



ВОЗРАСТ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

Лазебник Л. Б.¹, Князев О. В.¹, Парфенов А. И.¹, Коноплянников А. Г.², Сагынбаева В. Э.¹, Ручкина И. Н.¹,
Ефремов Л. И.¹, Щербаков П. Л.¹

¹ ГУ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ, Москва

² Медицинский радиологический научный центр РАМН, г. Обнинск

Князев Олег Владимирович

111123, Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86

Тел.: 8 (495) 303 1771

E-mail: oleg7@bk.ru

РЕЗЮМЕ

В процессе старения уменьшается эффективность функционирования иммунной системы, заключающаяся в поддержании постоянства антигенного состава организма. Процесс распознавания собственных и чужеродных антигенов становится менее точным, интенсивность иммунных реакций снижается. Это приводит к появлению характерных для старения иммунопатологических синдромов: иммунного дефицита, аутоиммунитета, повышения уровня циркулирующих иммунных комплексов, учащения случаев доброкачественных моноклональных гаммапатий. Ослабление иммунных процессов сказывается на клинических особенностях язвенного колита в пожилом возрасте. В пожилом возрасте системные проявления заболевания наблюдаются в 2 раза реже, а местные — в 2 раза чаще, чем у больных в возрасте 20–40 лет, причем такие местные осложнения, как обильные кровотечения и уменьшение просвета толстой кишки, встречаются в 3–4 раза чаще. Таким образом, возраст является фактором, который обуславливает особенности течения язвенного колита, выраженность внесистемных проявлений, прогноз заболевания и, следовательно, ответ на терапию. Трансплантация мезенхимальных стромальных клеток у пожилых больных язвенным колитом оказывается менее эффективной, чем у больных среднего и молодого возраста.

SUMMARY

The aging process decreases the efficiency of the immune system is to maintain the constancy of the antigenic composition of the body. The process of recognition of own and foreign antigens is becoming less accurate, the intensity of immune responses is reduced. This leads to a characteristic of aging immunopathologic syndromes: an immune deficiency, autoimmunity, increased levels of circulating immune complexes, increased cases of benign monoclonal gammopathy. The weakening of the immune processes affected the clinical features of ulcerative colitis in the elderly. In old age, systemic manifestations of disease are observed in 2 times less, and local — in 2 times more likely than patients aged 20–40 years, with local complications such as profuse bleeding and a decrease in the lumen of the colon, there are 3–4 times more often. Thus, age is a factor that determines the characteristics of the course of ulcerative colitis, the severity of extra-systemic manifestations, prognosis and, consequently, response to therapy. Transplantation of mesenchymal stromal cells in elderly patients with ulcerative colitis is less effective than in patients with young and middle age.

Потенциал для здоровой и продолжительной жизни в нашем организме заложен с момента рождения. Этим потенциалом являются стволовые клетки (СК) взрослого организма, или соматические СК. Они обнаружены в качестве пула резервных клеток в костном мозге, скелетных мышцах, роговице и сетчатке глаза, пульпе зубов, головном и спинном мозге, кровеносных сосудах, печени, коже, желудочно-кишечном тракте, поджелудочной железе и т. д. Основная функция соматических СК — постоянное воспроизводство зрелых специализированных клеток. Практически все СК взрослого организма, за редким исключением, способны давать начало клеткам разного типа.

Саму концепцию стволовой клетки изложил русский ученый Александр Максимов еще в 1908 г. [1]. Однако прошло почти столетие, прежде чем эта область биологии и медицины обрела научный статус. Отечественная наука и медицина обладают одним из лучших потенциалов в области исследования и применения клеточной терапии в мире. Первые направленные поиски в области стволовых клеток костного мозга человека начались в результате прорыва, осуществленного Александром Яковлевичем Фриденштейном в середине 1970-х гг. [2]. В его лаборатории впервые была получена однородная культура стволовых клеток костного мозга. После прекращения деления стволовые клетки под влиянием условий культивирования превращались в костную, жировую, хрящевую, мышечную или соединительную ткань. Пионерские разработки А. Я. Фриденштейна заслужили международное признание. В 1998 г. Джеймсу Томсону и Джону Беккеру впервые удалось выделить человеческие эмбриональные стволовые клетки [3]. Революционные результаты их экспериментов, опубликованные в 1999 г. в журнале *Science*, были признаны третьим по важности событием в биологической науке XX века после открытия двойной спирали ДНК и расшифровки генома человека.

