

ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ОРГАНІЗМУ НА ВВЕДЕННЯ ЕМБРІОНАЛЬНИХ ГЕМОПОЕТИЧНИХ КЛІТИН ХВОРИМ НА НЕСПЕЦИФІЧНИЙ ВИРАЗКОВИЙ КОЛІТ ТА ХВОРОБУ КРОНА

В.О Бушнева, О.І. Смикодуб

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, Київ

Резюме

У статті викладено дані власних досліджень змін клітинного імунітету в 17 хворих на неспецифічний виразковий коліт та 10 пацієнтів з хворобою Крона, в комплексному лікуванні яких застосовували ембріональні клітинні суспензії, що містять стовбурові гемопоетичні клітини. Було виявлено 2 типи імунної відповіді: 1) підвищення вмісту всіх субпопуляцій лімфоцитів; 2) по типу "імунного паралічу". При обох випадках спостерігалось зниження активності запального процесу, покращання клінічної та ендоскопічної картини.

Ключові слова: неспецифічний виразковий коліт, хвороба Крона, ембріональні гемопоетичні клітини, імунітет, субпопуляції Т-лімфоцитів, В-лімфоцити.

Вступ

Неспецифічний виразковий коліт (НВК) та хвороба Крона (ХК) — неспецифічні запальні захворювання кишечника (НЗЗК) з переважно аутоімунним механізмом розвитку [1]. Одним із запропонованих останнім часом консервативних методів лікування НЗЗК є застосування стовбурових гемопоетичних клітин [4]. У світовій клінічній практиці досить широко застосовують аутологічні стовбурові гемопоетичні клітини, виділені з периферичної крові пацієнта за допомогою процедури аферезу [2]. Для лікування хворих на НЗЗК ми вперше використовували кріо-консервовані стовбурові клітини ембріонального гемопоезу, отримані з печінки ембріона людини 4–8 тиж гестації (матеріал, що був отриманий після легальних абортів) [3]. Суспензії, що містили $(0,5-2,5) \times 10^8$ ядровмісних клітин в 1 мл, об'ємом 1–4 мл вводили внутрішньовенно крапельно на 200 мл фізіологічного розчину. З метою безпечного введення ембріональний матеріал піддавали бактеріологічному та вірусологічному дослідженню.

Матеріали і методи

У дослідженні брали участь 17 хворих на НВК та 10 пацієнтів з ХК. У 2 пацієнтів перебіг НВК був гострим, у решти 25 — хронічний. В 11 хворих перебіг захворювання був середньої тяжкості, у 16 — тяжкий.

ЕКС вводили на фоні комплексної консервативної терапії, що включала дієтотерапію, застосування 2–4 г месалазину (салофальку) або 4–6 г сульфосалазину *per os*, метронідазол 1,5 г на добу, ферментні препарати (фестал, мезим), антигістамінні препарати, інфузійну коригуючу

терапію. У деяких хворих (з дистальними формами коліту) застосовували місцеву терапію у вигляді мікроклізм з месалазином — 2–4 г на добу.

Контроль імунологічного статусу пацієнтів здійснювали шляхом моніторингу відносного та абсолютного вмісту всіх субпопуляцій лімфоцитів з використанням непрямого імунофлуоресцентного тесту з панелями моноклональних антитіл серії Ley (Becton Dickinson, США), що виявляють поверхневі антигени кластерів CD3, CD4, CD8, CD22. Дослідження проводили на лазерному проточному цитофлуорометрі Facstar Plus (Becton Dickinson, США), оснащеному комп'ютером HP-310 за допомогою лазера "Іннова" 200 мВт. Дані обробляли за програмою "Facstar Plus". Термін спостереження за хворими становив 1 рік. У процесі спостереження точками контролю були наступні терміни: 0 — до трансплантації, 1 — 8–15 дів після трансплантації, 2 — 30–60 дів після трансплантації, 3 — 90–120 дів після трансплантації, 4 — 180–360 дів після трансплантації.

На момент виконання трансплантації всі хворі перебували у фазі загострення патологічного процесу, скаржились на підвищення частоти випорожнень, рідку консистенцію їх, домішки слизу та/або крові в калі, біль у животі, тенезми, підвищення температури тіла.

Результати та їх обговорення

Під час аналізу імунологічних показників в усіх пацієнтів, яким було виконано трансплантацію ембріональних гемопоетичних клітин, було виділено 2 типи імунної відповіді.

Перший тип — підвищення абсолютного вмісту всіх субпопуляцій лімфоцитів порівняно

з кількістю їх перед трансплантацією спостерігається вже через 1–2 тиж.

