

Стволовые клетки в комплексном лечении хронической почечной недостаточности (Аналитический обзор)

Каюпов Б.А., Сапарбаев С.С., Уалиева С.К., Касымова Ж.А.

Центр клеточных технологий и трансплантаций
АО «Национальный научный медицинский центр», г. Астана,
Казахстан

АБСТРАКТ

В данной статье представлен аналитический обзор по вопросу применения стволовые клетки в комплексном лечении хронической почечной недостаточности.

По всему миру отмечается неуклонный рост числа больных, нуждающихся в длительной (пожизненной) заместительной терапии гемодиализом или в трансплантации почки. Во всех экономически развитых странах число вновь поступающих на диализ больных превышает число умерших, а общая группа пациентов, получающих заместительную почечную терапию, постоянно увеличивается.

Несмотря на достаточно широкое использование в клинике фетальных клеток и тканей, остаются нерешенными многие теоретические вопросы фетотрансплантации. Данный факт диктует необходимость проведения широкого спектра теоретических и прикладных работ с эмбриональными и фетальными клетками.

Ключевые слова: *стволовые клетки, хроническая почечная недостаточность, фетотрансплантация*

Общепризнанным является факт неуклонного роста числа больных, нуждающихся в длительной (пожизненной) заместительной терапии гемодиализом или в трансплантации почки. К примеру, во всех экономически развитых странах число вновь поступающих на диализ больных превышает число умерших, а общая группа пациентов, получающих заместительную почечную

терапию, постоянно увеличивается. По данным США (2000) на заместительной терапии находилось более 372 тыс. больных, что в 2 раза превысило показатели 1991 г. А к 2010 г. прогнозируется увеличение числа больных уреимией более 650 тыс. человек [1,2].

Все это делает чрезвычайно актуальным поиск способов и средств, использование которых позволяет максимально увеличивать время додиализного периода развития хронической почечной недостаточности (ХПН).

Первым по времени публикации и наименьшим по количеству больных в группе (72 пациента) является исследование U.S. Collaborative Study of Adult Idiopathic Nephrotic Syndrome [3]. Авторы продемонстрировали замедление прогрессирования ХПН в группе больных, получавших высокие – 120 мг/через день дозы кортикостероидов по сравнению с контрольной группой. Однако небольшое время наблюдения за пациентами и недостаточное количество больных в изучаемой группе вызвало критические замечания к этой работе [4,5]. Английская группа нефрологов под руководством J.S. Cameron в 1990 г. повторила предыдущее исследование, но с вовлечением большего количества больных (107 человек) и с периодом наблюдения более 5 лет. Авторы не отметили влияния преднизолона ни на уровень ПУ, ни на долговременную функцию почек [6]. D. Cattran с соавторами в 1989 г. [7] было опубликовано проспективное исследование, включавшее 158 больных МГН, в котором также не было обнаружено влияния кортикостероидной терапии на отдаленный прогноз МГН. Тем не менее, в последнем исследовании применялись только средние дозы стероидов - 45 мг/сут. В проведенном S.L. Hogan с соавторами мета-анализе результатов лечения МГН было подтверждено, что кортикостероиды не улучшают отдаленную почечную выживаемость больных [8].

Начиная с первых, ещё ретроспективных исследований, обнаружена большая частота достижения ремиссии при проведении цитостатической или комбинированной терапии по сравнению с терапией преднизолоном при МГН (46% и 33% ремиссии соответственно) [9]. К настоящему времени опубликованы результаты многих проспективных исследований, посвященных роли цитостатиков в торможении прогрессирования МГН. Тем не менее, возникают трудности с интерпретацией полученных результатов в связи с различными критериями включения в исследование и исхода заболевания, различными дозами и временем применения препаратов и периодом наблюдения за больными.

