

Ю.В. СКВОРЦОВА, к.м.н., Д.Н. БАЛАШОВ, д.м.н., В.М. ДЕЛЯГИН, д.м.н., профессор

Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва

# БОЛЕЗНЬ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА

## ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ДЕТЕЙ

Ежегодно в мире совершается не менее 60 тыс. трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Исход ТГСК во многом определяется вероятностью развития и степенью тяжести реакции (болезни) трансплантат против хозяина (РТПХ). Лечение включает в себя кортикоэстериоиды. При стероид-рефрактерной РТПХ используются антитимоцитарный глобулин, экстракорпоральный фототерапев, моноклональные антитела к интерлейкинам или их рецепторам, метатрексат, циклоспорин, таクロимус, сиролимус, антитимоцитарный глобулин и др. Привлекает внимание назначение мифефеномата мофетила, эфира мифефенольной кислоты, блокирующего пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. Существует мнение, что у пациентов, рефрактерных к кортикоэстериодам, оправданно применение мифефеномата мофетила изолированно или в сочетании с циклоспорином, таクロимусом.

### **Ключевые слова:**

трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

реакция трансплантат против хозяина

патогенез, клиника, лечение

**В** настоящее время трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является актуальным способом лечения многих заболеваний, ранее приводивших к летальным исходам [1]. Ежегодно в мире совершается 60 тыс. таких операций, из них до 17% – у детей [2, 3]. Исход ТГСК во многом определяется развитием возможных осложнений: токсическое действие препаратов, инфекция и одно из наиболее тяжелых – реакция (болезнь) трансплантат против хозяина (РТПХ), впервые описанная в эксперименте в 1962 г. [4, 5]. Позднее были сформулированы условия развития РТПХ: трансплантат должен содержать иммунокомпетентные клетки + реципиент является иммуночужеродным, что распознается трансплантатом + реципиент не способен развернуть полноценную иммунную реакцию отторжения трансплантата [6]. Соответственно этому определению иммунная реакция и ее проявления и есть РТПХ, которая подразделяется:

- на острую (о-РТПХ), манифестирувшую преимущественно в виде дерматита, хейлита, мукозита, гепатита, энтерита в первые 100 суток (чаще на 30–40-е дни) после ТГСК;
- хроническую (х-РТПХ), развившуюся через 100 дней после ТГСК и манифестирующую как мультиорганская иммунная реакция.

Временные рамки деления РТПХ на острую и хроническую в чем-то условные. Национальный институт здо-

ровья США (NIH) предложил субкатегоризацию о-РТПХ на классическую острую и позднюю острую и х-РТПХ на классическую позднюю и РТПХ с overlap-синдромом. В любом случае клиническая характеристика РТПХ более приемлема, чем временные градации [4].

**Патогенез.** РТПХ развивается в случаях:

- трансплантации костного мозга или гематопоэтических стволовых клеток (прогениторов клеток периферической крови);
- переливания необлученной крови (трансфузинно-ассоциированная РТПХ), особенно у иммунокомпромитированных пациентов;
- пересадки солидных органов, содержащих лимфоидную ткань.

В редких случаях описана РТПХ у новорожденных с иммунодефицитом за счет пассивной передачи иммунокомпетентных клеток матери. Иммунные клетки донора распознают несоответствующие им антигены хозяина. Это несоответствие возникает за счет полиморфизма лейкоцитарных антигенов – HLA – (малый и большой комплекс антигенов гистосовместимости) и за счет не-HLA-зависимых факторов: гены полиморфизма цитокинов и нуклеотид-связывающих доменов олигомеризации (NOD2), рецепторов иммуноглобулинов киллеров семейства натуральных киллеров. Острая РТПХ развивается в 3 этапа [7, 8]. В 1-й (афферентной) фазе ткани хозяина, предварительно поврежденные химио- или радиотерапией, продуцируют провоспалительные цитокины (фактор некроза опухоли – TNF – и интерлейкин IL-1). Цитокины усиливают экспрессию молекул адгезии, большого комплекса гистосовместимости (MHC) и костимуляторов, что активирует антиген-презентирующие клетки трансплантата. Фаза 2 (активация донорских Т-клеток, дифференциация и миграция) характеризуется активацией и пролиферацией донорских