Через 30–60 діб після трансплантації відбувається вірогідне підвищення CD3+ — від $0,54 \pm 0,07$ до $(0,69 \pm 0,07) \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) і CD8+ — від $0,19 \pm 0,02$ до $0,28 \pm 0,04$ ($p < 0,05$). При цьому абсолютний вміст CD4+ збільшився на 27%, CD16-NK+ — на 29%, CD19+ — на 25% ($p > 0,05$). Імунорегуляторний індекс CD4+/CD8+ знизився на 3%.

У термін 90–120 діб після трансплантації зберігається вірогідне збільшення вмісту CD3+ — від $0,54 \pm 0,07$ до $(0,71 \pm 0,05) \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) і CD8+ — від $0,19 \pm 0,02$ до $0,25 \pm 0,02$ ($p < 0,05$) та стає вірогідним збільшення вмісту CD16-NK+ лімфоцитів: від $0,14 \pm 0,02$ до $(0,2 \pm 0,02) \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$). При цьому абсолютний вміст CD4+ збільшився на 33%, а CD19+ зменшився на 20% порівняно з кількістю до трансплантації ($p > 0,05$). Абсолютна кількість лімфоцитів вірогідно збільшилася: $1,7 \pm 0,09$ порівняно з $(1,36 \pm 0,11) \times 10^9/\text{л}$ до трансплантації.

У термін 180–360 діб абсолютний вміст субпопуляцій лімфоцитів зменшується, залишаючись при цьому більшим, ніж перед трансплантацією. Імунорегуляторний індекс CD4+/CD8+ підвищився на 11% порівняно з його рівнем перед

трансплантацією. Такий тип імунної відповіді частіше спостерігається при хронічних рецидивних формах захворювань середнього ступеня важкості. Динаміка імунологічних показників у пацієнтів із першим типом імунної відповіді представлена на рис. 1.

Другий тип імунної відповіді — по типу “імунного паралічу”: через 1–2 тиж після трансплантації спостерігалось різке зменшення абсолютного вмісту всіх субпопуляцій лімфоцитів порівняно з кількістю їх перед трансплантацією.

Так, вміст CD3+ зменшився на 97%, CD4+ — на 72%, CD8+ — на 82%, CD16-NK+ — на 73%, CD19+ — на 86% ($p < 0,05$). Імунорегуляторний індекс CD4+/CD8+ підвищився на 14% ($p > 0,05$). Абсолютна кількість лімфоцитів вірогідно зменшилася: $1,02 \pm 0,1$ порівняно з $(1,57 \pm 0,16) \times 10^9/\text{л}$ до трансплантації.

Через 30–60 діб після трансплантації зберігалось вірогідне зменшення кількості CD3+, CD4+, CD8+ і CD19+ ($p < 0,05$). При цьому абсолютний вміст CD16-NK+ був меншим порівняно з передтрансплантаційним на 12% ($p > 0,05$). Імунорегуляторний індекс CD4+/CD8+ підвищився на 10% ($p > 0,05$).

У термін 90–120 діб після трансплантації зберігається вірогідне зменшення кількості

