХТ при опухолевых процессах, – вакцинная. Первоначальные исследования показали, что этот метод способствует индукции апоптоза в лимфоцитах, которые впоследствии приводят к терапевтическому эффекту [28]. Молекула 8-МОП напоминает по структуре пару комплементарных оснований ДНК. Такая пространственная организация способствует интеркаляции между ними этой молекулы. Под воздействием ультрафиолетового света молекула 8-МОП переходит в электронно-возбужденное состояние и ковалентно связывает комплементарные нити тиминовых оснований ДНК, нарушая тем самым процессы репликации и запуская процессы запрограммированной гибели опухолевых клеток (апоптоза). С другой стороны, в течение этой процедуры происходит активация моноцитов с трансформацией их в агрессивные фагоцитарные незрелые дендритные клетки (ДК). Далее незрелые ДК вместе с большим количеством опухолевых клеток с индуцированными процессами апоптоза возвращаются в организм пациента, где апоптотические фрагменты подвергаются фагоцитозу со стороны ДК. Затем эти клетки трансформируются в зрелые профессиональные антигенпрезентирующие клетки, представляя опухоль-ассоциированные антигены в контексте с молекулами главного комплекса гистосовместимости Т-клеточным рецепторам на наивных Т-лимфоцитах в присутствии коактиваци-

онных факторов в цитокиновом микроокружении. В результате активации лимфоцитов происходит их пролиферация с выработкой клона специфических противоопухолевых эффекторных Т-лимфоцитов и последующим киллингом опухолевых клеток путем запуска процессов индуцированного гранзимзависимого апоптоза [9, 50, 26]. Таким образом достигается выраженный протективный противоопухолевый иммунный ответ [29].

В последних исследованиях было показано, что ЭФХТ инициирует клеточные механизмы дифференцировки, обусловленные выпуском различных цитокинов. В первую очередь к ним относятся фактор некроза опухоли- α и ИЛ-6, которые индуцируют активацию CD36-позитивных макрофагов [25]. Известно, что при ТЛК характерны иммунологические изменения, обусловленные дисбалансом Th1/Th2, который включает повышенное высвобождение ИЛ-4 и ИЛ-5, снижение активности естественных киллерных клеток и цитотоксичности CD8-позитивных Т-клеток. В исследовании пациентов с ТЛК M. Di Renzo и соавт. наблюдали не только увеличение CD36-положительных моноцитов в периферической крови, но и изменения профиля цитокинов [18]. Это означает, что ЭФХТ восстанавливает равновесие Th1/Th2 у больных ТЛК.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ

Стратегии, направленные на сведение к минимуму повреждения органов донора и индукции иммунологической толерантности, – одно из важнейших направлений исследований в области трансплантации в течение последнего десятилетия. Основываясь на данных реестра Международного общества трансплантации сердца и легких (ISHLT), в 2010 г. было выполнено более 2700 процедур трансплантации легких [14]. При этом, несмотря на использование более агрессивных иммуносупрессивных режимов, развитие острого и хронического отторжения продолжает оказывать негативное воздействие на выживание реципиентов в отдаленном периоде после трансплантации. По приведенным оценкам, острое отторжение легочного трансплантата происходит у 30-50% реципиентов, являясь одним из основных факторов риска развития хронического отторжения, которое остается наиболее распространенной причиной смерти в течение первого года после трансплантации. Облитерирующий бронхиолитический синдром представляет собой хроническое отторжение трансплантата и возникает у более чем 60% выживших реципиентов через 5-10 лет после трансплантации легких [21].

Глобальная иммуносупрессия в трансплантологии способствует существенному сокращению случаев отторжения пересаженных органов, но в то же время ингибирует и регуляторные механизмы, играющие важную роль в поддержании толерантности, в связи

с чем повышается восприимчивость пациентов к различным оппортунистическим инфекциям и злокачественным заболеваниям.