Открытие стволовых клеток изменило саму научную концепцию старения организма. Помимо множества причин, вызывающих старение, основной сегодня принято считать уменьшение пула стволовых клеток и снижение их пролиферативного и пластического потенциала [4]. Таким образом, своеобразным индикатором биологического возраста является содержания стволовых клеток в организме.

По данным американских исследователей, потенциальный возраст, при котором человек может оставаться абсолютно здоровым, составляет 44 года для женщин (при средней продолжительности жизни 78,8 года) и 40 лет для мужчин (при средней продолжительности жизни 72,6 года). Как показывают научные исследования, процесс старения и все сопряженные с этим биохимические, патофизиологические процессы начинаются уже с 30 лет. Напряженный ритм современной жизни, а также стрессы ускоряют процессы биологического старения организма. В связи этим в последнее десятилетие появилось

новое направление профилактической медицины, получившее название ревитализация. Это новейший метод терапии с использованием стволовых клеток, позволяющий восстанавливать начинающиеся повреждения в органах и тканях. Слово «ревитализация» (от латинского *vita* — жизнь) буквально можно толковать как «возвращение жизни».

При введении в организм стволовых клеток, согласно парадигме регенеративной медицины, происходит двойной эффект: во-первых, вновь поступившие клетки начинают сами интенсивно выделять биологически активные вещества, способствуя процессу регенерации органов и тканей, а во-вторых, они запускают механизмы, активизирующие собственные резидентные стволовые клетки [5]. И как показывают многочисленные экспериментальные исследования, метод терапии стволовыми клетками способствует системной ревитализации.

С возрастом запас стволовых клеток любого типа в организме человека уменьшается. Например, при рождении ребенка в пуповинной крови находится около 1 миллиона стволовых клеток, а у 50-летнего здорового мужчины их насчитывается около 100 тысяч. Кроме того, количество стволовых клеток пуповинной крови, необходимое для восстановления кроветворения, в 10 раз меньше, чем количество стволовых клеток взрослого человека, уже исчерпавших часть своего потенциала.

В настоящее время системная трансплантация СК используется в качестве комплексной терапии целого ряда заболеваний — сахарный диабет, атеросклероз [6], ишемическая болезнь сердца [7], хронические заболевания суставов, гепатиты и циррозы печени [8; 9], аутоиммунные заболевания [10], болезни Альцгеймера и Паркинсона [11]. Применение культуры клеток способствует более быстрому заживлению ожогов, ран, язв, осуществляется реабилитация после инсультов и черепно-мозговых травм [12]. Помимо этого, стволовые клетки сдерживают процессы развития опухоли и активизируют иммунную систему. Имеется ряд уникальных программ в онкологии, направленных на реабилитацию больных в период ремиссии и перерывов между курсами химиотерапии. Продолжают изучаться возрастные особенности СК не только реципиентов, но и доноров. Например, при изучении онкогенной безопасности МСК показано, что наибольшей резистентностью к онкотрансформации обладают СК, выращенные из костного мозга детей и подростков [13].

Появляется все больше исследований, которые объясняют процессы старения и уменьшения запаса СК. Исследователям из США Элизабет Блэкберн (Elizabeth Blackburn), Кэролу Грейдеру (Carol W. Greider) и Джеку Шостаку (Jack W. Szostak) удалось описать функции теломера и фермента теломеразы, отвечающих за сохранение целостности хромосом при делении клетки. Нарушение данного механизма защиты является одной из главных причин развития онкологических заболеваний. Кроме того, постепенное сокращение размеров теломеров

с возрастом и соответственно связанные с этим нарушения целостности хромосом считаются одним из основных механизмов старения. За это открытие в 2009 г. ученым была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине.

Теломеры являются специализированными структурами, состоящими из характеристических повторов ДНК-последовательностей и комплекса ассоциированных белков, которые защищают концы хромосомы и обеспечивают целостность генома. Теломеры сокращаются с каждым циклом ДНК-репликации. Потеря теломерных ДНК ведет к старению, состоянию, в котором клетки уже не делятся, и кризису, который запускает клеточную смерть. Для предотвращения этого феномена стволовые клетки должны сохранять свои теломеры, например экспрессируя теломеразу. Теломераза является энзимом, который удлиняет теломерные повторы, специализированные структуры концов хромосом, которые обеспечивают стабильность генома и компенсируют физиологический процесс сокращения теломеров.