Два независимых проспективных исследования были

опубликованы группой С. Ponticelli et al. в 1984 и 1992 гг., включавшие, соответственно, 67 и 92 больных с НС и МГН [10,11]. В первой работе сравнивалась эффективность сочетанного применения преднизолона и хлорамбуцила по сравнению с симптоматической терапией. В группе больных, получавших более активную терапию, частота ремиссии была значительно выше, чем в контрольной группе. Во втором исследовании показано преимущество сочетанного лечения перед «чистой» кортикостероидной терапией. Особого внимания заслуживают результаты группы M.L. West et al. [12], показавшей снижение ПУ и замедление прогрессирования ХПН при применении цитостатиков. Только в этой работе критерием включения в исследование служила «высокая вероятность развития ХПН», то есть персистирующая ПУ выше 3,5 г/сутки и повышение уровня сывороточного креатинина. В дальнейшем эффективность цитостатиков при МГН, особенно при нарушении функции почек и высокой протеинурии, была подтверждена ещё в нескольких публикациях [13,14]. В настоящее время высказывается предположение, что, возможно, небольшая эффективность цитостатиков, обнаруженная R.J. Falk et al. [15] и B.F. Murphy et al. [16] связана с изначально низким риском развития ХПН у больных с нормальной функцией почек и небольшой протеинурией, характерной как для «контрольной», так и для «леченой» группы больных.

Опубликовано два исследования с применением мета-анализа, объединивших результаты как проспективных, так и ретроспективных исследований, в которых подтверждено, что относительная вероятность развития полной ремиссии выше у больных, получавших сочетанную терапию (кортикостероиды + цитостатики) [17].

В настоящее время единственным радикальным методом лечения терминальной стадии ХПН является трансплантация донорской почки. Вместе с тем, быстрое прогрессирование симптомов уремической интоксикации с развитием необратимых электролитных, метаболических и сердечно-сосудистых осложнений, ограничивающих проведение трансплантации органа, возрастающее число нуждающихся в трансплантации больных, высокая затратность данного метода лечения, требуют разработки новых подходов к трансплантологии. Статистика подтверждает и высокую частоту послеоперационных осложнений в виде острого или хронического отторжения донорской почки, обусловленного иммунной несовместимостью реципиента и донора. Поэтому в современной трансплантологии предпринимаются попытки

пересаживать не целый орган, а ткань донора, что открывает более широкие возможности коррекции нарушенных функций почек.

Созданы серьезные научные предпосылки для развития фетальной терапии и трансплантации клеток [18,19]. Специализированные соматические клетки лишены примеси ретикулэндотелиальной ткани, которая содержит до 70% антигенов органа, поэтому уровень иммунологических проблем в организме реципиента сведен до минимума по сравнению с пересадкой исходных органов.

Учитывая наибольшую патогенетическую адаптированность, целесообразно изучение возможности применения клеточной трансплантации, позволяющей успешно решать многие проблемы: нет необходимости в сложных хирургических вмешательствах, существенно сокращается потребность в донорском материале, снижается риск иммунного отторжения донорских клеток. Наиболее подходящим для этих целей донорским материалом являются фетальные клетки [20,21]. Каждая фетальная клетка имплантируется в 10-100 раз активнее в тканях реципиента и дает в 100-10000 раз больше клеток в ростках по сравнению с дифференцированными клетками человека из взрослых органов. При трансплантации фетальных клеток в организм реципиента переносятся компактно упакованные программы, которые, при благоприятных условиях, реализуются в строительство новой ткани, которая эффективно встраивается в организм реципиента на морфологическом и функциональном уровне [22].

Терапевтические эффекты пересадок могут быть связаны с эмбриоспецифическими ростовыми факторами, цитокинами и другими сигнальными молекулами, способными активизировать регенерацию и выживание клеток в организме реципиента. Предполагают, что введение взвеси фетальных клеток с помощью сети сигналов активирует специализированные и прогениторные клетки. Донорские и регенирующие клетки реципиента частично или полностью восстанавливают нарушенный молекулярный или клеточный гомеостаз [23,24].

К настоящему времени продолжают уточняться особенности взаимодействия резидентных гломерулярных клеток с другими клетками формирующегося иммунновоспалительного инфильтрата.