Первое проведение ЭФХТ при трансплантации легких было выполнено в 1995 г. по поводу острого отторжения, когда обычные методы лечения не дали адекватного ответа у реципиентов с выраженным инфекционным процессом. Улучшение клинических симптомов было отмечено уже через 3 недели, гистологических – через 4 [4]. Важно отметить, что ЭФХТ не сопровождалась повышенным риском развития инфекции. В том же году применение данного метода позволило стабилизировать деградацию легочной функции у трех пациентов с хроническим отторжением легких, резистентных к иммуносупрессивной терапии [56].

В 1998 г. был опубликован отчет о проведении многоцентровых клинических исследований в 12 крупнейших кардиологических центрах мира по изучению эффективности ЭФХТ при трансплантации сердца [7]. На основании принципов доказательной медицины авторы пришли к выводу, что ЭФХТ является разумным и необходимым методом лечения острого отторжения сердечного трансплантата и существенным фактором снижения количества эпизодов острого отторжения. На основании этого были разработаны показания для применения ЭФХТ при трансплантации сердца: профилактика и лечение острого отторжения, снижение риска отторжения у больных высокого иммунологического риска, уменьшение интимальной гиперплазии трансплантата сердца, редукция иммуносупрессивной терапии. В отличие от стандартных протоколов иммуносупрессии ЭФХТ призвана сохранить баланс между иммунологической толерантностью и достаточным физиологическим ответом против различных патогенов. Немногочисленные публикации в мировой литературе по анализу эффективности данного метода в комплексной терапии острого отторжения почечного аллотрансплантата свидетельствуют о его положительном воздействии на купирование клинических и иммунологических симптомов отторжения, что создает благоприятные условия для редукции иммуносупрессивной терапии и снижения риска возникновения инфекционных осложнений.

R. Dall'Amico и соавт. опубликовали сообщение об успешном применении ЭФХТ в качестве дополнительного способа купирования повторных рефрактерных эпизодов острого отторжения почки [17]. Отторжение купировано у 3 из 4 больных. Почечная функция у них оставалась неизменной в течение 1 года. 1 пациент не ответил на лечение и был переведен на гемодиализ. В заключении авторы отмечают, что ЭФХТ селективно ингибирует чужеродные антигены главного комплекса гистосовместимости и реверсирует симптомы отторжения при аллогенной трансплантации. Эти

авторы признали ЭФХТ эффективным и безопасным методом для пациентов с почечной трансплантацией при повторных эпизодах отторжения, не отвечающих на стандартную иммуносупрессию. При анализе биопсийного материала они отмечали существенное уменьшение лимфоидной инфильтрации паренхимы почки после проведенного курса терапии.

В одном из последних исследований эффективности ЭФХТ при аллогенной трансплантации почки, проведенных авторами из Сиднея и опубликованных в 2009 г., было установлено, что у 10 пациентов с повторным отторжением почечного трансплантата, резистентных ко всем видам терапии, после курса ЭФХТ отторжение было купировано: 6 имеют стабильную функцию трансплантата в течение 71 месяца, 4 впоследствии умерли (1 – сепсис, 2 – опухоль, 1 – потеря трансплантата из-за возвратного гломерулонефрита). Повторных отторжений не наблюдалось. Таким образом, авторы пришли к заключению, что ЭФХТ может иметь значение в качестве адъювантной терапии или как метод выбора для предотвращения отторжения при пересадке солидного органа.

На основании полученных результатов большинство авторов были единодушны во мнении, что показаниями для проведения ЭФХТ при трансплантации почки являются: острое отторжение, повторное/рефрактерное отторжение с целью возможного уменьшения объема лекарственной иммуносупрессии, а также профилактика отторжения трансплантируемого органа.

Нами было проведено сравнительное проспективное исследование модифицированной методики ЭФХТ, в которую мы добавили 90-минутный инкубационный период выделенных МНК в присутствии ИЛ-4 и макрофагального колониестимулирующего фактора. Данную модификацию мы назвали трансляционной клеточной иммунотерапией (ТКИ). В исследование вошли 42 реципиента после аллогенной трансплантации трупной почки, выделенные в две группы: основную и контрольную, по 21 пациенту в каждой, трансплантируемый орган у которых был парным (от одного донора). Всем 42 реципиентам в посттрансплантационном периоде проводили стандартную трёхпрепаратную иммуносупрессивную терапию, а больным основной группы – дополнительно процедуры ТКИ [3].

