

Механизмы нефротоксического действия иммунодепрессантов — ингибиторов кальцинейрина

А. В. НИКИТИН

Московский государственный машиностроительный университет Минобрнауки РФ, Москва

Mechanisms of Nephrotoxic Action of Immunosuppressants, Calcineurine Inhibitors

A. V. NIKITIN

State Machine Building, Moscow

Внедрение в медицинскую практику иммунодепрессантов позволило успешно провести десятки тысяч операций по трансплантации печени, почек, сердца и добиться существенных успехов в лечении ряда аутоиммунных заболеваний. Применение ингибиторов кальцинейрина (циклоsporина А и такролимуса) связано с рядом побочных реакций, среди которых нефротоксичность имеет наибольшее клиническое значение. Комплексная оценка иммунологических и биохимических показателей при лечении ингибиторами кальцинейрина является важной предпосылкой повышения эффективности иммунодепрессивной терапии и снижения частоты и выраженности побочного действия препаратов.

Ключевые слова: иммунодепрессанты, ингибиторы кальцинейрина, нефротоксическое действие.

The use of immunosuppressants in the medical practice provided tens of thousands of favourable outcomes of the liver, kidney or heart transplantation and significant success in the treatment of a number of autoimmune diseases. Calcineurine inhibitors (cyclosporine A and tacrolimus) provoke a number of adverse reactions. Among them nephrotoxicity is clinically most dangerous. Complex estimation of the immunological and biochemical indices in the treatment with calcineurine inhibitors is an important precondition for increasing the efficacy of immunosuppressive therapy and decreasing the frequency and level of the adverse reactions.

Key words: immunosuppressants, calcineurine inhibitors, nephrotoxic action.

Внедрение в медицинскую практику иммунодепрессантов циклоsporина А и такролимуса (FK506) позволило успешно провести за последние 30 лет десятки тысяч операций по трансплантации печени, почек, сердца и добиться существенных успехов в лечении ряда аутоиммунных заболеваний.

Циклоsporин А и такролимус характеризуются сходным механизмом действия на важный для физиологии клетки фермент кальцинейрин, представляющий собой кальций- и кальмодулинзависимую фосфатазу (протеинфосфатаза 3; PPP3C). Проникая в клетку, циклоsporин А связывается с белком циклофиллином, тогда как такролимус взаимодействует с белком FKBP12. Образующиеся комплексы (циклоsporин А/циклофиллин и такролимус/FKBP12) конкурентно ингибируют фосфатазную активность кальцинейрина, что, в свою очередь, подавляет дефосфорилирование и транслокацию в ядро ядерного фактора активированных Т-лимфоцитов (NFAT). Это ведёт к подавлению транскрипции генов интер-

лейкина-2, интерферона- γ , фактора- α некроза опухоли и нарушает дифференцировку и пролиферацию Т-лимфоцитов [1]. Применение ингибиторов кальцинейрина (циклоsporина А и такролимуса) связано с рядом побочных реакций, среди которых нефротоксичность имеет наибольшее клиническое значение [2, 3].

Ингибиторы кальцинейрина могут вызывать как острые, так и хронические нарушения функции почек.

Острая нефротоксичность, вызванная ингибиторами кальцинейрина, проявляется в форме острой артериолопатии, характеризующейся нарушением функции почек без каких-либо патогистологических изменений. Вакуолизация клеток канальцев и тромботическая микроангиопатия также являются формами нефротоксичности, вызванной этими иммунодепрессантами. Выраженные нарушения функции почечных сосудов при острой нефротоксичности опосредованы значительными изменениями кровотока, уменьшением диаметра афферентных артериол и связаны с повышенной экспрессией таких сосудосуживающих факторов, как эндотелин, тромбоксан, активацией

© А. В. Никитин, 2014

Адрес для корреспонденции: 117103 Москва, Нагатинская ул., д. 3а. Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия»

системы ренин-ангиотензин, снижением активности сосудорасширяющих факторов (простациклина, простагландина E₂, оксида азота) и повышенным образованием свободных радикалов [4–6].

Среди видов хронической нефротоксичности, обусловленной применением циклоспорина А и такролимуса, выделяют интерстициальный фиброз с атрофией канальцев, медиальный артериолярный гиалиноз, клубочковый капсулярный фиброз, глобальный гломерулосклероз, фокальный сегментарный гломерулосклероз, гиперплазию юкстагломерулярного аппарата и микрокальцификацию канальцев [2, 7].

