

УДК 616-089.843:576.3]-06-097

В. Й. Смержевський
А. В. Якушев
Р. В. Салютін
А. В. Габриелян
В. М. Шаблій
Т. М. Доманський
В. Ф. Оніщенко
І. В. Кудла

СПЕЦИФІЧНІ ІМУНОЛОГІЧНІ УСКЛАДНЕННЯ, ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Національний інститут хірургії та
трансплантології ім. О.О. Шалімова,
м.Київ.

Ключові слова: стовбурові клітини,
трансплантація, ускладнення.

Резюме. Алогенна трансплантація стовбурових клітин несе ризик розвитку низки специфічних ускладнень. В огляді проаналізовано сучасний стан проблеми імунологічних ускладнень та побічних реакцій при трансплантації стовбурових клітин. Показано, що найбільш значимими є реакція імунного відторгнення трансплантованих клітин, реакція трансплантат проти хазяїна та зміна імунного статусу реципієнта-вірусоносія, що призводить до розвитку вірусної інфекції. Проведено аналіз впливу джерела стовбурових клітин на можливість розвитку зазначених реакцій. Показана потенціальна перспектива застосування пуповинної крові як джерела стовбурових клітин.

Захворювання серцево-судинної системи (ССС) займають провідну позицію серед проблем, що стоять перед сучасною системою охорони здоров'я в усьому світі [1]. Актуальність проблеми захворювань ССС у тому, що на них припадає найбільший відсоток у структурі захворюваності та смертності населення при значному рівні фінансових витрат на лікування [1, 24]. Крім того, для певної частини пацієнтів існуючі методи лікування є недостатньо, або зовсім неефективними. Навіть трансплантація серця не вирішує проблему в даній категорії пацієнта через широкий спектр протипоказів до цієї операції [7, 22]. Ці проблеми зумовили пошук нових методів лікування. Одним з альтернативних напрямків лікування захворювань ССС є клітинна терапія. Проте, при її використанні завжди необхідний аналіз співвідношення очікуваних позитивних результатів та ризику розвитку імовірних ускладнень.

У зв'язку з зазначеним, метою роботи був аналіз сучасних даних щодо ускладнень, розвиток яких пов'язаний з імунологічними реакціями після трансплантації стовбурових клітин. Метою роботи обумовлені наступні завдання: 1) Проаналізувати специфічні ускладнення, що пов'язані з імунологічними реакціями після трансплантації стовбурових клітин; 2) визначити вплив джерела стовбурових клітин на розвиток імунологічних реакцій.

Під час та після трансплантації стовбурових клітин (ТСК) існує ризик розвитку низки специфічних ускладнень та реакцій. Серед них найбільше клінічне значення мають реакція імунного відторгнення трансплантованих стовбурових клітин (СК), реакція трансплантат проти хазяїна (РТПХ) та активізація інфекції на фоні зміненого імунного статусу реципієнта.

Реакція імунного відторгнення виникає у випадках, коли СК розпізнаються організмом реципієнта як чужорідний матеріал. На швидкість та інтенсивність реакції відторгнення впливає кількість алельних неспівпадінь в генетичному матеріалі донора та реципієнта. Необхідно підкреслити, що шлях запуску імунологічної реакції відторгнення обумовлений антигенним профілем, та відповідно, типом СК. Імунне відторгнення реалізується через Т-лімфоцити та антитіла. Антигени на поверхні клітин донора можуть бути розпізнані як чужорідні Т-лімфоцитами реципієнта через зв'язування з молекулами-посередниками (прямий механізм). Крім того, антигени донора, що потрапили в організм реципієнта, можуть захоплюватися презентуватися на поверхні Т-лімфоцитами (непрямий механізм) [4, 5].