При анализе полученных результатов лечения было установлено, что у 5 из 21 реципиента контрольной группы в ранние сроки после аллотрансплантации трупной почки при протокольной биопсии наблюдалось острое отторжение трансплантата, которое у двух пациентов привело к трансплантатэктомии в первые 30 дней после трансплантации. Еще у одного больного через 6 месяцев после аллотрансплантации развился фокально-сегментарный гломерулосклероз,

закончившийся трансплантатэктомией, и у одного – тромбоз почечных сосудов, также закончившийся трансплантатэктомией. В основной группе ни у одного из пациентов при проведении протокольной биопсии почечного аллотрансплантата не было выявлено патологических изменений, свойственных реакции острого отторжения.

При изучении параметров, характеризующих функциональное состояние почек, было установлено, что наиболее адекватное восстановление функциональных свойств почки было отмечено у реципиентов основной группы к 6-му месяцу после трансплантации. При иммунологическом обследовании было зафиксировано, что в процессе ТКИ происходит достоверное снижение плотности экспрессии рецепторов коактивации CD27 и CD28 на наивных Т-лимфоцитах в отличие от контрольной группы. Таким образом, наивные Т-лимфоциты CD4 приобретают толерогенный иммунофенотип: CD3+CD4+CD27-CD28-CD45RO-.

Учитывая, что исследуемый материал представлял парные почки, а возраст, длительность предтрансплантационного периода и сопоставимость по HLA-антигенам существенно не различались между двумя исследуемыми группами, полученные данные являются наиболее убедительными и достоверными.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ФОТОХИМИОТЕРАПИИ И ТРАНСЛЯЦИОННОЙ КЛЕТочНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

Данные литературы, свидетельствующие о положительном клиническом эффекте ЭФХТ при реакции «трансплантат против хозяина», отторжении солидных органов при аллогенной трансплантации и различных аутоиммунных заболеваниях, не могут объяснить механизм такого действия с точки зрения вакцинной теории. В этой связи нами высказано предположение, что ЭФХТ и ТКИ в отличие от иммуносупрессивных схем не вызывают глобальную иммуносупрессию, а индуцируют иммунологическую толерантность к презентуемым донорским антигенам. Это согласуется и с мнением других авторов [13].

Высказываются предположения, что терапевтический эффект ЭФХТ работает посредством индукции регуляторных Т-клеток, не сопровождающейся тотальной иммуносупрессией. Эти клетки экспрессируют CD4, CD25, CTLA-4 и фактор транскрипции Foxp3. Благодаря этому они способны подавлять ауто- и аллореактивные клоны цитолитических лимфоцитов, играя тем самым роль периферической иммунологической толерантности [41].

Тем не менее конкретные механизмы действия ЭФХТ при трансплантации органов и тканей, а также при аутоиммунных заболеваниях до сих пор остаются недостаточно изученными [30, 45] и противоречивы-

ми, при этом отсутствует стройная, интегрирующая все эти факторы концепция, раскрывающая процесс формирования восприятия иммунной системой реципиента донорских антигенов. Это свидетельствует о том, что предлагаемые теории не объясняют в полной мере механизмы индукции стойкого и выраженного адаптивного действия по отношению к чужеродным антигенным структурам, а выраженный клинический эффект – о наличии нераскрытых потенциальных возможностей данного метода лечения.

В проведенном нами исследовании мы попытались изучить формирование процессов толерантности к чужеродным антигенам с точки зрения воздействия данной процедуры на модуляцию рецепторно-лигандного взаимодействия в процессе презентации донорских антигенных пептидов наивным Т-лимфоцитам реципиента. Ранее было показано, что блокада коактиваторных молекул (CD28-CD80/CD86) препятствует острой реакции отторжения трансплантата и индуцирует донор-специфическую толерантность в экспериментальных моделях на животных [43, 44, 53]. Кроме того, блокада коактиваторного сигнального пути предотвращает развитие [5, 12, 49] и прерывает прогрессирование хронического отторжения при незначительных антиген-несовпадающих трансплантационных моделях (minor antigen-mismatched) [33].