По образному выражению W. M. Bennett, хроническая нефротоксичность, вызванная ингибиторами кальцинейрина, является «Ахиллесовой пятой» современной иммунодепрессивной терапии, что определяет актуальность исследования механизмов её патогенеза и разработки средств профилактики и лечения [4]. Связанные с применением циклоспорина А нарушения почечной гемодинамики в сочетании с прямым токсическим действием препарата на эпителий канальцев лежат в основе хронической нефротоксичности. Узелковый артериолярный гиалиноз является одним из её основных патогистологических признаков. Развитию выраженного артериолярного гиалиноза предшествует эозинофильная трансформация гладкомышечных клеток афферентных артериол с их последующей вакуолизацией и отложением гиалина в стенке сосудов. Нарушение гемодинамики в почечных сосудах ведёт к повышенному образованию свободных радикалов, локальной гипоксии или ишемии в канальцево-интерстициальном отделе. Повышенная экспрессия трансформирующего фактора роста- β (ТФР- β) также рассматривается как важный этиологический фактор хронической нефротоксичности, приводящий к развитию интерстициального фиброза. ТФР- β стимулирует эпителиально-мезенхимальную транзицию (переход), во время которого происходит постепенная утрата эпителиальными клетками канальцев их характерного фенотипа и приобретение новых признаков мезенхимальных клеток. При этом клетки утрачивают характерную форму, в них усиливается экспрессия актина гладкомышечных клеток и происходит его реорганизация. Также отмечается подавление экспрессии E-кадгерина, нарушение межклеточной адгезии, разрушение базальной мембраны, усиление клеточной миграции и инвазии. В настоящее время эпителиально-мезенхимальная транзиция рассматривается как основной механизм, ведущий к развитию интерстициального фиброза при лечении циклоспорином А и другими ингибиторами кальцинейрина [7, 8].

Подавление активности кальцинейрина может активировать экспрессию генов апоптоза и

усиливать апоптоз в клетках канальцев и интерстициальных клетках, что может быть причиной атрофии канальцев [9, 10]. Макрофагальная инфильтрация также является существенным фактором хронической нефротоксичности. Циклоспорин А конкурентно подавляет активность Р-гликопротеина, являющегося транспортёром многих соединений, поэтому применение циклоспорина А может вести к накоплению в клетках почечного эпителия ряда токсичных эндогенных веществ [2].

Артериолярный гиалиноз, артериолопатия и вторичная ишемия клубочков вызывают развитие глобального гломерулосклероза.

Нефротоксическое действие такролимуса выражено в меньшей степени по сравнению с циклоспорином А. Такролимус характеризуется меньшим фиброгенным действием; его применение связано с пониженными уровнями креатинина в сыворотке крови и более высокими показателями скорости клубочковой фильтрации, чем при лечении циклоспорином А. Другие (непочечные) токсические эффекты такролимуса проявляются в развитии диабета, треморе, головной боли, диспепсии, рвоте, диарее и гипомагнемии. Циклоспорин чаще вызывает гирсутизм, гиперплазию десен, повышение холестерина липопротеинов низкой плотности и концентрации триглицеридов [2].

В последнее время получены новые данные о биохимических механизмах нефротоксического действия циклоспорина А. Препарат в культуре клеток мышей и проксимальных канальцев человека подавлял экспрессию генов и белков, участвующих в межклеточной адгезии и образовании щелевых контактов (E-кадгерина, ZO-1, клаудина-1 и β -катенина). Циклоспорин А повышал экспрессию виментина, репрессоров транскрипции белков адгезии и белков, участвующих в формировании щелевых контактов (Snail, Slug и Twist). Циклоспорин А и такролимус усиливали фосфорилирование киназы 3-гликогенсинтазы, что повышало стабильность Snail и усиливало отмеченные патологические изменения [11].

Было показано, что воздействие циклоспорина А (1 мкМ) и такролимуса (0,01 мкМ) на мезангиальные клетки крысы и моноциты человека линии THP-1 *in vitro* ведёт к 10-кратному повышению уровня холодового шока Y-бокс-связывающего белка-1 (YB-1), являющегося белком-шапероном с плейтропным действием на клетки. Наряду с этим была отмечена повышенная экспрессия генов, регулируемых YB-1 (матриксной металлопротеиназой-2 и CCL5) [12]. Введение циклоспорина А в дозе 100 мг/кг крысам также значительно повышало уровень YB-1 в мезангиальных клетках, сопровождалось усиленным образованием активных форм кислорода и стабилизацией мРНК коллагена, что указывало на

важную опосредующую роль YB-1 в профиброзном действии ингибиторов кальцинейрина [13].

