

Е.М. Климова, Т.И. Кордон, Л.А. Шакина

Применение клеточных технологий для коррекции иммунофизиологических нарушений при угрожающих и критических состояниях

ГУ "Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины"

Ключевые слова: репаративная медицина, клеточная трансплантация, кордовая кровь, цирроз печени

В настоящее время вопросы репаративной медицины являются одной из наиболее сложных проблем современной патофизиологии. Механизмы формирования многих заболеваний связаны с потерей регионарных стволовых клеток (СК), которые являются источником клеточной регенерации и естественного восстановления клеточных клонов в тканях. Источником получения гемопоэтических стволовых клеток могут быть фетальная печень, кордовая и периферическая кровь, красный костный мозг плоских костей взрослого человека [Petersen B.E. et al. 1999; Korbling M. et al. 2002; Brittan M., Wright N.A., 2002; Asakura A., Rudnicki M.A., 2002.] Фетальные стволовые клетки обладают рядом преимуществ, которые позволяют использовать их в эксперименте и эффективно применять в медицинских целях: их пластичность определяет способность этих клеток генерировать различные клоны в различных тканях; низкая плотность поверхностных лейкоцитарных антигенов I и II класса HLA не вызывает реакции отторжения трансплантата. Однако, до сих пор не существует достаточной доказательной базы биологических эффектов фетальных клеток на экспериментальных животных, не регламентированы многие законодательные аспекты применения фетальных клеток в клинике. Также в клинической практике активно используются мультипотентные мезенхимальные клетки костного мозга. Однако, в эксперименте и при клинических наблюдениях показана потенциальная опасность клеток костного мозга, так как выявлена достоверная онкогенная трансформация данных типов клеток [Tolar J. et al., 2007; Riggi N. et al., 2006]. Кроме того, трансплантаты из костного мозга требуют тщательного тканевого типирования антигенов I и II класса HLA и оценки кластерной принадлежности клеточных субпопуляций по CD маркерам. Наиболее доступным источником стволовых клеток на современном этапе развития клеточной трансплантологии является кордовая кровь. Стволовые клетки кордовой крови присутствуют в большом количестве в данном типе ткани, обладают высоким пролиферативным потенциалом и экспрессируют на своей поверхности достаточное количество кластеров дифференцировки. Эти клетки являются продуцентами ряда интерлейкинов и тромбopoэтина, который вызывает пролиферацию гемопоэтических клеток и ингибирует апоптоз. Репопуляционный потенциал гемопоэтических клеток-предшественников кордовой крови подтвержден многочисленными трансплантациями при лечении многих заболеваний [Gluckman et al., 1997; Kondo M., et al.,

2003; Bonnet D., 2002].

В медицине существует проблема коррекции метаболических нарушений у больных с угрожающими и критическими состояниями, когда правильно и своевременно выполненное оперативное вмешательство, контролируемая посиндромная терапия нарушений гомеостаза неэффективна, и для восстановления репаративных и регенеративных процессов необходимо применение интегральных стимулирующих и заместительных лечебных средств, позволяющих, с одной стороны, продлить период временного резерва восстановительных реакций, а с другой - получить источник адекватного биологического восполнения. В связи с этим, в качестве альтернативы пересадки печени при билиарном циррозе могут быть использованы клетки-предшественники кордовой крови, способные дифференцироваться в гепатоциты и другие клеточные клоны.

Целью исследования была оценка эффективности применения ГКП КК для коррекции иммунологических нарушений у больных циррозом печени.

Материалы и методы. После типирования ГКП КК применяли в дозе 1?108/кг массы тела в виде внутривенной трансфузии у 21 больного с билиарным циррозом печени. Оценивали показатели неспецифической резистентности (фагоцитоз нейтрофилов), гуморального (ЦИК, ЦИКк) и клеточного иммунитета (кластеры дифференцировки CD3;CD4; CD8-Т-лимфоциты).

Результаты и их обсуждение. У больных с циррозом печени при поступлении в клинику выявлено значительное повышение концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) - в среднем до 498,0 36,9 ед. Е (при контроле 85 ед. Е), в то время как константа, характеризующая молекулярную массу ЦИК была снижена, что свидетельствует об их высокой патогенности (κ ЦИК=0,93). После трансфузии ГКП КК наблюдали снижение концентрации ЦИК в 2 раза (в среднем до 250 ед. Е) и нормализацию значений константы у подавляющего числа пациентов, в среднем до 1,2. У больных с осложненным течением цирроза и развитием печеночной недостаточности в момент первого обследования была значительно изменена экспрессия дифференцировочных рецепторов CD Т-лимфоцитов: отмечено значительное снижение общего количества CD3 Т-лимфоцитов (до $31,7 \pm 3,5$ %, при референтном значении 52 %), CD4 Т-хелперов (до $20,2 \pm 2,1$ %, при референтном значении 38 %) и увеличение субпопуляции CD8 Т-лимфоцитов (в среднем до $51,6 \pm 7,5$ %, при контроле 17 %). После