По мере того как наши знания о сохранении теломеров расширяются, открываются возможности для применения биологии теломеров в клинической медицине [14]. Активность теломеразы предотвращает потерю репликативной способности путем сохранения длины теломеров и интегральности хромосом. Результаты исследований в этой области, вероятно, найдут в будущем приложение в развитии стратегий для предотвращения клеточного старения в регенеративной медицине и терапии стволовыми клетками [15].

Среди первых стволовых клеток, использовавшихся в клинике, являются мезенхимальные стромальные клетки (МСК). Несколько методов, основанных на их физических и физико-химических характеристиках, например сцепление с пластмассами или другими внеклеточными матричными компонентами, сейчас доступно для изоляции МСК. Из-за легкости их изоляции и большого потенциала дифференцировки МСК являются клоногенными, негематopoэтическими стволовыми клетками, присутствующими в костном мозге, и они способны дифференцироваться во множественные мезодермального типа клеточные линии, например остеобласты, хондроциты, эндотелиальные клетки, и также немезодермального типа линии, например нейрноподобные клетки. Перед тем как широко использовать их в терапии, должны быть созданы методы, позволяющие генерировать большое число клеток и не влияющие на их потенциал дифференцировки, так же как технологии, позволяющие преодолевать иммунологическое отторжение (в случае аллогенных трансплантатов) [16].

Последние исследования показали, что продолжительность жизни мезенхимальных стромальных клеток *срап* может быть увеличена путем увеличения уровней экспрессии теломеразы в клетках, тем самым позволяя культуре накопить большее число клеток, необходимых для терапии. Дополнительно

было показано, что МСК являются гипоиммунными и поэтому аллогенная трансплантация возможна и обоснованна [17].

Таким образом, введение стволовых клеток раскрывает новые возможности для регенеративной медицины. Безусловно, использование стволовых клеток не является панацеей, и, как показывают многочисленные исследования, метод клеточной терапии наиболее эффективен не в стадии длительного и прогрессирующего заболевания, а на ранних стадиях патологического процесса.

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) является хронической патологией, дебютирующей обычно до 30 лет. Однако заболеваемость язвенным колитом (ЯК) в пожилом и старческом возрасте в последние годы увеличилась с 3 до 8%. В то же время число больных, у которых заболевание возникло в возрасте старше 60 лет, невелико (менее 2%). Клинические особенности ЯК в пожилом возрасте связаны с возрастным изменением иммунологической реактивности и аллергических реакций. Внекишечные (системные) проявления заболевания (лихорадка, похудание, поражение кожи и суставов) обусловлены также измененной иммунологической реактивностью.

В пожилом возрасте системные проявления заболевания наблюдаются в 2 раза реже, а местные — в 2 раза чаще, чем у больных в возрасте 20–40 лет, причем такие местные осложнения, как обильные кровотечения и уменьшение просвета толстой кишки, встречаются в 3–4 раза чаще. Заболевание развивается в преклонном возрасте, как правило, на фоне целого ряда других хронических заболеваний, которые в последующем отягощают течение болезни, в том числе и хроническая ишемическая болезнь органов пищеварения (ХИБОП). Довольно часто провоцирующим моментом в возникновении ЯК у гериатрических больных является длительный прием различных лекарственных препаратов. В пожилом возрасте при ЯК (даже на фоне длительной ремиссии) нередко возникает малигнизация слизистой оболочки толстой кишки, особенно в местах воспалительных грануляций. Так, если в возрасте 30–59 лет рак толстой кишки возникает у 1,2% больных неспецифическим язвенным колитом, то в возрасте старше 60 лет — у 4,4%, то есть в 3,6 раза чаще. Таким образом, возраст является фактором, который обуславливает особенности течения ЯК, выраженность внесистемных проявлений, прогноз заболевания и, следовательно, ответ на терапию.

Целью нашего исследования была оценка эффективности и безопасности трансплантации мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в комплексной терапии у больных язвенным колитом и болезнью Крона, а также выявление прогностических критериев эффективности трансплантации МСК у больных ВЗК.



МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В отделении патологии кишечника Центрального научно-исследовательского института гастроэнтерологии трансплантация МСК была осуществлена 44 больным язвенным колитом в возрасте от 19 до 69 лет (Me 32 года). Продолжительность болезни составляла от 2 до 28 лет (Me 6 лет). Для осуществления системной трансплантации 150–200 млн аллогенных МСК, размноженных в культуре, клетки взвешивались в 200 мл стерильного физиологического раствора, содержащего гепарин в концентрации 50 ед/мл, и путем постановки капельницы вводились пациенту в течение 40–60 минут. Перед введением МСК больному с целью профилактики посттрансфузионных осложнений вводился преднизолон 60–90 мг внутривенно струйно. Культуру МСК вводили однократно. После трансплантации МСК дозу ранее назначенных глюкокортикостероидов снижали в течение полутора-двух месяцев, постепенно снижали до полной отмены (при отсутствии рецидива заболевания), а цитостатики отменяли. Время наблюдения за больными составило от 6 до 12 месяцев. Иммуносупрессоры (азатиоприн) отменяли за 3 суток до трансплантации МСК. После трансплантации МСК дозу ранее назначенных глюкокортикостероидов (не более 30 мг/сут) снижали в течение полутора-двух месяцев до полной отмены (при отсутствии рецидива заболевания).

Обязательным исследованием было проведение ректороманоскопии жестким ректоскопом, а также колоноскопии с посегментарной оценкой активности воспаления по шкале D. Rachmilevitz (1989). Шкала учитывает наличие или отсутствие зернистости слизистой оболочки кишки, ранимость слизистой оболочки кишки, четкость сосудистого рисунка, степень выраженности повреждения слизистой оболочки (слизь, фибрин, гной, эрозии, язвы).

Эндоскопическое исследование проводилось на видеосистеме фирмы «Фуджинон EVE W-88А». При исследовании макроскопически оценивалось состояние слизистой оболочки толстой кишки. Распространенность язвенного колита оценивали по наличию четкой границы между пораженным и здоровым участками слизистой толстой кишки. Учитывался максимальный балл активности воспалительного процесса. Всем больным проводилась лестничная биопсия из измененных отделов толстой или подвздошной кишки аппаратом SIF-10L с получением 4–5 фрагментов слизистой оболочки.

Учитывая мнение Международной организации по исследованию ВЗК, ЕССО-исследования, оценивающие поддержание ремиссии при ЯК и БК, должны длиться не менее 12 месяцев, как и длительность самой ремиссии.

Клинический анализ крови выполнялся на полуавтоматическом гематологическом анализаторе *Advia® 60* фирмы *Bayer Health Care*. Биохимический анализ крови выполнялся на биохимическом анализаторе *Olympus AU 400* с использованием реактивов фирмы *Olympus* производства Германии.

Иммуноглобулины (IgA, IgG, IgM) определяли методом радиальной иммунодиффузии. Использовались реактивы моноклональных антител против иммуноглобулинов человека фирм *Protein contour* (Россия), *Orgentec* (Германия), *Vedablab* (Франция). В сыворотке крови больных иммуноферментным твердофазным методом определяли ИЛ-1 β , ФНО- α , ИНФ- γ ИЛ-4, ИЛ-10 с помощью тест-систем ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург), *Orgentec* (Германия), *Vedablab* (Франция). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ *Microsoft® Office Excel 2003*; *Statistica v. 6,0*; *Primer of Biostatistics Version 4.03 by Stanton (A. Glantz, 1998)*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на значительные достижения в изучении патогенеза воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), не нашел объяснения тот факт, почему одни лица с ЯК и БК имеют клинически тяжелые и часто рецидивирующие формы заболевания, а другие — легкие и редко рецидивирующие, почему в одних случаях патогенетическая терапия ВЗК эффективна, а в других эффект от проводимой терапии отсутствует. Знание факторов, прогнозирующих ответ на терапию, позволит более эффективно использовать новый метод лечения больных ВЗК, а также лучше понять особенности патогенеза различных форм болезни.

Мы проанализировали две группы больных ЯК в зависимости от эффекта проведенной трансплантации мезенхимальных стромальных клеток костного мозга: 1-я группа, где трансплантация МСК была эффективной, и 2-я — трансплантация МСК неэффективна.