В эксперименте доказана роль интерлейкина-1 и интерлейкина-6 в пролиферации мезангиальных клеток и увеличении секреции компонентов внеклеточного матрикса

и синтезе коллагена 4 типа, что создает условия для прогрессирования склероза [25].

Введение взвеси фетальных нефроцитов вызывает гиперсекрецию растворимых медиаторов, регулирующих межклеточные взаимодействия в почечном клубочке. Если механизмы самозащиты клубочка недостаточны в результате формирования гломерулосклероза, то введение взвеси фетальных нефроцитов, содержащей ингибиторы цитокинов, комплемент, регулирующий протеин, противовоспалительные цитокины, антитромбоцитарные молекулы, белки теплового шока, медиаторы, угнетающие ангиотензин II, замедляет прогрессирование интерстициального фиброза и оказывает косвенное воздействие на сосудистый эндотелий.

В настоящее время эмбриональные ткани и клетки, а также созданные на их основе биопродукты, используются для лечения хронических воспалительных и дегенеративных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) – болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, различные миопатии, рассеянный склероз; кроме того заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), эндокринной и иммунной систем, заболевания почек, мужское бесплодие, импотенция, хронические заболевания, трудно поддающиеся лечению общепринятыми методами. Применение фетальной терапии позволило получить впечатляющие результаты по восстановлению нормального функционирования организма при сахарном диабете, некоторых заболеваниях печени и ряде других заболеваний. Значительные успехи достигнуты в лечении детского церебрального паралича (ДЦП), задержке психо-речевого развития, болезни Дауна, офтальмологических нарушений, рассеянного склероза [26,27,28].

Новые биотехнологии создают условия повышенной стимуляции пораженных органов и систем организма, ведущих к устранению (уменьшению) клинических проявлений заболеваний или предупреждению развития тяжелых осложнений болезни. Приготовленные из эмбриональных тканей и клеток, эти субстраты, применяемые в лечении, должны быть подвержены тщательной проверке биологических свойств и подлежат жесткому контролю на стерильность (отсутствие микробных и вирусных возбудителей), это позволяет вводить их посредством различных методов: инъекций, имплантации или трансплантации [29,30,31]. В настоящее время клеточная биология в качестве основного средства предотвращения и борьбы с болезнями предлагает

использовать клеточные культуры, полученные из тканей эмбриона – зародыша, или фетальные.

Сегодня трансплантация эмбриональных клеток превратилась в новый способ изучения раннего эмбрио- и органогенеза, возникновения и судьбы специализированных клонов в эмбриональных и фетальных тканях, анализа взаимодействия клеток в развитии. Пересадки специализированных соматических клеток используются с целью генной терапии или заместительной клеточной терапии в случае фетальных иммунодефицитов, наследственных дефектов клеточного метаболизма, а также острой функциональной недостаточности органов. Практически вся пренатальная медицина построена на манипуляциях с клетками и микромасштабной молекулярной диагностике [32]. Специализированные клетки крыс, человека и обезьяны стабильно выживают и функционируют в организме иммунодефицитных мышей. Ряд технологий с достаточной эффективностью используется в клиниках США, Европы и России для лечения острой печеночной недостаточности, цирроза печени, системных врожденных иммунодефицитов, нарушений гемопоэза, у пациентов с мышечной дистрофией и дегенеративными заболеваниями нервной ткани, репродуктивной системы, костной, хрящевой и покровных тканей, глаза, уха и других органов чувств [33]. На базе фетального материала тысячи биотехнологических компаний создают биоматериалы для заместительной клеточной терапии, установки для регенерации, а также искусственные органы для кратко- и долгосрочного использования.

Научно-практические исследования с фетальными тканями несколько лет назад переживали фазу научных дискуссий, становления биоэтических концепций и норм их проведения. Однако сегодня ежегодно по этой теме выходит огромное количество статей и книг [34].

Медицинская наука последних трех десятилетий создала серьезные предпосылки для развития фетальной терапии и трансплантации клеток. Исследователи и клиницисты искали пути уменьшения до разумного минимума количества трансплантируемой фетальной ткани, стремясь помочь максимальному количеству пациентов. Источником стандартизированного материала, необходимого для трансплантации, во всем мире становятся клеточные банки.