трансфузии ГКП КК уровень CD3 и CD4-лимфоцитов достоверно не изменился, тогда как экспрессия CD8-супрессоров позитивно снизилась до $29,7 \pm 1,4$ %. При поступлении у больных с циррозом печени выявили достоверное угнетение фагоцитарной активности: фагоцитарное число было снижено до $1,2 \pm 0,2$, при контроле $3,25 \pm 0,3$; значение индекса завершенности фагоцитоза соответствовало $1,8 \pm 0,1$, при референтном значении $2,8 \pm 0,1$. После применения ГКП КК выявили значительную стимуляцию клеточной адгезии (на 11,3 %) и эндоцитоза (на 50,1 %) фагоцитирующих гранулоцитарных нейтрофилов.

Выводы. Представленные данные свидетельствуют о достоверном позитивном изменении исследуемых иммунологических показателей у больных биллиарным циррозом после применения ГКП КК. Использование полипотентных ГКП КК нормализует неспецифические факторы резистентности, гуморальное и клеточное звенья иммунного ответа. Верифицированные изменения иммунологических параметров у больных с осложненным течением цирроза на фоне эндоваскулярного клипирования варикозно расширенных вен пищевода и трансплантации гемопоэтических клеток-предшественников кордовой крови коррелировали с нормализацией клинического течения заболевания.

УДК: [547. 458.2: 577. 155.2] + 577.11

Е.В. Хомутов, О.П. Шатова, С.А. Зуйков

Влияние лактоацидоза на активность ферментов нуклеотидного обмена

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького, кафедра биохимии

Ключевые слова: лактат, аденозиндезаминаза, дигидропиридиндегидрогеназа

Лактоацидоз является неотъемлемым атрибутом злокачественной трансформации. В последнее время появляются данные о том, что лактат может значительно влиять на активность разнообразных ферментов, причем эти эффекты обычно не связывают с кислотной природой данного соединения. Представляет особый интерес влияние лактоацидоза на обмен нуклеотидов, который играет важную роль в патогенезе опухолевой трансформации и пролиферации.

Цель работы – выяснить влияние лактоацидоза и, для сравнения, солянокислого ацидоза на активность ключевых ферментов обмена нуклеотидов – аденозиндезаминазы (АДА) и дигидропиридиндегидрогеназы (ДПДГ) в нормальных и опухолевых тканях.

Дизайн эксперимента. Активность ферментов определяли в гомогенатах опухолевых тканей при раке молочной железы и в гомогенатах нормальных железистых тканей у 10 женщин в возрасте 40-50 лет. Активность АДА определяли спектрофотометрически при различных значениях pH: 7,0, 6,5, 6,0, 5,0 и 4,0 по изменению оптической плотности при 265 нм, т.е. на волне максимального поглощения инозина. Активность ДПДГ определяли по изменению оптической плотности на 340 нм – в области максимального поглощения продукта реакции НАДФ. Необходимые значения pH создавались добавлением соляной и молочной кислоты к гомогенату тканей в фосфатном буфере.

Результаты. В нормальных тканях активность АДА максимальна при pH = 7,0. Солянокислый ацидоз при-

водит к закономерному снижению активности АДА, которая падает до нуля уже при pH = 5,0, как в опухолевой, так и в нормальной тканях. Добавление лактата к гомогенату опухолевой ткани приводит к падению оптической плотности на длине волны продукта реакции – инозина, что свидетельствует об отсутствии активности аденозиндезаминазы, на фоне значительного падения концентрации субстрата фермента – аденозина.

Влияние соляной и молочной кислоты на активность ДПДГ носит аналогичный характер: фермент максимально активен при pH = 7,4 и в нормальных тканях его активность быстро снижается до нуля независимо от того, какая кислота – молочная или соляная используется для моделирования ацидоза. В опухолевой ткани внешний вид зависимости активности ДПДГ от pH при солянокислом ацидозе ничем не отличается от аналогичной зависимости в нормальной ткани – активность фермента снижается до нуля приблизительно при pH = 5,0. В то же время, добавление лактата к гомогенату опухолевой ткани приводит к более резкому падению активности ДПДГ, а при низких значениях pH в пределах 4,0 - 5,0 наблюдается падение концентрации субстратов ДПДГ на фоне отсутствия накопления продуктов реакции.

Выводы. Вызванный лактатом ацидоз имеет аномальное влияние на распад нуклеотидов. В опухолевой ткани лактат инициирует поглощение аденозина и тимидина, которое не сопровождается образованием продуктов реакции, что говорит о важной роли лактата в модуляции обмена нуклеотидов в опухолевых клетках.