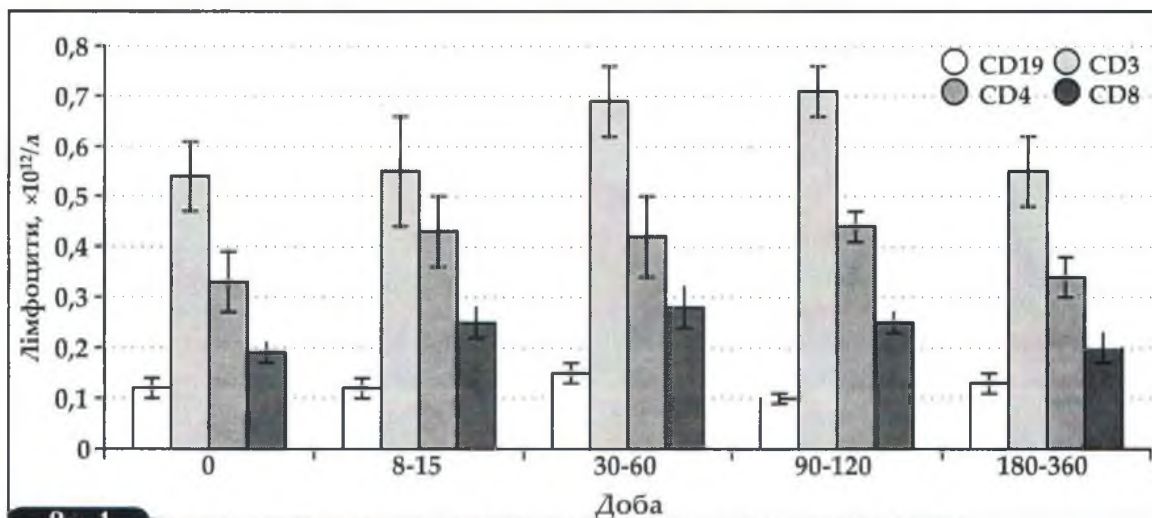


Рис. 1

Імунологічні показники у пацієнтів з першим типом імунної відповіді

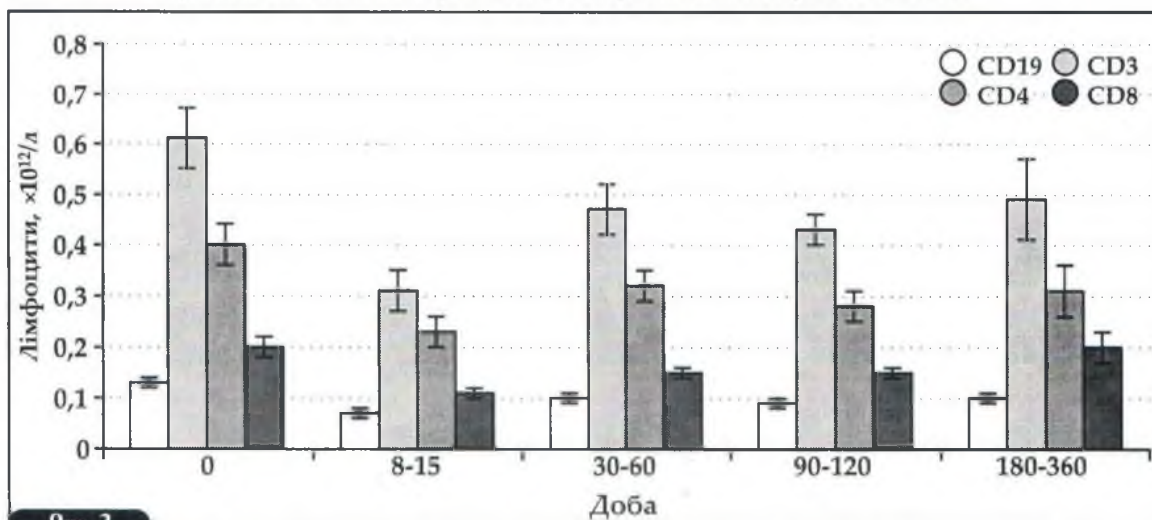


Рис. 2

Імунологічні показники у пацієнтів з другим типом імунної відповіді

CD3+ — від $0,61 \pm 0,06$ до $(0,43 \pm 0,03) \times 10^9 / \text{л}$ ($p < 0,05$), CD4+ — від $0,4 \pm 0,04$ до $0,28 \pm 0,03$ і CD8+ — від $0,2 \pm 0,02$ до $0,15 \pm 0,01$ ($p < 0,05$) і стає вірогідним зменшенням вмісту CD19+ лімфоцитів: від $0,13 \pm 0,01$ до $(0,09 \pm 0,01) \times 10^9 / \text{л}$ ($p < 0,05$). Зменшення абсолютного вмісту CD16-NK+ порівняно з кількістю перед трансплантацією становить 12% ($p > 0,05$). Імунорегуляторний індекс CD4+/CD8+ зниження порівняно з передтрансплантацийним на 3% ($p > 0,05$).

Відновлення абсолютного вмісту всіх субпопуляцій лімфоцитів до передтрансплантацийного відбулося в термін 180–360 діб після трансплантації, лише вміст CD19+ лімфоцитів залишався вірогідно меншим, ніж перед трансплантацією ($p < 0,05$). Одночасно відбувалося зниження активності патологічного процесу, покращання клінічної та ректоскопічної картини.

Даний тип імунної відповіді спостерігався переважно у хворих з високою активністю патологічного процесу та тяжким перебігом захворювання. Ми вважаємо, що в основі цієї реакції лежить апоптоз клітин імунної системи. Сьогодні переконливо доведено, що трансплантація аlogenних стовбурових клітин різних джерел походження (ембріональні, фетальні, пуповинної крові, периферичної крові та кісткового мозку дорослих) здатна спричинити апоптоз лімфоїдної тканини в організмі реципієнта [2]. Динаміка імунологічних показників пацієнтів, які продемонстрували другий тип імунної відповіді, представлена на рис. 2.

Із 27 пацієнтів, які пройшли імунологічний моніторинг, 12 (44%) продемонстрували перший тип імунної відповіді, 15 (56%) — другий.