T-клеток, простибулированных антигенами хозяина (реципиента). Антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, дендритические клетки) презентируют антиген на CD4+ T-клетках, которые распознают его в ассоциации с молекулами классов HLA II или MHC II. IL-1 и другие молекулы стимулируют T-хелперы. Последние синтезируют IL-2 и INF-γ, которые, в свою очередь, усиливают экспрессию MHC II на эпителиальных клетках, макрофагах и дендритических клетках, продолжая стимуляцию T-клеток и натуральных киллеров. IL-2 активирует цитотоксические CD8 T-клетки, которые вступают в реакцию с MHC I позитивными клетками [9]. Третья фаза – финальная, в которой собственно и проявляется клиническая картина за счет поражения органов-мишеней цитотоксическими клетками и цитокинами. Не исключено, что 3 стадия острой РТПХ может трансформироваться в хроническую РТПХ.

Хроническая РТПХ манифестирует как аутоиммунное поражение различных органов и систем со склеродермоподобными симптомами, легочной симптоматикой, печеночнной недостаточностью, иммунокомплексной патологией (в т. ч. с признаками гломерулонефрита). Заболевание обусловлено несовпадением антигенов большого и малого комплексов гистосовместимости реципиента и донора с ведущей ролью CD4 донора и Th2.

**Частота и степень тяжести** РТПХ зависят от ряда факторов [10, 11, 12]:

■ **Антигennaя совместимость донора и реципиента**, определенная по комплексу HLA. При HLA-идентичных сиблингах частота РТПХ в зависимости от особенностей профилактики и других факторов риска колеблется от 10 до 60%. При несовпадении комплекса HLA по 1 антигену частота острой РТПХ возрастает до 70%, при несовпадении 2–3 – до 90%. Деплекция T-клеток трансплантата уменьшает риск РТПХ, но снижает вероятность приживления трансплантата и увеличивает риск рецидива лейкоза. При трансплантации пуповинных стволовых клеток частота РТПХ ниже, но эта закономерность не касается трансплантации стволовых клеток периферической крови.

■ **Возраст и пол.** Чем старше реципиент, тем выше риск острой РТПХ. Вероятность острой РТПХ у детей составляет 20%, у реципиентов 20–50 лет – 30–40%. Риск РТПХ резко возрастает при несовпадении пола донора и реципиента, что связывают со связью между HLA и Y хромосомой.

■ **Микробиом хозяина.** Частота РТПХ снижается при отсутствии хронической инфекции, деконтаминации кожи и кишечника, расположения реципиента в боксах с ламарным потоком воздуха.

Хроническая РТПХ развивается у 30–60% реципиентов стволовых клеток. Патофизиология хронической РТПХ известна меньше, чем острой. Принципиальным является активность T-лимфоцитов к детерминантам HLA, общим для хозяина и трансплантата, формирование аутоагрессии. Вероятность хронической РТПХ резко возрастает при несовпадении по антигенам HLA, предшествующей острой РТПХ, с возрастом реципиента, наличии вирусных инфекций (особенно герпетической и цитомегаловирусной). Летальность при острой РТПХ 0–I ст. тяжести составляет 5–10%, при II–III – 40–50%, при IV – 90–100%.

Острая РТПХ сопряжена с антителекемическим эффектом. В зависимости от тяжести хронической РТПХ летальность достигает 40–60%. Предикторами фатального исхода являются трансформация острой РТПХ в хроническую, кожный лихеноид, гипербилирубинемия. Фатальные исходы обусловлены инфекцией, кровотечением (тромбоцитопения), органической недостаточностью.

**Клиническая картина** острой РТПХ чаще предстает как дерматит, гепатит, гастроэнтерит изолированно или в любом сочетании. Возможен мукозит разнообразной локализации (полость рта, пищевод, конъюнктива, бронхиальное дерево, мочевой пузырь). Макулопапуллярная сыпь на коже обычно появляется на 5–50-й день после трансплантации. Ей может предшествовать зуд ладоней и подошв. В тяжелых случаях характер дерматита напоминает ожог 3 ст. Печень – второй по частоте орган, вовлекающийся в РТПХ, обычно после развития кожного процесса. Поражение печени проявляется активацией печеночных трансаминаз, холестатической желтухой и практически всегда сочетается с поражением желудочно-кишечного тракта. Появляются анорексия, тошнота, боли в животе, секреторная диарея, возможны кишечные кровотечения и паралитический ileus. В зависимости от степени поражения кожи, печени и желудочно-кишечного тракта выделяют 5 степеней тяжести острой РТПХ: 0 ст. – отсутствие этого осложнения, I – поражение менее 50% кожного покрова без поражений кишечника и печени, II – поражение более 50% кожи, концентрация билирубина 20–30 мг/л и диарея до 10–15 мл/кг/сут, III–IV ст. – тотальная буллезная эритродермия, концентрация билирубина более 30 мг/л или диарея объемом более 16 мл/кг/сут. Следует учесть, что приведенный объем диареи касается в основном взрослых. Для детей потеря жидкости лучше пересчитывать на поверхность тела.