Клеточная трансплантология в настоящее время развивается в трех главных направлениях – пересадка специализированных

соматических клеток (ССК), пересадка региональных стволовых клеток (РСК), пересадка эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) [35]. Это обусловлено тем, что терапевтические эффекты пересадок могут быть связаны с эмбриоспецифическими ростовыми факторами, цитокинами и другими сигнальными молекулами, способными активировать регенерацию и выживание клеток в организме реципиента. Ряд специалистов полагает, что введение фетальных клеток в организм взрослой особи различными способами и с помощью сети сигналов активизирует специализированные и прогениторные клетки. Донорские и регенерирующие клетки реципиента частично или полностью восстанавливают нарушенный молекулярный или клеточный гомеостаз. Экспериментальные и клинические исследования, проводящиеся в последние годы [36] значительно стимулировали поиск новых классов биологически активных соединений. Например, недавно открыты новые белки фетальных клеток с высокой бактериостатической активностью, а также новые иммуномодуляторы фетальных тканей, контролирующие иммунный ответ матери на плод. Важный аспект фетотерапии – замещение отсутствующих клонов специализированных клеток непосредственно в организме больного.

Применение фетотерапии в клинике во многих ситуациях одновременно обгоняет фундаментальные исследования в этой области, что как положительно, так и отрицательно влияет на судьбу всего направления [37].

В перспективе клеточные трансплантации обладают рядом важнейших преимуществ по сравнению с пересадкой органов. Невозможность криопрезервации паренхиматозных органов, необратимое повреждение сосудистого эндотелия во время тепловой или холодовой ишемии, короткие сроки переживания паренхиматозных клеток *in situ* являются серьезными техническими барьерами, которые пока не удается преодолеть современной науке].

Фетальные соматические клетки имеют очевидные преимущества перед соматическими клетками взрослого донора по целому ряду причин. Во-первых, большинство фетальных клеток имеют слабо экспрессированные комплексы главных антигенов гистосовместимости (МНС-I и МНС-II), что на порядок уменьшает уровень посттрансплантационных осложнений. Во-вторых, фетальные органы содержат, в основном, бластные и стволовые клетки, наделенные мощным потенциалом пролиферации. Каждая пересаженная фетальная клетка в благоприятном

окружении способна дать самообновляющийся долгоживущий росток функциональной ткани в организме реципиента. В-третьих, фетальные и эмбриональные ткани, содержащие бластные популяции мезенхимальной и специализированной ткани, привносят уникальный комплекс цитокинов и ростовых факторов, которые стимулируют регенерацию донорской ткани. Ряд факторов воздействует на региональные стволовые клетки и стимулирует частичную рекапитуляцию эмбриогенеза. Фетальные ткани 17-32 недель развития практически полностью состоят их прогениторных клеток с высоким потенциалом миграции и репопуляции. Каждая фетальная клетка имплантируется в 10-100 раз активнее в ткани реципиента и дает в 100 – 10000 раз больше клеток в ростках по сравнению с дифференцированными клетками человека из взрослых органов. Пул региональных стволовых клеток составляет менее 1% численности клеток органа (если вспомнить, что взрослая печень содержит 100 миллиардов клеток, то пул овальных бластных клеток насчитывает десятки миллионов, что является огромным резервом для регенерации органа).

Не последнюю роль играет и меньшая себестоимость клеточных трансплантаций по сравнению с пересадкой целого органа. Экономические соображения обуславливают форсированное развитие более дешевых клеточных пересадок.

В пользу применения фетальной клеточной трансплантации свидетельствует следующее:

- методически несложная хирургическая процедура;
- возможность проведения повторных трансплантаций;
- возможность криоконсервирования донорских клеток с последующим созданием банка фетальных клеток;
- сравнительная дешевизна метода;
- способность фетальных клеток подвергаться дифференцировке в соответствии с заложенной генетической информацией в организме реципиента;
- содержание и продукция фетальными клетками большого количества биологически активных веществ;
- отсутствие иммунной реакции отторжения имплантированных фетальных клеток;
- устойчивость фетальных клеток к гипоксии.