Зі інтенсивністю перебігу реакції відторгнення можна розподілити на найгостріші, гострі та хронічні. **Найгостріші реакції** відторгнення відбуваються в найкоротші терміни, коли вже

існуючі антитіла до тканин донора, можуть викликати каскад інтенсивних системних запальних відповідей з наступним тромбоутворенням [12, 16]. Гострі реакції відторгнення, зазвичай, проявляються через тиждень після трансплантації і виникають через неспівпадиння тканин донора і реципієнта за головними комплексами гістосумісності системи HLA (Human Leukocyte Antigen). Реакції хронічного відторгнення виникають через неспівпадиння за другорядним комплексом гістосумісності, що призводить до довгострокового відторгнення трансплантату [18].

Гостра РТПХ проявляється після алогенної трансплантації і є імунною реакцією активованих Т-лімфоцитів донора проти клітин реципієнта. Клінічна картина гострої РТПХ залежить від уражених органів. Найпершим і найтипівішим проявом є шкірна форма гострої РТПХ. Первинні прояви шкірної форми гострої РТПХ залежать від часу енграфтації клітин (час від моменту ТСК до моменту диференціації СК в інші клітини) в організмі реципієнта. Час енграфтації, в свою чергу, залежить від джерела СК (швидше енграфтуються СК периферичної крові) та якості заготівлі клітин. Згодом приєднуються гастроінтестинальні прояви гострої РТПХ [23]. Прояви гіпербілірубінемії, гіперферментемії та жовтяниці свідчать про розвиток печінкової форми гострої РТПХ [25]. Вказані ускладнення, зазвичай, проявляються до 100 дня після ТСК, але можуть виникати і пізніше. Діагноз гострої РТПХ може бути підтверджений за допомогою тканинної біопсії [14]. В 2003 році, за даними Center for International Blood and Marrow Transplant Research, було виконано 13 700 алогенних ТСК різних типів. У 35-50 % цих випадків спостерігалася гостра РТПХ різного ступеня важкості.

Ризик розвитку гострої РТПХ підвищується при використанні клітинного препарату не родинного донора, донора, що не співпадає за групою крові, при значному віці донора або реципієнта, якщо донором є жінка, яка мала декілька вагітностей. Також ризик залежить від виду трансплантованого препарату (наприклад, СК пуповинної крові мають менший ризик, ніж СК периферичної крові) [26].

Хронічна РТПХ є типовим і частим ускладненням ТСК [19], до того ж її виникнення є предиктором використання тривалої імуносупресивної терапії та майбутнього погіршення якості життя [9, 26]. Хронічна РТПХ виявляється у 60-80 % пацієнтів, які прожили 100 і більше днів після ТСК [20, 21]. Клінічно хронічна РТПХ найчастіше проявляється у вигляді уражень шкіри, очей, ротової порожнини та печінки. В деяких джерелах літератури описується облітеруючий бронхіоліт як прояв хронічної РТПХ [21]. Від

наявності і вираженості хронічної РТПХ залежить здоров'я пацієнта, функціональні можливості та якість життя [20, 21].

Активация цитомегаловірусної (ЦМВ) інфекції, на думку багатьох дослідників, є результатом змін імунної системи донора після ТСК. При алогенній трансплантації СК можливі випадки розвитку ЦМВ інфекції, якщо і донор і реципієнт є ЦМВ-серонегативними [11]. У 30 % серопозитивних реципієнтів спостерігається активация ЦМВ, що може проявлятися інтерстиційною ЦМВ-пневмонією та ЦМВ-гастроентеритом [29]. В групі ризику знаходяться ЦМВ-серонегативні пацієнти, яким виконується трансплантація алогенних СК або кісткового мозку, оскільки їх імунітет знижено внаслідок розвитку РТПХ, або її лікування чи профілактики цитостатиками. Прогресування ЦМВ-інфекції цілком залежить від протікання РТПХ. Незважаючи на те, що частота вірусоносійства серед реципієнтів автологічних та алогенних СК рівна, клінічний перебіг ЦМВ-інфекції менш інтенсивний у реципієнтів автологічних СК [33]. Розвиток ЦМВ-інфекції майже не спостерігається серед пацієнтів, яким виконувалася автологічна ТСК, що, напевно, пояснюється низькою частотою виникнення РТПХ.

