SLEDOVÁNÍ ZMĚN PARAMETRŮ BUNĚČNÉ IMUNITY U PACIENTŮ PO APLIKACI MEZENCHYMÁLNÍCH KMENOVÝCH BUNĚK.

T. Vlas (1. ročník), M. Holubova, D. Lysák, P. Panzner
Školitelé: Doc. MUDr. D. Lysák, PhD.
Ústav imunologie a alergologie LFUK a FN Plzeň

Východisko: Terapie pomocí mesenchymálních kmenových buněk (MSC) je předmětem zájmu mnoha medicínských oborů. Jejich imunomodulačních vlastností lze využít mimo jiné při léčbě reakce štěpu proti hostiteli (GVHD).

Cíl: Ověřit změny parametrů buněčné imunity u pacientů po aplikaci mezenchymálních kmenových buněk.

Metodika: MSC byly podány celkem 10 pacientům v dávce 2,4 (0,9-3,8) x10^6/kg. Vzorky pro analýzu byly odebrány v den 0, 14, 30, 60 a 100 a v 6-ti měsících. Stanovení Th1/Th2/Th17 bylo provedeno intracelulárním značením produkovaných cytokinů. Lymfocyty jsme separovali na hustotním gradientu a po dobu 24 hodin inkubovali při 37°C s inhibitorem endoplazmatického retikula (momensim). Následně jsme měřili pomocí průtokové cytometrie produkci IL-4 pro reaktivitu Th1, IFN-γ pro reaktivitu Th2 a IL-17 pro Th17. T regulační lymfocyty (Treg) byly detekovány jako CD4+/CD25+/FoxP3+ buňky ihned po odběru.

Výsledky: Při analýze pilotních dat jsme nenalezli významné rozdíly v zastoupení buněk produkující IL-4 a IFN–γ před a po podání MSC. V případě Th17 pozitivních buněk docházelo po léčbě MSC v poklesu exprese IL-17, která vrcholila v D+60 (změna před a v D+60 2,54%; to je 45%), poté se počet IL-17 pozitivních lymfocytů začínal opět zvyšovat. Hladiny Treg naopak po aplikaci MSC mírně stoupaly. Statisticky signifikantní vliv MSC na ostatní buněčné populace jako CD4+, CD8+, CD19+ a CD16+ nebyl zaznamenán. Při hodnocení klinického efektu v den +100 (7 pacientů) bylo dosaženo odpovědi u 5-ti nemocných, dávka kortikoidů snížena u všech nemocných (na 12-68%).

Závěr: První zkušenosti s měřením parametrů buněčné imunity u pacientů po podání MSC ukazují, že se jedná o proveditelnou analýzu s dobrou reprodukovatelností. S ohledem na nízký počet pacientů a variabilitě souboru (akutní i chronická GVHD) nejsou zatím změny v parametrech buněčné imunity z větší části statisticky významné. Klinicky se podařilo prokázat příznivý účinek této imunoterapie spočívající ve snížení stupně závažnosti GVHD a snížení dávky imunosuprese.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR-RVO (Fakultní nemocnice Plzeň-FNPl, 00669806) a grantem Nadace pro transplantaci kostní dřeně.