Важной проблемой рационализации и оптимизации клинического применения ингибиторов кальцинейрина является мониторинг и прогнозирование их нефротоксического действия. Предприняты попытки идентификации ряда генетических маркёров для ранней диагностики нефротоксичности. При моделировании нефротоксичности у крыс, вызванной циклоспорином А (25 мг/кг) и такролимусом (FK506; 6 мг/кг), вводимых в период до 28 дней, было установлено снижение определяемой иммуногистохимическими методами экспрессии генов *SLC12A3* (ко-транспортёра ионов натрия — хлора) и гена *Wnk1* (специфичного для почек регулятора ионного транспорта). Оценка экспрессии этих генов является перспективной для прогноза нефротоксичности в клинической практике [14].

Предупреждение и лечение нефротоксичности в процессе иммунодепрессивной терапии основано, в частности, на применении препаратов в минимальных дозах и в ограниченные сроки, однако данная концепция, несмотря на её привлекательность, не нашла ещё полностью убедительного клинического подтверждения.

Фармакотерапия нефротоксичности включает применение антагонистов кальция (производных дигидропиридина—нифедипина, лацидипина, амлодипина), которые препятствуют сосудосуживающему действию иммунодепрессантов и нарушению почечной гемодинамики. В клинических исследованиях было установлено, что антагонисты кальция уменьшают степень снижения скорости клубочковой фильтрации [2].

При моделировании нефротоксичности, вызванной циклоспорином А у мышей, было показано, что препарат при введении в дозе 100 мг/кг/сут в течение 10 дней вызывал вакуолизацию клеток проксимальных канальцев. В то же время введение антагониста рецепторов минералокортикоидов канреоната (30 мг/кг/сут) вместе с циклоспорином А предупреждало развитие этих патогистологических изменений. Циклоспорин А не вызывал этих изменений у мышей с нокаутом гена рецептора минералокортикоидов, что позволило предположить ведущую роль рецепторов минералокортикоидов в развитии вызванной циклоспорином А нефротоксичности и определить возможность применения антагонистов рецепторов минералокортикоидов для её профилактики и лечения [15].

Изучено влияние розиглитазона (активатора γ -рецепторов, которые активируются пролифератором пероксисом) на экспрессию компонентов внеклеточного матрикса и ряда этиологических факторов тубулоинтерстициального фиброза у крыс, получавших циклоспорин А (15 мг/кг/сут) в течение 35 дней. Розиглитазон препятствовал

вызванному циклоспорином А снижению клиренса креатинина и развитию фиброза, снижал повышенную активность ангиотензина II в плазме крови и почках, экспрессию фибронектина, остеопонтина, RANTES, матриксной металлопротеиназы (ММП)-9 и тканевого ингибитора ММП-1 [16].

Целесообразно применение ингибиторов АПФ и блокаторов рецепторов ангиотензина II. Изучена возможность уменьшения нефротоксического действия циклоспорином А путём применения цитостатика мизорибина и блокатора рецепторов ангиотензина II лозартана. Введение мизорибина (5 мг/кг/сут) отдельно или в комбинации с лозартаном (30 мг/кг/сут) крысам Sprague-Dawley, получавшим циклоспорин А (15 мг/кг/сут) в течение 4 и 7 недель, значительно уменьшало вакуолизацию клеток канальцев, тубулоинтерстициальный фиброз, артериолопатию, снижало экспрессию мРНК остеопонтина и ТФР- β , препятствовало уменьшению размеров клубочков и клубочковой зоны [17].

Ингибиторы АПФ снижали проявления нефротоксичности у больных, получавших циклоспорин А. Лозартан уменьшал концентрации ТФР- β и эндотелина в плазме крови больных, получавших иммунодепрессанты. На различных моделях нефротоксичности была показана эффективность спиронолоктона, простаноидов с сосудорасширяющим действием, доноров оксида азота, антиоксидантов, антител против ТФР- β , статинов и добавки магния. Однако на сегодняшний день результаты клинических исследований эффективности этих фармакологических средств для профилактики и лечения нефротоксичности носят ограниченный характер или отсутствуют [2].