За даними аналізу Verdonck LF перебігу захворювання реципієнтів автологічних СК, розвиток ЦМВ-інфекції спостерігався у 22,5 % пацієнтів, що були ЦМВ-серонегативними та у 61,1 % пацієнтів, що були ЦМВ-серопозитивними [32]. В групі спостереження за 159 пацієнтами, яким була виконана алогенна ТСК серед ЦМВ-серопозитивних пацієнтів ЦМВ-пневмонія виникла у 11 пацієнтів і у 9 з цих пацієнтів вона призвела до смерті. Крім того, у реципієнтів автологічних СК, інфікованих ЦМВ, може значно подовжуватися час енграфтації після ТСК [28].

Розвиток розглянутих реакцій та ускладнень у реципієнта значною мірою залежить від походження СК, що трансплантуються та, відповідно, від вираженості імунологічної несумісності.

Мезенхімальні СК (МСК) вигідно відрізняються імуносупресивними та імунomodulatory властивостями [31]. Ці клітини інгібують імунну відповідь організму реципієнта та пригнічують розвиток РТПХ. В дослідженнях *in vitro* було показано, що МСК ефективно супресують проліферацію алогенних лімфоцитів. Імунomodulatory властивості МСК проявляються через низький рівень експресії молекул головного комплексу гістосумісності I типу та відсутність експресії молекул основного комплексу гістосумісності II типу на їх поверхні. МСК впливають на функції Т, В – лімфоцитів, дендритних клітин та

природних кіллерів через пряму клітинну дію, або різноманітні шляхи, опосередковані цитокінами. Показано, що МСК можуть пригнічувати проліферацію та продукцію цитокінів Т-лімфоцитами, стимульованими мітогенами або впливом алогенних клітин. Ці властивості роблять МСК кандидатом для універсальної клітинної терапії [30].

Окремої уваги заслуговують **СК отримані з ембріонів раннього терміну гестації** які експресують лейкоцитарний антиген людини I типу та антигени другорядного комплексу гістосумісності. Обидва класи антигенів здатні призводити до реакції імунного відторгнення СК [3]. Крім того, ці СК містять на своїй поверхні ембріо-специфічні антигени, які в нормі існують тільки на ембріональній стадії розвитку, тому дорослий сформований організм розпізнає ці антигени як чужорідні [4, 5]. Ембріональні СК можуть диференціюватися в еритроцити різних антигенних груп за системою АВО, що також призводить до імунної відповіді. Окремим аспектом використання ембріональних СК є низка організаційно-правових та етичних питань.

На сьогоднішній день все частіше застосовуються **СК периферійної крові**, зібрані від родинних та неродинних донорів. Існує думка, основана на мета-аналізах, що в порівнянні з МСК кісткового мозку, використання СК периферійної крові підвищує частоту виникнення РТПХ і погіршує загальний прогноз [6]. Доведено, що висока концентрація CD34+ клітин у препаратах СК периферійної крові достовірно корелює з більшою частотою розвитку РТПХ [27]. На даний момент не завершено жодного рандомізованого клінічного дослідження, щодо зв'язку трансплантації СК периферичної крові в порівнянні з іншими типами.

СК отримані з пуповинної крові, в клітинній терапії стали важливою альтернативою МСК кісткового мозку завдяки унікальним властивостям. Імунологічна незрілість цих клітин дозволяє їх використання при більшому ступені неспівпадання донора та реципієнта. Реципієнти неродинних клітин пуповинної крові, які не співпадають за системою HLA, мають таку ж частоту розвитку гострих РТПХ та такий самий прогноз, як і ті, хто отримували співпадаючі за системою HLA родинні СК [15]. До того ж, ряд авторів показали, що СК пуповинної крові супресують розвиток імунологічних реакцій, мають менший потенціал розвитку імунологічної відповіді на стимули та не призводять до вираженої цитотоксичності, в порівнянні з дорослими СК [10].