Клиническая картина хронической РТПХ значительно вариабельнее. Манифестируют дистрофия, хронический дерматит (рис. 1, 2), алопеция, мукозит, лейкоплакия (рис. 3),

**Рисунок 1. Распространенный дерматит при хронической РТПХ**



**Рисунок 2. ЛихенOID кожы при РТПХ**

возможен интерстициальный пневмонит и облитерирующий бронхиолит, агрессивный гепатит с исходом в цирроз, структуры пищевода, хроническая диарея, синдром сухих глаз (тест Ширмера менее 5 мм), миозит и тендinit, суставной синдром, эозинофилия. Клиническая картина соответствует плейотропному аутоиммуному синдрому с васкулитом. Поражение сердца при хронической РТПХ проявляется увеличением массы миокарда левого желудочка, диагностической дисфункцией, высокой воспалительной активностью [10]. В редких случаях поражается центральная нервная система. Хотя в случаях органных изменений их сложно объяснить только изолированным эффектом РТПХ, а не сочетанным побочным действием инфекции, химио- и радиотерапии.

**Дифференциальная диагностика** РТПХ проводится с хроническими вирусными и бактериальными инфекциями, токсическим эффектом химио- и радиотерапии.

**Диагностика РТПХ** основывается на клинической картине, визуализации (например, интерстициальный процесс в легких), лабораторных данных (анемия, тромбоцитопения, эозинофилия, рецептор-α IL-2, рецептор-1 TNF, IL-8) и результатах биопсии. Последняя выполняется сравнительно редко, но бывает необходима в целях дифференциальной диагностики (например, для исключения инфекции) или уточнения степени поражения органов. В частности, при острой РТПХ в коже обнаруживаются вакуоляризация клеток с апоптозом и лимфоидной инфильтрацией, эозинофильными включениями (увеличивающимися по мере тяжести осложнения). В печени регистрируется поражение более половины желчных протоков, вакуоляризация их цитоплазмы, плеоморфизм клеток протоков, некроз отдельных клеток (апоптоз), лимфоцитарная инфильтрация портального тракта с эндотелиолитом (отслоение эндотелия вен от базальной мембранны), баллонная дегенерация гепатоцитов и/или ацидофильные тельца. В биоптатах желудочно-кишечного тракта визуализируются отек слизистой и всей стенки кишки с апоптозом клеток, преимущественно лимфоплазмоцитарные инфильтраты.

Гистологические изменения при хронической РТПХ демонстрируют явные признаки иммунного воспаления, что служит одним из оснований для назначения соответствующей терапии. В биоптатах кожи обнаруживают эпителиальный акантоз, дискератоз, гиперкератоз, мононуклеарные инфильтраты на границе дермы-эпидермиса и в придатках кожи. Воспалительный процесс приводит к фиброзу и атрофии кожи. Мононуклеарные инфильтраты выявляются и в слюнных железах. Мононуклеарные инфильтраты видны и по ходу портального тракта с дуктопенией. Причем эти изменения могут предшествовать клиническим изменениям. По ходу желудочно-кишечного тракта описывают деструкцию крипт, множественные лимфоплазмоцитарные инфильтраты, фиброз собственной пластинки.

**Профилактика РТПХ**, прежде всего, это гистосовместимость донора и реципиента [11, 12]. Следующие этапы – применение иммunosупрессантов для подавления активации и функции Т-клеток донора. Деплекция Т-клеток подразумевает их удаление из транспланта (число Т-клеток не должно превышать  $5 \times 10^4$  клеток/кг массы тела реципиента, что может повысить риск отторжения транспланта), введение таких препаратов, как алемтузумаб, антитимоцитарный глобулин или моноклональных антител.