В нашем исследовании системная трансплантация МСК оказалась эффективной у 32 больных (72,7%): безрецидивное течение ЯК за 12 месяцев наблюдения. Малоэффективной терапия оказалась у 12 (27,3%): у 6 больных — рецидив в течение 2 месяцев, у 4 — через 6 месяцев, у 2 — через 12 месяцев.

При анализе эффективности учитывали пол, возраст больных, длительность и тяжесть заболевания, протяженность поражения кишки, среднюю продолжительность приема азатиоприна до трансплантации МСК, индекс клинической и эндоскопической активности, исходный уровень иммуноглобулинов G, A, M, исходные значения уровня цитокинов ФНО- α и ИЛ-4 до трансплантации МСК. В патогенезе ВЗК и в особенностях течения заболевания данные клинико-лабораторные характеристики играют важную роль и, как следствие, могут быть предикторами эффективности трансплантации МСК. В табл. 1 приведены характеристики групп больных в зависимости от эффективности трансплантации МСК. При анализе этих двух групп выяснилось, что трансплантация МСК была эффективной у молодых больных ВЗК (средний возраст которых составил $30,8 \pm 1,74$ года), с недлительным

Таблица 1

ХАРАКТЕРИСТИКИ ГРУПП БОЛЬНЫХ ЯК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК			
Показатель	Трансплантация МСК эффективна	Трансплантация МСК неэффективна	p
Возраст, лет	30,8 ± 1,74	41,6 ± 4,14	< 0,05
Длительность ЯК, лет	2,3 ± 0,2	5,85 ± 0,56	< 0,05
Средняя продолжительность приема аза-тиоприна до трансплантации МСК, месяцев	5,3 ± 0,2	10,1 ± 1,5	< 0,05
Индекс эндоскопической активности, баллов	7,25 ± 0,2	7,2 ± 0,2	> 0,05
Индекс клинической активности, баллов	7,4 ± 0,35	7,7 ± 0,38	> 0,05
Частота курсов ГКС в год	0,86 ± 0,09	2,00 ± 0,19	< 0,05
IgG, г/л	12,5 ± 0,71 г/л	8,8 ± 0,9 г/л	< 0,05
IgA, г/л	2,2 ± 0,8 г/л	1,3 ± 0,01 г/л	< 0,05
IgM, г/л	1,5 ± 0,04 г/л	0,9 ± 0,01 г/л	< 0,05
ФНО-α, пг/мл	26,7 ± 1,2 пг/мл	13,9 ± 1,9 пг/мл	< 0,05
ИЛ-1β, пг/мл	9,2 ± 0,2 пг/мл	5,7 ± 0,28 пг/мл	< 0,05
ИЛ-4, пг/мл	22,6 ± 2,4 пг/мл	10,8 ± 0,5 пг/мл	< 0,05
Мужчины	56,6%	57,2%	
Женщины	43,7%	42,8%	
Протяженность поражения кишечника			
Дистальный колит (проктосигмоидит)	3 (10%)	0	
Левостороннее поражение	8 (26,6%)	2 (14,3%)	
Тотальный колит	19 (63,3%)	11 (78,5%)	
Течение заболевания			
Впервые выявленное	5 (16,6%)	1 (7,2%)	
Хроническое рецидивирующее	17 (56,6%)	9 (64,3%)	
Хроническое непрерывное	8 (26,8%)	4 (28,5%)	

анамнезом заболевания (в среднем $2,3 \pm 0,2$ года) и непродолжительным приемом иммунодепрессантов ($5,3 \pm 0,2$ месяца). В группе больных ВЗК, у которых трансплантация МСК не привела к улучшению клинической картины течения заболевания, были установлены следующие закономерности: возраст больных составил в среднем $41,6 \pm 4,14$ года, длительность заболевания — $5,85 \pm 0,56$ года, средняя продолжительность приема иммунодепрессантов составила $10,1 \pm 1,5$ месяца. Причем разница по этим показателям в сравнении групп была достоверной.

Обращает внимание тот факт, что у всех больных в возрасте от 56 до 69 лет, которым проведена трансплантация МСК, эффект был непродолжительный.