Один из наиболее перспективных новых иммуносупрессивных препаратов, блокирующий 2-й коактивационный сигнальный путь, – Belatacept, вариант CTLA-4Ig, прошедший III фазу клинических исследований при трансплантации почки. Исследования показали его выраженный иммуносупрессивный эффект с меньшей вероятностью развития хронической нефропатии аллотрансплантата [19, 24]. Связываясь с молекулами B7, CTLA-4Ig нарушает взаимодействие между B7 и CD28 и, как следствие, блокирует сигнал от CD28 с проявлением иммуносупрессорной активности. Однако, поскольку одновременно ингибируется взаимодействие между B7 и CTLA-4, сигнал от CTLA-4, отрицательно воздействующий на активацию Т-клеток, также подавляется, и в итоге желаемая толерантность не достигается [34].

Накопленные данные свидетельствуют о том, что блокада коактивационных рецепторов или их лиганд не позволит в должной степени индуцировать процессы иммунологической толерантности к презентуемым аллоантигенам при трансплантации. Наиболее радикальным методом может быть путь снижения секреции иммунорецепторов CD28 на поверхности наивных Т-лимфоцитов и переключения активации на коингибиторный сигнал CTLA-4.

В нашем исследовании было установлено, что в результате ТКИ происходит не только уменьшение количества Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD28, по сравнению с исходными показателями, но и сни-

жение средней интенсивности флюоресценции этого антигена на поверхности клеток, что косвенно указывает на уменьшение плотности его экспрессии. В контрольной группе, несмотря на проведение иммуносупрессивной терапии, наблюдалось увеличение количества клеток, экспрессирующих этот антиген, а также возрастание средней интенсивности флюоресценции CD28. В связи с этим можно предположить, что в процессе ТКИ молекула 8-МОП, обладая высокой авидностью к пиримидиновым основаниям нуклеиновых кислот, интеркалирует между тимином со стороны информационной ДНК и урацилом со стороны транскрибируемой первичной мРНК тех молекул, которые подвержены наиболее интенсивной транскрипции, в данном случае – CD28. В результате образования прочных перекрестных связей процесс транскрипции мРНК может быть прерван, что приводит к уменьшению трансляции соответствующего белка. При недостаточном количестве перекрестных связей для прерывания транскрипции первичная мРНК может иметь дефект, проявляющийся в первую очередь в тех экзонах, которые кодируют трансмембранный домен молекулы CD28. В результате синтезируется растворимая (секретируемая) форма sCD28 с делетированным вследствие альтернативного сплайсинга трансмембранным доменом.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что воздействие 8-МОП в сочетании с ультрафиолетовым облучением лучами спектра А на выделенные лимфоциты обуславливает в активированных клетках негативную регуляцию гена CD28 на транскрипционном и, возможно, трансляционном уровнях. В свою очередь, sCD28 выступает в качестве конкурента со своим мембранным аналогом за связь с B7. Впоследствии при отсутствии сигнала, генерируемого рецептором CD28, наивные CD4-позитивные Т-лимфоциты формируют фенотип Th1 с негативной регуляцией цитокинов, являющихся медиаторами гуморального ответа, синтезом противовоспалительных цитокинов и дестабилизацией в цитолитических Т-лимфоцитах мРНК bcl-xt, с которой транслируется белок, предотвращающий апоптоз. Отсутствие костимуляторного сигнала приводит к наступлению клональной анергии и индукции молекул, ассоциированных с апоптозом.

Полученные данные согласуются с результатами исследований M. Kuztal и соавт., которые изучали факторы, влияющие на интенсивность отторжения почечного аллотрансплантата в зависимости от возраста реципиента. Известно, что риск потери трансплантата в результате острой реакции отторжения уменьшается с возрастом: чем старше пациент, тем вероятность реакции отторжения меньше [10, 23]. Имеются также данные, свидетельствующие о том, что экспрессия CD28 на наивных CD4 и CD8 Т-лимфоцитах значительно снижена у пожилых лиц [11, 15, 31, 61]. Авторы

обнаружили обратную достоверную корреляционную зависимость между возрастом и экспрессией CD28 и прямую с CTLA-4. Снижение экспрессии CD28 и повышение CTLA-4 на наивных Т-лимфоцитах у пациентов старшей возрастной группы обуславливают лучшую приживляемость трансплантата с уменьшением эпизодов острого отторжения [39].