Блокада пролиферации Т-клеток достигается назначением метотрексата и миофенолата, что используется для успешной профилактики РТПХ, особенно при раннем назначении препарата [13]. Токсичность миофенолата значительно ниже, чем метотрексата, поэтому при его назначении реже регистрируется лекарственный мукозит [14]. Удаление антиген-презентирующих клеток осуществляется экстракорпоральным фотофорезом, индуцирующим апоптоз лимфоцитов. Лимфоциты в состоянии апоптоза захватываются антиген-презентирующими клетками хозяина, что запускает механизм иммунологической толерантности. Рекомендуются щадящие режимы кондиционирования и снижение инфекционной нагрузки реципиента.

**Лечение РТПХ** – часто продолжение ее профилактики, т. к. используются те же иммunosупрессанты в комбинации с метилпреднизолоном.

**Рисунок 2. Лейкоплакия слизистой рта у пациента с РТПХ**

В лечении стероид-рефрактерной РТПХ используются антитимоцитарный глобулин (особенно при манифестном кожном процессе), экстракорпоральный фотоферез, моноклональное антитело к рецептору интерлейкина-2 (даклизумаб). Блокада цитокинового каскада достигается назначением растворимого рецептора интерлейкина-1 или антитела к туморнекротизирующему фактору (ремикейд). В последнем случае возрастает вероятность инфекционных осложнений.

Из иммуносупрессивных препаратов в лечении хронической РТПХ используют метотрексат (антагонист фолатов и ингибитор клеточного иммунного ответа), циклоспорин (подавляет ранний клеточный ответ на антигены за счет блокады кальцийневрина), большие дозы метилпреднизолона (подавляют миграцию полиморфонуклеаров и капиллярную проницаемость, что снижает активность воспаления), таクロлимус (Програф, макролидный иммуносупрессант), сиролимус (Рапамун, ингибирует пролиферацию лимфоцитов), алемтузумаб (моноклональное антитело к CD52 на поверхности В- и Т-клеток, замедляющее пролиферацию лимфоцитов), антитимоцитарный глобулин (тимоглобулин).

Единых стандартных протоколов лечения хронической РТПХ нет из-за сравнительно небольшого числа рандомизированных контролируемых исследований. Привлекает внимание назначение миофенолата мофетила, эфира миофенольной кислоты, блокирующего пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. Существует мнение, что у пациентов, рефрактерных к кортикоэстрадиолам, оправданно применение миофенолата мофетила изолированно или в сочетании с циклоспорином, таクロлимусом [15]. Первоначально миофенолата мофетил применялся для подавления реакции отторжения при пересадке солидных органов, при лечении тяжелых нефритов. Препарат выпускается в виде

супспензии, таблеток, капсул и для внутривенного введения. При назначении детям с хронической РТПХ миофенолата мофетил в дозе 15–40 мг/кг/сут в комбинации с другими иммуносупрессантами в течение 1–15 мес. (Ме = 4 мес.) полный или частичный ответ был достигнут в 60% случаев. Наилучшие результаты были достигнуты при поражении желудочно-кишечного тракта (полный ответ в 60%), полости рта (полный ответ в 33%) и кожи (полный ответ в 43%). В результате у 45% пациентов удалось добиться существенного снижения дозы стероидов, а у 27% – отмены [16]. Положительный эффект от применения препарата получен и в случаях редких и крайне тяжелых проявлений хронической РТПХ, в частности поражения центральной нервной системы [17]. Режимы применения миофенолата мофетила отработаны не для всех вариантов трансплантации, хотя существуют исследования, демонстрирующие максимальный эффект препарата при назначении его высоких доз [18]. В случаях низких доз максимальный эффект достигается при сочетании миофенолата мофетила с циклоспорином или метотрексатом [19].

Фармакокинетика миофенольной кислоты, активного производного миофенолата мофетила, весьма вариабельна как у отдельных пациентов, так и различных групп, что крайне затрудняет клиническую интерпретацию лечения [20]. В итоге большинством исследователей миофенолата мофетил рекомендуется как препарат второй или третьей линии терапии.