Процес забору, ізоляції, введення та будь-які інші маніпуляції з клітинами та тканинами можуть призводити до травматизації тканин та ак-

тивації клітин, наслідком чого є активації генів та утворення білків. Активовані клітини та утворені білки, після введення в організм реципієнта СК, можуть призводити до імунної відповіді організму [8, 17]. Знизити прояви або навіть уникнути імунного відторгнення можна обираючи СК з мінімальними імунологічними відмінностями донора та трансплантата, а також шляхом фізичного імунного захисту СК за допомогою полімерної інкапсуляції, або шляхом очищення СК перед трансплантацією [30, 34]. Також альтернативною методикою уникнення потенціальної реакції відторгнення є культивування СК в середовищі без контакту з сироваткою крові [2, 13].

Висновки

1. Таким чином, враховуючи ризик розвитку ускладнень ТСК найбільш перспективним слід вважати використання МСК. Найпоширенішим джерелом МСК є кістковий мозок. Недоліком МСК кісткового мозку є невелика його кількість, що доступна для забору, порівняно невелика кількість СК та додаткове їх зменшення з віком. До того ж існує значний ризик виникнення неоплазій та розвитку реакції імунологічного відторгнення. Ці недоліки стали причиною пошуку інших джерел МСК. Встановлено, що МСК можна отримувати з таких джерел як плацента, желатиноподібна субстанція Уортона, пуповинна кров, жирова та хрящова тканина, а також медичні відходи. Проведені дослідження довели здатність цих клітин до розселення та плюрипотенції. В ході цих досліджень виявилось, що на відміну від МСК кісткового мозку, МСК отримані з цих альтернативних джерел можуть бути зібрані в більшій кількості, а їх здатність до розселення та плюрипотентності такі самі як і у МСК кісткового мозку [31].

2. Пуповинна кров людини, як джерело СК відповідає низці критеріїв, таких як відносно мала вірогідність розвитку ускладнень ТСК, достатній вміст СК в біологічному матеріалі, а також наявність розробленої технології виділення та збереження клітинного препарату "кріоконсервована пуповинна кров людини".

Література. 1. Мировой отчет по неинфекционным заболеваниям, 2010 г. Женева, ВОЗ 2. Bernardo ME, Avanzini MA, Perotti C, Cometa AM, Moretta A, Lenta E, Del Fante C, Novara F, de Silvestri A, Amendola G, Zuffardi O, Maccario R, Locatelli F. Optimization of in vitro expansion of human multipotent mesenchymal stromal cells for cell-therapy approaches: further insights in the search for a fetal calf serum substitute. *J Cell Physiol*, 2007, 211, 121-130 3. Burt RK, Verda L, Kim DA, Oyama Y, Luo K, Link C. Embryonic stem cells as an alternate marrow donor source: engraftment without graft-versus-host disease. *J Exp Med*, 2004, 199, P. 895-904 4. Chidgey AP, Layton D, Trounson A, Boyd RL. Tolerance strategies for stem-cell-based therapies. *Nature*, 2008, 453, P. 330-337 5. Chidgey AP, Seach N, Dudakov J, Hammett MV,