В среднем содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови в обеих группах больных до и после введения МСК составило соответственно: IgM — 1,6 и 2,18 г/л; IgG — 11,2 и 14,8 г/л; IgA — 1,42 и 2,84 г/л. Наиболее существенно возросла концентрация IgA ($p < 0,05$), опосредующего местный гуморальный иммунный ответ. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови в группе больных, где трансплантация оказала положительный эффект, до введения

МСК составило: IgM — $1,5 \pm 0,04$, IgG — $12,5 \pm 0,71$, IgA — $2,2 \pm 0,8$ г/л.

В группе больных ($n = 14$), где эффект был непродолжительный, исходный уровень иммуноглобулинов составил: IgG — $8,8 \pm 0,9$, IgM — $1,3 \pm 0,01$, IgA — $0,9 \pm 0,01$ г/л ($p < 0,05$). Уровень про- и противовоспалительных цитокинов в группе больных, где трансплантация эффективна, оказался достоверно выше по сравнению с группой, где эффекта от данной терапии не было. Показатели уровня ФНО-α в группе с эффективной трансплантацией составили $26,7 \pm 1,2$ пг/мл, ИЛ-1β — $9,2 \pm 0,2$ пг/мл, ИЛ-4 — $22,6 \pm 2,4$ пг/мл, в группе без эффекта — соответственно $13,9 \pm 1,9$, $5,7 \pm 0,28$ и $10,8 \pm 0,5$ пг/мл.

Динамика показателей гуморального иммунитета и цитокинового статуса через 2 месяца после трансплантации также существенно отличалась в этих двух группах. В группе больных ($n = 14$), где эффект был непродолжительный, уровень иммуноглобулинов составил: IgG — $7,3 \pm 0,2$ г/л, IgM — $1,4 \pm 0,01$ г/л, IgA — $1,0 \pm 0,01$ г/л ($p < 0,05$), в группе с положительным эффектом ($n = 30$) IgG — $18,5 \pm 0,9$ г/л, IgM — $2,5 \pm 0,1$ г/л, IgA — $2,1 \pm 0,8$ г/л. Уровень

про- и противовоспалительных цитокинов в группе больных, где трансплантация эффективна, также оказался достоверно выше через 2 месяца по сравнению с группой, где эффекта от данной терапии не было. Показатели составили: ФНО- α в группе с эффективной трансплантацией составил $12,9 \pm 1,3$ пг/мл, ИЛ- 1β — $8,7 \pm 0,4$ пг/мл, ИЛ-4 — $40,1 \pm 2,5$ пг/мл; в группе без эффекта соответственно ФНО- α — $22,3 \pm 1,1$ пг/мл, ИЛ- 1β — $14,2 \pm 0,2$ пг/мл, ИЛ-4 — $14,6 \pm 2,4$ пг/мл.

Для того чтобы установить связь между эффективностью МСК и возможными факторами, влияющие на положительный результат трансплантации, нами проведен корреляционный анализ между клинической и эндоскопической активностью через 2 месяца после трансплантации у больных ЯК и основными клиническими и лабораторными характеристиками. Нами выявлена обратная корреляция между клинической активностью (индекс Рахмилевича) после трансплантации МСК через 2 месяца и исходными значениями уровня иммуноглобулинов G ($r = -0,87$, $p < 0,001$), иммуноглобулинов A ($r = -0,70$, $p < 0,001$), иммуноглобулинов M ($r = 0,72$, $p < 0,001$).

Помимо лабораторных показателей, которые, по нашему мнению, могли играть существенную роль в прогнозировании эффективности трансплантации МСК, мы приняли во внимание длительность заболевания язвенного колита ($r = 0,69$, $p < 0,01$). Выявлена корреляционная связь между эффективностью МСК и длительностью ЯК ($r = 0,69$, $p < 0,01$), а также возрастом больных ($r = 0,44$, $p < 0,05$). Так как общеизвестным является факт, что по мере прогрессирования аутоиммунного процесса происходит срыв механизмов адаптации и истощение резервов иммунитета, аналогичные механизмы угнетения иммунитета обусловлены также возрастом больных, что нашло подтверждение в нашем исследовании. Выявлена корреляция между

показателями индекса эндоскопической активности (индекс Мейо) после трансплантации МСК и исходными значениями уровня иммуноглобулинов G ($r = -0,68$, $p < 0,001$), иммуноглобулинов A ($r = -0,75$, $p < 0,001$), иммуноглобулинов M ($r = -0,63$, $p < 0,001$), длительностью анамнеза ($r = 0,65$, $p < 0,01$) и возрастом больных ($r = 0,43$, $p < 0,05$).