Полученные нами результаты находят свое подтверждение в анализе динамики экспрессии соответствующих маркеров, определяющих функциональное состояние и дифференцировку Т-лимфоцитов в процессе проведенного лечения. Относительное и абсолютное количество эффекторных цитолитических CD8+CD45RO- клеток уменьшилось в среднем на 18% спустя 1 месяц после трансплантации. Эта тенденция сохранялась через 3 и 6 месяцев. В контрольной группе, несмотря на проводимую иммуносупрессию, количество эффекторных цитолитических клеток возросло в среднем на 17%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ТКИ может служить ценным дополнением к стандартному протоколу иммуносупрессивной терапии в качестве профилактики острой реакции отторжения при почечной аллотрансплантации путем индукции антиген-специфического ингибирования эффекторных Т-клеточных функций и формирования процессов иммунологической толерантности к антигенам донорского органа. Дальнейший прогресс в этой области может быть связан с широким изучением молекулярно-генетических, иммунологических и биохимических механизмов отторжения аллогенных трансплантатов, которые позволят глубже понять процессы Т-клеточной коактивации с учетом значения дополнительных молекул и «резервных» механизмов коактивации. Фундаментальные исследования, лежащие в основе формирования механизма отторжения аллогенных органов и генерации процессов иммунологической толерантности, создадут благоприятные предпосылки к возможности манипулирования этими процессами на уровне транскрипции иммунорегуляторных цитокинов и трансляции белковых молекул, участвующих в межклеточном взаимодействии и апоптозе.

Совершенствование на этой основе процедуры проведения ЭФХТ и ТКИ как наиболее успешных на сегодняшний день методов адоптивной клеточной иммунотерапии позволит приблизиться к решению не только проблемы отторжения в трансплантологии, но и ряда дополнительных задач. Отсутствие инфильтрации интерстиция трансплантата клетками иммунной системы реципиента позволит редуцировать общую иммуносупрессивную нагрузку, что существенно снизит вероятность развития инфекционных осложнений, опухолевых заболеваний и некротической гибели ткани почки. Уменьшение вероятности развития