Boyd RL. Strategies for reconstituting and boosting T cell-based immunity following haematopoietic stem cell transplantation: pre-clinical and clinical approaches. *Semin Immunopathol*, 2008, 30, P. 457-477 6. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *J Clin Oncol*, 2001, 19, P. 3685-3691. 7. Deng M. Cardiac transplantation. *Heart*, 2002, 87(2), P. 177-184. 8. Famulski KS, Broderick G, Einecke G, et al. Transcriptome analysis reveals heterogeneity in the injury response of kidney transplants. *Am J Transplant*, 2007, 7, P. 2483. 9. Fraser CJ, Bhatia S, Ness K, et al. Impact of chronic graft-versus-host disease on the health status of hematopoietic cell transplantation survivors: a report from the Bone Marrow Transplant Survivor Study. *Blood*, 2006, 108(8), P. 2867-2873. 10. Hannet I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P et al: Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Immunol Today*, 1992, 13, P. 215. 11. Hersman J, Meyers JD, Thomas ED et al: The effect of granulocyte transfusions upon the incidence of cytomegalovirus infection after allogeneic marrow transplantation. *Ann Intern Med*, 1982, 96, P. 149. 12. Higgins PD, Umar RK, Parker JR, DiMaggio MJ. Massive lower gastrointestinal bleeding after rejection of pancreatic transplants. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2005, 2, P. 240-244. 13. Hisamatsu-Sakamoto M, Sakamoto N, Rosenberg AS. Embryonic stem cells cultured in serum-free medium acquire bovine apolipoprotein B-100 from feeder cell layers and serum replacement medium. *Stem Cells*, 2008, 26, 72-78. 14. Jacobsohn DA, Vogelsang GB. Review article: Acute graft versus host disease. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2007, P.1-9. 15. Jacobsohn DA, Hewlett B, Ranalli M, Seshadri R, Duerst R, Kletzel M. Outcomes of unrelated cord blood transplants and allogeneic-related hematopoietic stem cell transplants in children with high-risk acute lymphocytic leukemia. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 34, P. 901-907. 16. Jatene MB, Miana LA, Pessoa AJ, Riso A, Azeka E, Tanamati C, Gimenez S, Lopes AA, Marcial MB, Stolf NA. Pediatric heart transplantation in refractory cardiogenic shock: a critical analysis of feasibility, applicability and results. *Arq Bras Cardiol*, 2008, 90, P. 329-333 17. Kim IK, Bedi DS, Denecke C, et al. Impact of innate and adaptive immunity on rejection and tolerance. *Transplantation*, 2008, 86, P. 889 18. Krishnan NS, Higgins RM, Lam FT, Kashi H, Jobson S, Ramaiyan K, Rahman M, Morris A. HA-1 mismatch has significant effect in chronic allograft nephropathy in clinical renal transplantation. *Transplant Proc*, 2007, 39, P. 1439-1445 19. Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ, et al. Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse. *Blood*, 2002, 100(2), P. 406-414. 20. Lee SJ, Flowers ME. Recognizing and managing chronic graft-versus-host disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2008, P. 134-141. 21. Lee SJ, Vogelsang G, Flowers ME. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2003, 9(4), P. 215-233. 22. Mancini D., Lietz K. Selection of Cardiac Transplantation Candidates in 2010. *Circulation*, 2010, 122, P.173 – 183. 23. Martin PJ, McDonald GB, Sanders JE, Anasetti C, Appelbaum FR, Deeg HJ, Nash RA, Petersdorf EW, Hansen JA, Storb R. Increasingly frequent diagnosis of acute gastrointestinal graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2004, 10, P. 320-327. 24. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 2006, 3(11), P. 442. 25. McDonald GB. Review article: management of hepatic disease following haematopoietic cell transplant. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 24, P. 441-452. 26. Muhlberger I, Perco P, Fehete R, et al. Biomarkers in renal transplantation ischemia reperfusion injury. *Transplantation*, 2009, 88, P. 14 27. Pallet N, Fougeray S, Beaune P, et al. Endoplasmic reticulum stress: An unrecognized actor in solid organ transplantation. *Transplantation*, 2009, 88, P. 605. 28. Pidala J, Anasetti C, Jim H. Quality of life after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 2009, 114(1), P. 7-19. 29. Przepiorka D, Smith TL, Folloder J, Khouri I, Ueno NT, Mehra R, Korbiling M, Huh YO, Giralt S, Gajewski J, Donato M, Cleary K, Claxton D, Braunschweig I, van Besien K, Andersson BS, Anderlini P, Champlin R. Risk factors for acute graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation. *Blood*, 1999, 94, P. 1465-1470. 30. Reusser P, Fisher LD, Buckner CD et al: Cytomegalovirus infection after autologous bone marrow transplantation: occurrence of