Отсутствовала корреляция между индексом клинической активности (индекс Rachmilewitz), протяженностью поражения кишки ($r = 0,35$, $p < 0,05$), исходными значениями уровня ФНО- α ($r = -0,16$, $p > 0,05$), исходными значениями уровня ИЛ-4 ($r = -0,3$, $p > 0,05$), а также индексом эндоскопической активности (индекс Мейо) и протяженностью поражения кишки ($r = 0,35$, $p < 0,05$), исходными значениями в сыворотки крови ФНО- α ($r = -0,14$, $p > 0,05$), ИЛ-4 ($r = -0,4$, $p > 0,05$).

Данные о корреляционной зависимости между показателями клинической и эндоскопической активности через 2 месяца после трансплантации МСК и исходными значениями клинико-лабораторных показателей у больных ЯК представлены в табл. 2 и 3.

Многочисленные наблюдения, литературные данные, наш опыт свидетельствуют о том, что даже при сходных общеклинических характеристиках течение ЯК отличается значительным полиморфизмом, что проявляется началом заболевания в различном возрасте, разной протяженностью воспалительного процесса, наличием у ряда больных системных проявлений, разной частотой рецидивирования и длительностью ремиссии, а эффективность проводимой терапии МСК напрямую связана с состоянием иммунного статуса больных ВЗК.

По результатам проведенного иммунологического исследования у больных старше 60 лет выявлены нарушения прежде всего клеточного иммунитета. Наибольшим изменениям подвержено Т-клеточное звено, что проявляется в снижении общего числа зрелых Т-лимфоцитов в крови, утрате способности иммунного ответа на поликлональные Т-клеточные активаторы, снижении клеточного и гуморального ответа на Т-зависимые антигены. Это сопровождается уменьшением количества Т-хелперов, снижением выработки интерлейкина-2 и способности лимфоцитов на него реагировать. Уменьшается выработка антител классов IgG и IgA при одновременном увеличении иммуноглобулинов данных классов в крови, преобладает продукция низкоаффинных антител класса IgM. Снижение выработки антител и других опсонизирующих факторов сыворотки ведет к угнетению фагоцитарной активности нейтрофилов и макрофагов, которые вырабатывают меньше интерлейкина-1 [18]. Это приводит к тому, что снижается регенеративная способность тканей и органов, и это сразу обозначается на коже и слизистых оболочках организма. Например, у старого человека рана заживает в 3–5 раз медленнее, чем у молодого. Также существует гипотеза Л. Ю. Прохорова, что даже молодые и здоровые клетки, способные

Таблица 2

КОРРЕЛЯЦИОННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КЛИНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЧЕРЕЗ 2 МЕСЯЦА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК И ИСХОДНЫМИ ЗНАЧЕНИЯМИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ЯК		
Показатель	<i>r</i>	<i>p</i>
Индекс Мейо, баллов	0,87	< 0,001
IgG, г/л	0,87	< 0,001
IgM, г/л	0,72	< 0,001
IgA, г/л	0,70	< 0,001
ФНО- α , пг/мл	0,16	> 0,05
ИЛ-4, пг/мл	0,3	> 0,05
Длительность ЯК, лет	0,69	< 0,01
Возраст, лет	0,44	< 0,05
Протяженность поражения кишки	0,69	< 0,01

Таблица 3

КОРРЕЛЯЦИОННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЧЕРЕЗ 2 МЕСЯЦА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК И ИСХОДНЫМИ ЗНАЧЕНИЯМИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ЯК		
Показатель	<i>r</i>	<i>p</i>
Клинический индекс Рахмилевича, баллов	0,87	< 0,001
IgG, г/л	0,68	< 0,001
IgM, г/л	0,63	< 0,001
IgA, г/л	0,75	< 0,001
ФНО-α, пг/мл	0,14	> 0,05
ИЛ-4, пг/мл	0,4	> 0,05
Длительность ЯК, лет	0,65	< 0,01
Возраст, лет	0,43	< 0,05
Протяженность поражения кишки	0,35	> 0,05



к быстрой пролиферации, не могут долго выживать в окружении старых, неделящихся клеток [19].