данных осложнений должно в конечном счете привести к увеличению продолжительности жизни донорского органа, улучшению качества и продолжительности жизни пациента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кильдюшевский А.В., Молочков В.А., Карзанов О.В. Динамика клеточного иммунитета в процессе экстракорпоральной фотохимиотерапии у больных истинной пузырчаткой // Рос. журн. кожно-венерич. бол. 2008. №4. С.71-76.
2. Молочков В.А., Кильдюшевский А.В., Молочков А.В. и др. Клинико-иммунологические аспекты экстракорпоральной фотохимиотерапии при псориазе и псориатрическом артрите // Тер. арх. 2012. №10. С.69-74.
3. Федулкина В.А., Ватазин А.В., Кильдюшевский А.В. и др. Трансляционная клеточная иммунотерапия при аллотрансплантации трупной почки у урологических больных // Альм. клин. мед. 2013. №28. С.25-31.
4. Andreu G., Leon A., Heshmati F. et al. Extracorporeal photochemotherapy (ECP): evaluation of two techniques and use in connective tissues disorders // Transfus. Sci. 1994. V.15. P.443-454.
5. Azuma H., Chandraker A., Nadeau K. et al. Blockade of T-cell costimulation prevents development of experimental chronic renal allograft rejection // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1996. V.93. P.12439-12444.
6. Baron E.D., Heeger P.S., Hreecik D.E. et al. Immunomodulatory effect of extracorporeal photopheresis after successful treatment of resistant Renal allograft rejection // Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. 2001. V.17. P.79-82.
7. Barr M.L. et al. Photopheresis for the prevention of rejection in cardiac transplantation // N. Engl. J. Med. 1998. V.339. P.1744-1751.
8. Berger C., Hoffmann K., Vasquez J.G. et al. Rapid generation of maturationally synchronized human dendritic cells: contribution to the clinical efficacy of extracorporeal photochemotherapy // Blood. 2010. V.116. P.4838-4847.
9. Berger C.L., Hanlon D., Kanada D. et al. Transimmunization, a novel approach for tumor immunotherapy // Transfus. Apher. Sci. 2002. V.26, No.3. P.205-216.
10. Berthouix F.C., Jones E.H., Mehls O., Valderrabano F. Transplantation Report. 1: renal transplantation in recipients aged 60 years or older at time of grafting. The EDTAERA Registry. European Dialysis and Transplant Association-European Renal Association // Nephrol. Dial. Transplant. 1996. V.11, Suppl. P.37.
11. Brzezinska A., Magalska A., Szybinska A., Sikora E. Proliferation and apoptosis of human CD8(+)CD28(+) and CD8(+)CD28(-) lymphocytes during aging // Exp. Gerontol. 2004. P.539.
12. Chandraker A., Russell M.E., Glysing-Jensen T. et al. T-cell costimulatory blockade in experimental chronic cardiac allograft rejection: Effects of cyclosporine and donor antigen // Transplantation. 1997. V.63. P.1053-1058.
13. Chang-Qing X., Campbell K.A., Clare-Salzler M.J. Extracorporeal photopheresis-induced immune tolerance: a focus on modulation of antigen-presenting cells and induction of regulatory T cells by apoptotic cells // Cur. Opin. Organ Transplant. 2009. V.14, No.4. P.338-343.
14. Christie J.D., Edwards L.B., Kucheryavaya A.Y. et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-seventh official adult lung and heart-lung transplant report-2010 // J. Heart Lung Transplant. 2010. V.29, No.10. P.1104-1118.
15. Colombatti A., Doliana R., Schiappacassi M. et al. Age-related persistent clonal expansions of CD28(-) cells: phenotypic and molecular TCR analysis reveals both CD4(+) and CD4(+)CD8(+) cells with identical CDR3 sequences // Clin. Immunol. Immunopathol. 1998. V.89. P.61-68.
16. Crovetti G., Carabelli A., Berti E. et al. Photopheresis in cutaneous T-cell lymphoma: a five-year experience // Int. J. Artif. Organs. 2000. V.23. P.55-62.
17. Dall'Amico R., Murer L. Extracorporeal photochemotherapy: a new therapeutic approach for allograft rejection // Transfus. Apher. Sci. 2002. V.26. P.197-204.
18. Di Renzo M., Rubegni P., De Aloe G. et al. Extracorporeal photochemotherapy restores Th1/Th2 imbalance in patients with early stage cutaneous T-cell lymphoma // Immunology. 1997. V.92, No.1. P.99-103.
19. Durrbach A. Advances in immunosuppression for renal transplantation // Nat. Rev. Nephrol. 2010. V.6. P.160-167.
20. Edelson R.L., Berger C.L., Gasparro F.P. et al. Treatment of leukemic cutaneous T-cell lymphoma with extracorporeally photoactivated 8-methoxypsoralen // N. Engl. J. Med. 1987. V.316. P.297-303.
21. Estenne M., Maurer J.R., Boehler A. et al. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria // J. Heart Lung Transplant. 2002. V.21, No.3. P.297-310.
22. Evans A.V., Wood B.P., Scarisbrick J.J. et al. Extracorporeal photopheresis in Sezary syndrome: hematologic parameters as predictor of response // Blood. 2001. V.98. P.1298-1301.
23. Fenton S., Desmeules M., Copleston P. et al. Renal replacement therapy in Canada: a report from the Canadian Organ Replacement Register // Am. G. Kidney Dis. 1995. V.25. P.134.
24. Ferguson R., Grinyó J., Vincenti F. et al. Immunosuppression with Belatacept-Based, Corticosteroid-Avoiding Regimens in De Novo Kidney Transplant Recipients // Am. J. Transplant. 2011. V.11, No.1. P.66-76.