Таким, образом, следует отметить, что, несмотря на достаточно широкое использование в клинике фетальных клеток и тканей, остаются нерешенными многие теоретические вопросы фетотрансплантации. Данный факт диктует необходимость

проведения широкого спектра теоретических и прикладных работ с эмбриональными и фетальными клетками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство «Нефрология». Под редакцией Тареевой И.Е. – М., Медицина. – 2002. – Т. 2. – 679 с.
2. Мухин Н.А., Тареева И.Е., Краснова Т.Н. и соавт. Сандиммун (циклоспорин А) в лечении хронического гломерулонефрита // Клиническая фармакология и терапия. – 1995. - №2. - С. 38-39.
3. Cattran D.C., Delmore T., Roscoe J. et al. A randomized controlled trial of prednisone in patients with idiopathic membranous nephropathy // N. Engl. J. Med. - 1989. - V.320. - P. 210-215
4. Donadio J.V., Torres V.E., Velosa J.A. et al. Idiopathic membranous nephropathy: The natural history of untreated patients // Kidney. Int. - 1988. - V. 33 P. 708 - 715.
5. Davison A.M., Cameron J.S., Kerr D.N. et al. The natural history of renal function in untreated idiopathic membranous glomerulonephritis in adults // Clin. Nephrol. - 1984. - V.22. - P.61-67.
6. Cameron J.S., Healy M.J., Adu D. The Medical Research Council trial of short-term high dose alternate day prednisolone in idiopathic membranous nephropathy with nephritic syndrome in adults // The MRC Glomerulonephritis Working Party [see comments]. Q. J.Med. - 1990. - V. 74. - P. 133-156
7. Shearman J.D., Yin Z.G., Aarons I. et al. The effect of treatment with prednisolone or cyclophosphamide-warfarin-dipyridamole combination on the outcome of patients with membranous nephropathy // Clin. Nephrol. - 1988. - V.30. – P. 320-329.
8. Hogan S.L., Muller K.E., Jennette J.C. et al. A review of therapeutic studies of idiopathic membranous glomerulopathy // Am. J. Kidney. Dis. - 1995. - V. 25. - P.862-875.
9. Ehrenreich T., Porush J.G., Churg J. et al. Treatment of idiopathic membranous nephropathy // N. Engl. J. Med. - 1976. - V. 295. - P. 741-746.
10. Ponticelli C., Zucchelli P., Passerini P. et al. A randomized trial of methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy // N. Engl. J. Med. – 1989. - V. 320. - P. 8-13
11. Ponticelli C., Zucchelli P., Passerini P. et al. Methylprednisolone plus chlorambucil compared with methylprednisolone alone for the treatment of idiopathic membranous nephropathy. The Italian Idiopathic Membranous Nephropathy Treatment Study Group // N. Engl J Med. - 1992. – V. 327. – P. 599-603.
12. West M.L., Jindal K.K., Bear R.A. et al. A controlled trial of cyclophosphamide in patients with membranous glomerulonephritis // Kidney Int. - 1987. - V.32. - P. 579-584
13. Donadio J.V., Holley K.E., Anderson C.F. et al. Controlled trial of cyclophosphamide in idiopathic membranous nephropathy // Kidney Int. - 2004. – V. 6. - P. 431 - 439.
14. Ponticelli C., Zucchelli P., Passerini P. et al. A 10-year follow-up of a randomized study with methylprednisolone and chlorambucil in membranous nephropathy // Kidney Int. - 2005. - V. 48. - P. 1600-1604.
15. Falk R.J., Hogan S.L., Muller K.E. et al. Treatment of progressive membranous glomerulopathy. A randomized trial comparing cyclophosphamide and corticosteroids with corticosteroids alone: The Glomerular Disease Collaborative Network // Ann. Intern. Med. - 1992. - V. 116. - P. 438-445.
16. Murphy B.F., Fairley K.F., Kincaid Smith P.S. Idiopathic membranous glomerulonephritis: Long-term follow-up in 139 cases // Clin. Nephrol. – 1988. - V. 30. - P. 175-181.
17. Imperiale T.F., Goldfarb S., Berns J.S. Are cytotoxic agents beneficial in idiopathic membranous nephropathy. A meta-analysis of the controlled trials // J. Am. Soc. Nephrol. - 1995. - № 5. - P. 1553 - 1558.