cytomegalovirus disease and effect on engraftment. *Blood*, 1988, 75, P. 1990 31. Rubie H, Attal M, Campardou AM et al: Risk factors for cytomegalovirus infection in BMT recipients transfused exclusively with seronegative blood products. *Bone Marrow Transpl*, 1993, 11, P. 209. 32. Schwenter F, Schneider BL, Pralong WF, Deglon N, Aebischer P. Survival of encapsulated human primary fibroblasts and erythropoietin expression under xenogeneic conditions. *Hum Gene Ther*, 2004, 15, P. 669-680 33. Thejaswi K., M. Amarnath, g. Srinivas, MK Jerald, T. Avinash raj and S. Singh. Immune Modulatory Responses of Mesenchymal stem cells from Different sources in cultures and In Vivo. *Cell and Tissue Transplantation and Therapy*, 2012, Vol.4, P. 2 34. Verdonck LF, van der Linden JA, Bast BJEG et al: Influence of cytomegalovirus infection on the recovery of humoral immunity after autologous bone marrow transplantation. *Exp Hematol*, 1987, 15, P. 864 35. Wingard JR, Chen DYH, Burns WH et al: Cytomegalovirus infection after autologous bone marrow transplantation with comparison to infection after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 1988, 71, P. 1432. 36. Zhang H, Zhu SJ, Wang W, Wei YJ, Hu SS. Transplantation of microencapsulated genetically modifed xenogeneic cells augments angiogenesis and improves heart function. *Gene Ther*, 2008, 15, P. 40-48

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ, ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

В.И.Сморжевская, А.В.Якушев, Р.В.Салютин, А.В.Габриелян, В.М.Шаблій, Т.М.Доманський, В.Ф.Онищенко, И.В.Кудлай

Резюме. Аллогенная трансплантация стволовых клеток несет риск развития ряда специфических осложнений. В обзоре проанализировано современное состояние проблемы иммунологических осложнений и побочных реакций при трансплантации стволовых клеток. Показано, что наиболее значимыми являются реакция иммунного отторжения трансплантированных клеток, реакция трансплантат против хозяина и изменение иммунного статуса реципиента - вирусносителя, что приводит к развитию вирусной инфекции. Проведен анализ влияния источника стволовых клеток на возможность развития указанных реакций. Показана потенциальная перспектива применения пуповинной крови в качестве источника стволовых клеток.

Ключевые слова: стовбуровые клетки, трансплантация, осложнения.

SPECIFIC IMMUNOLOGICAL COMPLICATIONS OF STEM CELL TRANSPLANTATION

V.I.Smorzevskiy, A.V.Yakushev, R.V.Salutin, A.V.Gabrielan, V.M.Shablyi, T.M.Domansky, V.F.Onischenko, I.V.Kudlay

Abstract. Allogeneic stem cell transplantation carries the risk of development of specific complications. In this review we analyzed the current state of the problem of immunological complications and adverse reactions in case of stem cell transplantation. The most significant reactions are immune rejection of transplanted cells, graft versus host disease and activation of viral infection in immunosuppressed patients, which are the carriers of the virus. We also analyzed the influence of the stem cells source for the possibility of development of the above named reactions. The potential prospect of cord blood application as a source of the stem cells was shown too.

Key words: stem cell, transplantation, complications.

Shalimov's National institute of surgery and transplantology (Kyiv)

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol.12, №4 (46).-P.144-147.

Надійшла до редакції 01.12.2013

Рецензент – проф. Д.Б.Домбровський

© В. Й. Сморжевський, А. В. Якушев, Р. В. Салютин, А. В. Габриелян, В. М. Шаблій, Т. М. Доманський, В. Ф. Онищенко, І. В. Кудла, 2013