Таким образом, результаты нашей работы показали, что трансплантация мезенхимальных стволовых клеток показана больным молодого и среднего возраста с высокой активностью процесса на ранних

стадиях заболевания, а не в поздние сроки, когда уже происходят необратимые изменения в тканях и органах вследствие выраженной иммуносупрессии на фоне длительного приема лекарственных препаратов, а также вследствие естественной инволюции иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maximow A. Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. (Demonstrationsvortrag, gehalten in der ausserordentlichen Sitzung der Berliner Hämatologischen Gesellschaft am 1. Juni 1909) // Folia Haematologica. — 1909. — Vol. 8. — P. 125–134.
2. Friedenstein A. J., Piatetzky S., Petrakova K. V. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells // J. Embryol. Exp. Morphol. — 1966. — Vol. 16. — P. 381–390.
3. Thomson J., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S. et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // Science. — 1998. — Vol. 282, № 5391. — P. 1145–1147.
4. Park S. C., Cho K. A., Jang I. S. et al. Functional efficiency of the senescent cells: replace or restore? // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2004. — Vol. 1019. — P. 309–316.
5. Timothy J., Nelson M. D., Behfar Atta et al. Strategies for Therapeutic Repair: The «R3» Regenerative Medicine Paradigm, Marriott Heart Disease Research Program, Division of Cardiovascular Diseases, Departments of Medicine, Molecular Pharmacology and Experimental Therapeutics, and Medical Genetics, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA // Clin. Transl. Sci. — 2008. — Vol. 1, № 2. — P. 168–171.
6. Шумаков В. И., Казаков Э. Н., Онищенко Н. А. и др. Первый опыт клинического применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для восстановления сократительной функции миокарда // Рос. кардиол. журн. — 2003. — Т. 5. — С. 42–50.
7. Ozbaran M., Omay S. B., Nalbantgil S. et al. Autologous peripheral stem cell transplantation in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease // Eur. J. Cardiothorac. Surg. — 2004. — Vol. 25, № 3. — P. 342–350.
8. Gordon G. J., Coleman W. B., Hixson D. C. et al. Liver regeneration in rats with retrorsine-induced hepatocellular injury proceeds through a novel cellular response // Am. J. Pathol. — 2000. — Vol. 156, № 2. — P. 607–619.
9. Ise H., Nikaido T., Negishi N. et al. Effective hepatocyte transplantation using rat hepatocytes with low asialoglycoprotein receptor expression // Am. J. Pathol. — 2004. — Vol. 165, № 2. — P. 501–510.
10. Tyndall A., Matucci-Cerinic M. Haematopoietic stem cell transplantation for the treatment of systemic sclerosis and other autoimmune disorders // Expert Opin. Biol. Ther. — 2003. — Vol. 3, № 7. — P. 1041–1049.
11. Tyndall A., Walker U. A., Cope A. et al. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells: a review based on an interdisciplinary meeting held at the Kennedy Institute of Rheumatology Division, London, UK, 31 October 2005 // Arthritis Res. Ther. — 2007. — Vol. 9. — P. 301 [published online 29 January 2007, doi: 10.1186/ar2103].
12. Савченко С. А. Восстановительная хирургия спинного мозга при его травматическом повреждении (экспериментально-клиническое исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2005.
13. Choumerianou D. M., Dimitriou H., Perdikiogianni C. et al. Study of oncogenic transformation in *ex vivo* expanded mesenchymal cells, from paediatric bone marrow // Cell. Prolif. — 2008. — Vol. 41, № 6. — P. 909–922.
14. Ulaner G. A. Telomere maintenance in clinical medicine // Am. J. Med. — 2004. — Vol. 117, № 4. — P. 262–269.
15. Tzukerman M., Selig S., Skorecki K. Telomeres and telomerase in human health and disease // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 15, № 3. — P. 229–240.
16. Kassem M. Mesenchymal stem cells: biological characteristics and potential clinical applications // Cloning Stem. Cells. — 2004. — Vol. 6, № 4. — P. 369–374.
17. Kassem M., Kristiansen M., Abdallah B. M. Mesenchymal stem cells: cell biology and potential use in therapy // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. — 2004. — Vol. 95, № 5. — P. 209–214.
18. Прохоров Л. Ю. Общая биология // О возможности применения стволовых клеток для увеличения продолжительности жизни человека (панацея от смерти?) (Доклад 19 декабря 2004 г.).