

# 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 кортикостероиды. При стероид-рефрактерной РТПХ используются антиtimoцитарный глобулин, экстракорпоральный фотолиз, моноклональные антитела к интерлейкинам или их рецепторам, метотрексат, циклоспорин, такролимус, сиролимус, антиtimoцитарный глобулин и др. Привлекает внимание назначение микофенолата мофетила, эфира микофенольной кислоты, блокирующего пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. Существует мнение, что у пациентов, рефрактерных к кортикостероидам, оправданно применение микофенолата мофетила изолированно или в сочетании с циклоспорином, такролимусом.

### 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), манифестировавшую 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 мультиорганный 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 гемопоэтических стволовых клеток (прогениторов клеток периферической крови);
- переливания необлученной крови (трансфузионно-ассоциированная РТПХ), особенно у иммунокомпрометированных 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 (МНС) и коstimуляторов, что активирует антиген-презентирующие клетки трансплантата. Фаза 2 (активация донорских Т-клеток, дифференциация и миграция) характеризуется активацией и пролиферацией донорских

Т-клеток, простимулированных антигенами хозяина (реципиента). Антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, дендритические клетки) презентуют антиген на CD4+ Т-клетках, которые распознают его в ассоциации с молекулами классов HLA II или MHC II. IL-1 и другие молекулы стимулируют Т-хелперы. Последние синтезируют IL-2 и INF- $\gamma$ , которые, в свою очередь, усиливают экспрессию MHC II на эпителиальных клетках, макрофагах и дендритических клетках, продолжая стимуляцию Т-клеток и натуральных киллеров. IL-2 активирует цитотоксические CD8 Т-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, печеночной 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]:

■ **Антигенная 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%. Деплеция Т-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 ламинарным потоком воздуха.

**Хроническая РТПХ** развивается у 30–60% реципиентов стволовых клеток. Патофизиология хронической РТПХ известна меньше, чем острой. Принципиальным является активность Т-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 антилейкемическим 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), органной недостаточностью.

**Клиническая картина острой РТПХ** чаще предстает как дерматит, гепатит, гастроэнтерит изолированно или в любом сочетании. Возможен мукозит разнообразной локализации (полость рта, пищевод, конъюнктив, бронхиальное дерево, мочевой пузырь). Макулопапулярная 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 илеус. 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 потери 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. Лихеноид кожи при РТПХ**

возможен интерстициальный пневмонит и облитерирующий бронхиолит, агрессивный гепатит с исходом в цирроз, стриктуры пищевода, хроническая диарея, синдром сухих глаз (тест Ширмера менее 5 мм), миозит и тендинит, суставной синдром, эозинофилия. Клиническая картина соответствует плейотропному аутоиммунному синдрому с васкулитом. Поражение сердца при хронической РТПХ проявляется увеличением массы миокарда левого желудочка, диастолической дисфункцией, высокой воспалительной активностью [10]. В редких случаях поражается центральная нервная система. Хотя в случаях органических 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- $\alpha$  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 мембраны), баллонная дегенерация гепатоцитов и/или ацидофильные тельца. В биоптатах желудочно-кишечного тракта визуализируются отек слизистой и всей стенки кишки с апоптозом клеток, преимущественно лимфоплазмочитарные 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 дуктопатией. Причем эти изменения могут предшествовать клиническим изменениям. По ходу желудочно-кишечного тракта описывают деструкцию крипт, множественные лимфоплазмочитарные инфильтраты, фиброз собственной пластинки.

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

Блокада пролиферации Т-клеток достигается назначением метотрексата и микофенолата, что используется для успешной профилактики РТПХ, особенно при раннем назначении препарата [13]. Токсичность микофенолата 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. е. используются те же иммуносупрессанты в комбинации с метилпреднизолоном.

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



В лечении стероид-рефрактерной РТПХ используются антилимфоцитарный 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 туморонекротизирующему 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 полиморфноядерных и капиллярную проницаемость, что снижает активность воспаления), такролимус (Програф, макролидный иммуносупрессант), сиролимус (Рапамун, ингибирует пролиферацию лимфоцитов), алемтузумаб (моноклональное антитело к CD52 на поверхности В- и Т-клеток, замедляющее пролиферацию лимфоцитов), антилимфоцитарный глобулин (тимоглобулин).

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

суспензии, таблеток, капсул и для внутривенного введения. При назначении детям с хронической РТПХ микофенолата 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 микофенолата 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 микофенолата мофетила с циклоспорином или метотрексатом [19].

Фармакокинетика микофенольной кислоты, активного производного микофенолата мофетила, весьма вариабельна как у отдельных пациентов, так и различных групп, что крайне затрудняет клиническую интерпретацию лечения [20]. В итоге большинством исследователей микофенолата 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, Frush D, Kurtzburg 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, Toubai 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, Dogdu 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 allogeneic 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.
- Landero J, Grelck S, Noursari C. Graft-versus-host disease. In: Lebowitz 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.