18. Грищенко В.И. Достижения и перспективы развития клеточной и тканевой терапии // Международный медицинский журнал. – 1999. – Т. 5, №4. – С. 6 – 9.
19. Doskaliev J.A., Jolmunchedov K.K., Zazorin B.V. Pretransplantational Cultivation of Embryonal Hepatocytes Cells in Man // Progress in gastroenterology and hepatology (Part III). – Hannover (Germany). – 2001. – P. 16.
20. Сухих Г.Т., Ерин А.Н. Пересадка фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – Т. 126. – С. 3-12.
21. Сухих Г.Т., Богданова И.М., Малайцев В.В. и соавт. Иммунологические аспекты пересадки фетальных клеток // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – С. 178-182.
22. Лопухин Ю.М., Коган Э.М. Критерии жизнеспособности органов и тканей перед пересадкой. – М.: Медицина. – 1975. – 278 с.
23. Репин В.С. Пересадка клеток: новые реальности в медицине // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – Т. 126. – С. 13-23.
24. Руководство «Нефрология». Под редакцией Тареевой И.Е. – М., Медицина. – 2002. – Т. 2. – 679 с.
25. Репин В.С. Пересадка клеток: новые реальности в медицине // Пересадка фетальных тканей и клеток. – 1998. – Т.126. – С. 3–13.
26. Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология – М. - 1998. – 178 с.
27. Granhold A.C.E., Curtis M., Diamont D.M. Development of an intact BBB in brain tissue transplants in dependent on the site of transplantation // Cell Transplant. – 1996. – V.5. - № 2. – P. 305-314.
28. Maymi M., Kimata H., Suehiro Y. et al. DiGeorge syndrome with hypogammaglobulinaemia: a patient with excess suppressor T cell activity treated with fetal thymus transplantation. // Eur. J. Pediatrics. – 1989. – V. 148. – P. 518-522.
29. Зонов А.В., Думан А.И., Самарин Д.М. и соавт. Некоторые аспекты применения трансплантационной фетальной терапии в неотложной хирургии // Материалы конференции «Актуальные вопросы хирургии». - Барнаул, 1998. – P. 45-49.
30. Зонов А.В., Думан А.И., Селедцов В.И. и др. Опыт использования трансплантационной фетальной терапии в лечении диффузных заболеваний органа. // Материалы конференции «Актуальные вопросы хирургии». – Барнаул, 1998. – P. 51-55.
31. Talcott J.A., Siegel R.D., Finber R. et al. Risk assessment in cancer patients with 119 fever and neutropenia: a prospective, two-center validation of a prediction rule // J. Clin. Oncol. – 1992. - V.10. - P. 316-322.
32. Mitch W.E., Walser M., Buffington G.A. et al. A simple method of estimating progression of chronic renal failure // Lancet. – 1976. – V. 2. - P. 1326-1327.
33. Reggia J.A. Neural computation in medicine // Artif. Intell. Med. – 1993. - №5 - P. 143-157.
34. Куликов А.В., Жданов Р.И. От пересадки генов к пересадке клеток и тканей: генно-клеточная и клеточная терапия. Пересадка фетальных тканей в иммунопривлекательные участки организма как способ компенсации экспериментальной патологии // Вопр. биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2000. – № 1. – С. 42-47.
35. SAS Institute: Statistical Analysis System, Version 5.18 // SAS Institute. - 1985. – 487 с.
36. Eddy A.A., Giachelli C.M. Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria // Kidney Int. – 1995. - V.47 (6). - P. 1546-1557.
37. Репин В.С. Биомедицинские технологии. - М., 2000. – вып.13. – 276 с.