Факторами, що впливають на тип імунної відповіді, ми вважаємо індивідуальні особливості організму, тривалість захворювання, активність та тяжкість його перебігу. За нашими спостереженнями, перший тип імунної відповіді частіше зустрічався серед хворих з хронічними рецидивними формами захворювання середнього ступеня тяжкості та помірною або високою активністю процесу, а другий тип — у пацієнтів з тяжким перебігом захворювання і високою активністю

процесу. Під час порівняння тривалості захворювання було виявлено, що у пацієнтів з другим типом імунної відповіді цей показник на 60% вищий, ніж з першим типом ($p < 0,05$). Ця статистична залежність підтверджується наступним клінічним спостереженням: одна пацієнтка з НВК, яка перебувала під спостереженням протягом 5 років, отримала 2 трансплантації ЕКС з інтервалом 2,5 року. Після першої трансплантації пацієнтка продемонструвала перший тип імунної відповіді (тривалість захворювання на момент трансплантації становила 5 років), а після другої трансплантації — другий тип імунної відповіді (тривалість захворювання — 7,5 року). Таким чином, тривалість захворювання можна розглядати як один з факторів, що визначає тип імунної відповіді на введення ЕКС. Протягом 1,5 міс консервативно або хірургічно індуковану ремісію було досягнуто у 100% пацієнтів з першим типом імунної відповіді та у 67% пацієнтів з другим типом.

Висновки

Під час аналізу імунологічних показників у пацієнтів, які в комплексному лікуванні загострень НВК та ХК отримали трансплантацію ЕКС, було виявлено 2 типи імунної відповіді. Перший тип — підвищення абсолютного вмісту всіх субпопуляцій лімфоцитів порівняно з передтрансплантацийною кількістю відбувається, починаючи з 1-го тижня, досягає максимальних значень до 90–120-ї доби після трансплантації і зберігається до кінця періоду спостереження. Даний тип імунної відповіді виявлено у 44% пацієнтів. Другий тип імунної відповіді — по типу “імунного паралічу”. В основі цієї реакції лежить апоптоз клітин імунної системи. Через 1–2 тиж після трансплантації відбувається зменшення абсолютного вмісту всіх субпопуляцій лімфоцитів з поступовим підвищенням показників та досягненням передтрансплантацийного рівня до кінця періоду спостереження. Даний тип імунної відповіді спостерігали у 56% пацієнтів. Факторами, що впливають на тип імунної відповіді, ми вважаємо індивідуальні особливості організму, тривалість захворювання, активність і тяжкість його перебігу.

Література

1. Смикодуб А.И., Бушнева В.А. Имунологические нарушения при неспецифических воспалительных заболеваниях кишечника // Имунология и аллергология – 2000. – №4. – С. 28–33.
2. Edward L. Snyder, N. Rebecca Haley. Hematopoietic Progenitor Cells: A Primer for Medical Professionals. – American Association of Blood Banks, 2000. – 230 p.
3. Smikodoub A., Bushneva V. Treatment of patients suffering from autoimmune intestinal diseases with the use of fetal cell suspensions. // Cell Transplantation. – 1999. – Vol. 8, N 2. – P. 200.
4. Snowden J.A., Brooks P.M., Biggs J.C. Haemopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases // Brit. J. Haematol. – 1997. – Vol. 99, N 1. – P. 9–22.

Особенности иммунного ответа организма на введение эмбриональных гемопоэтических клеток
больным неспецифическим язвенным колитом и болезнью Крона

В.О. Бушнева, О.И. Смикодуб

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев

Резюме

В статье приводятся данные собственных исследований показателей клеточного иммунитета у 17 больных неспецифическим язвенным колитом и 10 больных с болезнью Крона, в комплексном лечении которых использовались эмбриональные клеточные суспензии, содержащие стволовые клетки гемопоэза. Было выявлено 2 типа иммунного ответа: 1) повышение содержания всех субпопуляций лимфоцитов; 2) по типу «иммунного паралича». В обоих случаях наблюдалось снижение активности воспалительного процесса, улучшение клинической и эндоскопической картины.

Ключевые слова: неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, эмбриональные гемопоэтические клетки, иммунитет, субпопуляции Т-лимфоцитов, В-лимфоциты.

The Features of Organisme Immune Response for the Introduction of Embryonic Hematopoietic Cells
in Patients with Nonspecific Ulcerative Colitis and Crohn's Disease

V.O. Bushneva, O.I. Smikodub

O.O. Bogomolets National Medical University, Kiyv

Summary

The article shows the original research indices on cell immunity at 17 patients with nonspecific ulcerative colitis and 10 patients with Crohn's disease. Patients were treated in complex on the bases of embryonic cell suspensions (ECS) containing hematopoietic stem cells. It was revealed two types of immune response: 1) the content increase of all the lymphocyte's subpopulations; 2) according to type of the "immune paralysis". In both cases was observed the decrease in the inflammatory process, the improvement of clinical manifestation and endoscopic parameters.

Key words: nonspecific ulcerative colitis, Crohn's disease, embryonic hematopoietic cells, immunity, T-lymphocyte's subpopulations, B-lymphocyte.