**Заключение.** Профилактика и лечение острой и хронической РТПХ остаются сложной и далекой от разрешения проблемой. Нет ни одного исследования, которое бы однозначно доказывало преимущество того или иного препарата или какой-то определенной комбинации. Ясности могут добавить только дальнейшие многоцентровые исследования.



## ЛИТЕРАТУРА

- Скворцова Ю.В., Балашов Д.Н., Масчан М.А., Шелихова Л.Н., Масчан А.А. Динамическое наблюдение детей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Российский журнал детской гематологии и онкологии*, 2015. 2 (2): 50-59.
- Hollingsworth C, Crush D, Kurtzberg J, Vinod P. Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation and the Role of Imaging. *Radiology*, 2008. 248 (2): 348-365.
- Horowitz M. Uses and growth of hematopoietic cell transplantation. In: Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation, John Wiley & Sons, Inc. 2008. pp. 15-21.
- Ruiz Ph. Pediatric Graft Versus Host Disease. <http://emedicine.medscape.com/article/886758-overview> Updated: Nov 22, 2013.
- Barnes D, Loutit J, Micklem H. "Secondary disease" of radiation chimeras: a syndrome due to lymphoid aplasia. *Ann N Y Acad Sci*. 1962. 99: 374-385.
- Billingham R. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect*. 1966. 62: 21-78.
- Ball L, Egeler R. Acute GvHD: pathogenesis and classification. *Bone Marrow Transplant*. 2008. 41 Suppl 2: S58-64.
- Sun Y, Tawara I, Touba T, Reddy P. Pathophysiology of acute graft-versus-host disease: recent advances. *Transl Res*. 2007. 150 (4): 197-214.
- Stenger E, Rosborough B, Mathews L, Ma H, Mapara M, Thomson A, Turnquist M. IL-12hi Rapamycin-Conditioned Dendritic Cells Mediate IFN- $\gamma$ -Dependent Apoptosis of Alloreactive CD4+ T Cells In Vitro and Reduce Lethal Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013. 20 (2): 192-201.
- Dogan A, Dogru O, Ozdogru J, Yarlioglu M et al. Cardiac effect of chronic graft-versus-host disease after stem cell transplantation. *Tex Heart Inst J*. 2013. 40 (4): 428-434.
- Ferrara J, Yanik G. Acute graft versus host disease: pathophysiology, risk factors, and prevention strategies. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2005. 3 (5): 415-419, 428.
- Ferrara J. Novel strategies for the treatment and diagnosis of graft-versus-host-disease. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2007. 20 (1): 91-97.
- Häntzschel I. Targeting mycophenolate mofetil for graft-versus-host disease prophylaxis after allogenic blood stem cell transplantation. Dissertationsschrift zur Erlangung eines doctor medicinae (Dr. med.) der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden. Dresden, 2010. 27 s.
- Inagaki J, Fukano R, Kodama Y, Nishimura M et al. Safety and efficacy of low-dose methotrexate for pediatric patients with steroid-refractory acute graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol*. 2014. 93 (4): 645-651.
- Lander J, Grelck S, Nousari C. Graft-versus-host disease. In: Lebwohl M, Heymann W, Jones J, Coulson I. (Eds.) *Treatment of skin diseases*. Saunders. Elsevier 2014. p. 276-279.
- Busca A, Saroglia E, Lanino E, Manfredini L et al. Mycophenolate mofetil (MMF) as therapy for refractory chronic GVHD (cGVHD) in children receiving bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2000. 25 (10): 1067-1071.
- Saad A, Alyea E, Wen P. Graft-versus-host disease of the CNS after allogeneic bone marrow transplantation. *J. Clin. Oncol*. 2009. 27 (30): e147-e149.
- Harnicar St, Ponce D, Hilden P, Zheng J et al. Intensified mycophenolate mofetil dosing and higher mycophenolic acid trough levels reduce severe acute graft-versus-host disease after double-unit cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015. 21 (5): 920-925.
- Zhu X, Lai X, Luo Y, Shi J et al. Combination of low dose mycophenolate mofetil with cyclosporine and methotrexate as GVHD prophylaxis in unrelated donor allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia Research*. 2013. 37 (9): 1046-1051.
- Minagawa K, Yamamori M, Katayama Y, Matsui T. Mycophenolate mofetil: fully utilizing its benefits for GvHD prophylaxis. *Int. J. Hematol*. 2012. 96 (1): 10-25.