На основании имеющихся данных не представляется возможным провести чёткую дифференциацию механизмов побочных реакций, в частности нефротоксичности, связанных собственно с подавлением активности кальцинейрина и вызванных другими факторами. Эту проблему следует рассматривать в общем плане проблем повышения эффективности и безопасности иммунодепрессивной терапии, что предполагает оценку пролиферативной активности различных субпопуляций Т-лимфоцитов, экспрессии их рецепторов, определение уровней цитокинов, фосфатазной активности кальцинейрина в цельной крови, моноцитах и экспрессии NFAT-регулируемых генов [18].

Комплексная оценка иммунологических и биохимических показателей при лечении ингибиторами кальцинейрина является важной предпосылкой повышения эффективности иммунодепрессивной терапии и снижения частоты и выраженности побочного действия препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Macian F.* NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 472—484.
2. *Naesens M., Kuypers D.R.J., Sarwal M.* Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 481—508.
3. *Gaston R.S.* Chronic calcineurin inhibitor nephrotoxicity: reflections on an evolving paradigm. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 2029—2034.
4. *Bennett W.M., DeMattos A., Meyer M.M., Andoh T., Barry J.M.* Chronic cyclosporine nephropathy: The Achilles heel of immunosuppressive therapy. *Kidney Int* 1996; 50: 1089—1100.
5. *Pallet N., Rabant M., Xu-Dubois Y.C., Lecorre D. et al.* Response of human renal tubular cells to cyclosporine and sirolimus: a toxicogenomic study. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 229: 184—196.
6. *Djamali A.* Oxidative stress as a common pathway to chronic tubulointerstitial injury in kidney allografts. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F445—F455.
7. *Slutsky C., Campbell E., McMorro T., Ryan M.P.* Cyclosporine A-induced renal fibrosis: a role for epithelial-mesenchymal transition. *Am J Pathol* 2005; 167: 395—407.
8. *Hertig A., Anglicheau D., Verine J., Pallet N. et al.* Early epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1584—1591.
9. *Servais H., Ortiz A., Devuyst O., Denamur S. et al.* Renal cell apoptosis induced by nephrotoxic drugs: cellular and molecular mechanisms and potential approaches to modulation. 2008; 13: 11—32.
10. *Yang C.W., Faulkner G.R., Wahba I.M., Christianson T.A. et al.* Expression of apoptosis-related genes in chronic cyclosporine nephrotoxicity in mice. *Am J Transplant* 2002; 2: 391—399.
11. *Berzal S., Alique M., Ruiz-Ortega M., Egido J. et al.* GSK3, Snail and adhesion molecule regulation by cyclosporine A in renal tubular cells. *Toxicol Sci* 2012; 127: 425—437.
12. *Hanssen L., Raffetseder U., Djurdjaj S., Mertens P.* Calcineurin inhibitors CsA and FK506 alter the turnover and function of cold shock Y-box protein-1 in mesangial and monocyte cells. 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012 Paris, France.
13. *Hanssen L., Fryel B., Ostendorf T., Alidousty C. et al.* Cold shock Y-box protein-1 mediates profibrotic effects of calcineurin inhibitors in the kidney. 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012; Paris, France.
14. *Cui Y., Huang Q., Aumann J.T., Knight B. et al.* Genomic-derived markers for early detection of calcineurin inhibitor immunosuppressant-mediated nephrotoxicity. *Toxicol Sci* 2011; 124: 1: 23—34.
15. *Bertocchiol J-Ph., Lançon J., Moghrabi S. El., Galmiche G. et al.* Is vascular smooth muscle cells mineralocorticoid receptor involved in cyclosporine A nephrotoxicity? 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012 Paris, France. SAP053.
16. *Cheng G., Liu Z., Li J., Dong J.* Rosiglitazone treatment attenuates expression of ECM on chronic cyclosporine nephropathy. 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012; Paris, France.
17. *Kim J.H.* Influence of cyclosporine A on glomerular growth and protective effect of mizoribine and losartan on cyclosporine A nephrotoxicity in rat. 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012; Paris, France. SAP363.
18. *Sommerer C., Giese T., Meuer S., Zeier M.* Pharmacodynamic monitoring of calcineurin inhibitor therapy: is there a clinical benefit? *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 21—27.