25. *Fimiani M., Rubegni P., Pimpinelli N.* et al. Extracorporeal photochemotherapy induces a significant increase in CD36+ circulating monocytes in patients with mycosis fungoides // *Dermatology*. 1997. V.194, No.2. P.107-110.
26. *Francine M.* New insights into the mechanism of action of extracorporeal phototherapy // *Transfusion*. 2006. V.46. P.6-8.
27. *Genberg H., Kumlien G., Shanwell A., Tyden G.* Refractory acute renal allograft rejection successfully treated with photopheresis // *Transplant. Proc.* 2005. V.37. P.3288-3289.
28. *Gerber A., Bohne M., Rasch J.* et al. Investigation of annexin V binding to lymphocytes after extracorporeal photoimmunotherapy as an early marker of apoptosis // *Dermatology*. 2000. V.201, No.2. P.111-117.
29. *Girardi M., Berger C.L., Wilson L.D.* et al. Transimmunization for cutaneous T cell lymphoma: a Phase I study // *Leuk. Lymphoma*. 2006. V.47, No.8. P.1495-1503.
30. *Heshmati F.* Mechanisms of action of extracorporeal photochemotherapy // *Transfus. Apher. Sci.* 2003. V.29. P.61-70.
31. *Hsu H.C., Scott D.K., Zhang P.* et al. CD8 T-cell immune phenotype of successful aging // *Mech. Ageing Dev.* 2006. P.127-231.
32. *Jagasia M.H., Savani B.N., Stricklin G.* et al. Classic and overlap chronic graft-versus-host disease (cGVHD) is associated with superior outcome after extracorporeal photopheresis (ECP) // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009. V.15, No.10. P.1288-1295.
33. *Kim K.S., Denton M.D., Chandraker A.* et al. CD28-B7-mediated T cell costimulation in chronic cardiac allograft rejection: Differential role of B7-1 in initiation versus progression of graft arteriosclerosis // *Am. J. Pathol.* 2001. V.158. P.977-986.
34. *Kirk A.D., Harlan D.M., Armstrong N.N.* et al. CTLA4-Ig and anti-CD40 ligand prevent renal allograft rejection in primates // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1997. V.94. P.8789-8794.
35. *Knobler R., Barr M.L., Couriel D.R.* et al. Extracorporeal photopheresis: past, present, and future // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2009. V.61, No.4. P.652-665.
36. *Knobler R., Jantschitsch C.* Extracorporeal photochemoimmunotherapy in cutaneous T-cell lymphoma // *Transfus. Apher. Sci.* 2003. V.28. P.81-89.
37. *Knobler R.M., Graninger W., Lindmaier A.* et al. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of systemic lupus erythematosus, a pilot study // *Arthrit. Rheum.* 1992. V.35. P.319-323.
38. *Kumlien G., Genberg H., Shanwell A., Tyden G.* Photopheresis for the treatment of refractory renal graft rejection // *Transplantation*. 2005. V.79, No.1. P.123-125.
39. *Kusztal M., Kosmaczewska A., Magott-Procelewska M.* et al. CD28 down regulation on CD4+ T cells is associated with age of kidney transplant recipient // *Transplantation*. 2008. V.21, No.7. P.661-668.
40. *Lim H.W., Edelson R.L.* Photopheresis for the treatment of cutaneous T-cell Lymphoma // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 1995. V.9. P.1117-1124.
41. *Maeda A., Beisert S., Schwarz T., Schwarz A.* Phenotypic and functional characterization of ultraviolet radiation-induced regulatory T cells // *J. Immunol.* 2008. V.180, No.5. P.3065-3071.
42. *Miller J.D., Kirkland E.B., Domingo D.S.* et al. Review of extracorporeal photopheresis in early-stage (IA, IB, and IIA) cutaneous T-cell lymphoma // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 2007. V.23, No.5. P.163-171.
43. *Pearson T., Alexander D., Hendrix R.* et al. CTLA4-Ig plus bone marrow induces long-term allograft survival and donor specific unresponsiveness in the murine model. Evidence for hematopoietic chimerism // *Transplantation*. 1995. V.61. P.997-1004.
44. *Pearson T.C., Alexander D.Z., Winn K.J.* et al. Transplantation tolerance induced by CTLA4-Ig // *Transplantation*. 1994. V.57. P.1701-1706.
45. *Peritt D.* Potential mechanisms of photopheresis in hematopoietic stem cell transplantation // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2006. V.12. P.7-12.
46. *Perseghin P., Dassi M., Balduzzi A.* et al. Mononuclear cell collection in patients undergoing extracorporeal photochemotherapy for acute and chronic graft-versus-host disease (GvHD): comparison between COBE Spectra version 4.7 and 6.0 (Auto PBSC) // *J. Clin. Apher.* 2002. V.17. P.65-71.
47. *Perseghin P., Galimberti S., Balduzzi A.* et al. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of chronic graft-versus-host disease: trend for a possible cell dose-related effect? // *Ther. Apher. Dial.* 2007. V.11. P.85-93.
48. *Rook A.H., Freundlich B., Jegasothy B.V.* et al. Treatment of systemic sclerosis with extracorporeal photochemotherapy. Results of a multicenter trial // *Arch. Dermatol.* 1992. V.128, No.3. P.337-346.
49. *Russell M.E., Hancock W.W., Akalin E.* et al. Chronic cardiac rejection in the LEW to F344 rat model. Blockade of CD 28:B7 costimulation by CTLA4Ig modulates T cell and macrophage activation and attenuates arteriosclerosis // *J. Clin. Invest.* 1996. V.97. P.833-838.
50. *Salskov-Iversen M., Berger C.L., Edelson R.L.* Rapid construction of a dendritic cell vaccine through physical perturbation and apoptotic malignant T cell loading // *J. Im. Bas. Ther. Vac.* 2005. V.10. P.1186-1476.

51. *Salvaneschi L., Perotti C., Zecca M. et al.* Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of acute and chronic GVHD in childhood // *Transfusion*. 2001.V.41. P.1299-1305.
52. *Sander-Plassman G., Druml W., Steininger R. et al.* Renal allograft rejection controlled by photopheresis // *Lancet*. 1995. P.346-506.
53. *Sayegh M.H., Akalin E., Hancock W.W. et al.* CD28-B7 blockade after alloantigenic challenge in vivo inhibits Th1 cytokines but spares Th2 // *J. Exp. Med.* 1995. V.181. P.1869-1874.
54. *Scarisbrick J.J., Taylor P., Holtick U. et al.* U.K. consensus statement on the use of extracorporeal photopheresis for treatment of cutaneous T-cell lymphoma and chronic graft-versus-host disease // *Br. J. Dermatol.* 2008. V.158, No.4. P.659-678.
55. *Schooneman F.* Extracorporeal photopheresis technical aspects // *Transfus. Apher. Sci.* 2003. V.28. P.51-61.
56. *Slovis B.S., Loyd J.E., King L.E.* Photopheresis for chronic rejection of lung allografts // *N. Engl. J. Med.* 1995. V.332, No.14. P.962-968.
57. *Stadler R., Assaf C., Klemke C. et al.* S2k Kurzleitlinie Kutane Lymphome. AWMF, 2012.
58. *Talpur R., Demierre M.F., Geskin L. et al.* Multicenter photopheresis intervention trial in early-stage mycosis fungoides // *Clin. Lymph. Myel. Leuk.* 2011. V.11, No.2. P.219-227.
59. *Trautinger F., Knobler R., Willemze R. et al.* EORTC consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sezary syndrome // *Eur. J. Cancer.* 2006. V.42, No.8. P.1014-1030.
60. US National Institutes of Health NCI. Mycosis fungoides and the Sezary syndrome treatment (PDQ). Available at: www.nci.nih.gov/cancertopics/pdq/treatment/mycosisfungoides/healthprofessional/allpages.
61. *Warrington K.J., Vallejo A.N., Weyand C.M., Goronzy J.L.* CD28 loss in senescent CD4+ T cells: reversal by interleukin-12 stimulation // *Blood*. 2003. V.101. P.3543.