

нии концентрации FVII в плазме и снижения дозы rFVIIa. Дозу рекомбинантного препарата удалось поддерживать на уровне 20% от предшествующей суточной дозы в течение нескольких месяцев. Через 6 месяцев после ТГ суточные дозы rFVIIa вновь потребовалось увеличить до исходных, что, возможно, было связано с потерей функции трансплантата. Кроме того, за это время наблюдалось развитие катетерного сепсиса (купированного антибиотиками) и эпизодов флеботромбозов у обоих детей. Это было связано с нахождением катетеров для инфузий в нижней брыжеечной и периферических венах. В связи с высоким риском инфицирования, кровотечений и флеботромбозов было принято решение не производить повторных ТГ, а выполнить трансплантацию печени при доступности донорского органа, без текущей отмены введения rFVIIa. Через 7 и 8 месяцев после ТГ каждому ребенку успешно была пересажена печень, что привело к полной коррекции метаболического дефекта. В настоящее время эти дети чувствуют себя хорошо. Это был первый опыт ТГ у детей с дефицитом VII фактора коагуляции. Единственным радикальным методом лечения патологии можно считать трансплантацию печени [8]. Поэтому поиск методов «клеточной замены» функции повреждённых гепатоцитов остаётся актуальной задачей. В данном случае была показана возможность коррекции наследственных коагулопатий в целом, хотя метаболический эффект поддерживался только в течение полугода. Однако, это именно то время, которое можно выиграть для поиска органа, подходящего для трансплантации. Кроме того, было показано, что даже после криоконсервации (что было вы-

полнено у реципиента 1) донорские гепатоциты способны восполнить дефицит плазменных факторов коагуляции в течение нескольких месяцев, что важно для создания клеточных криобанков и ТГ в экстренных ситуациях. Резюмируя мировой опыт клинической ТГ последних 10 лет, можно сделать следующие выводы:

- ТГ пока не может служить самостоятельным методом лечения тяжёлых заболеваний и повреждений печени, а является лишь «мостом» к трансплантации донорского органа;

- метод позволяет надёжно корригировать метаболические дефекты (как наследственные, так и возникающие при развитии острой печёночной недостаточности различного генеза), связанные с нарушением функции гепатоцита в течение нескольких месяцев;

- метод инвазивен, связан с установкой катетера в систему воротной вены и с интенсивным наблюдением персонала трансплант-центра, поэтому доступен только в соответствующих больницах;

- более широкое распространение метода в клинике и развитие ТГ как самостоятельного направления будет связано с поиском новых источников клеточного материала (стволовые клетки трупной печени, клетки костного мозга, дифференцировка и экспансия собственных стволовых клеток), менее инвазивных путей введения (ангиоскопия и ангиография, катетеризация пупочной вены, лапароскопический доступ) и возможность выполнять многократные инфузии (усовершенствование катетеров и методов их имплантации).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Fox I.J. et al. Treatment of the Crigler-Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation. *N Engl J Med* 1998; 338: 1422–6.
2. Sokal E. et al. Hepatocyte transplantation in a 4-year-old girl with peroxisomal biogenesis disease: technique, safety, and metabolic follow-up. *Transplantation* 2003; 76: 735–8.
3. Mitry R.R. et al. One liver, three recipients: segment IV from split-liver procedures as a source of hepatocytes for cell transplantation. *Transplantation* 2004; 77: 10: 1614–6.
4. Horslen S.P. et al. Isolated hepatocyte transplantation in an infant with a severe urea cycle disorder. *Pediatrics* 2003; 111: 1262–7.
5. Muraca M. et al. Hepatocyte transplantation as a treatment for glycogen storage disease type 1a. *Lancet* 2002; 359: 317–8.
6. Darwish A.A. et al. Permanent access to the portal system for cellular transplantation using an implantable port device. *Liver Transpl* 2004; 10: 9: 1213–5.
7. Mitry R.R. et al. Human hepatocyte isolation and relationship of cell viability to early graft function. *Cell Transplant* 2003; 12: 69.
8. Levi D. et al. Liver transplantation for factor VII deficiency. *Transplantation* 2001; 72: 1836.

Подготовил А.В. Берсенов;
по материалам *Transplantation* 2004;78: 1812–1814.

Аутологичная внутрипортальная трансплантация CD133+ клеток для регенерации печени

Известно, что печень отличается высокой способностью к репаративной регенерации за счёт гепатоцитов и собственных стволовых клеток. Однако, часто репаративных способностей органа бывает недостаточно для полной компенсации функции, и пациенты умирают от печёночной недостаточности. Особенно острой эта проблема является в хирургической гепатологии, когда остаточный объём печёночной ткани (ООП) (менее 25% от общего объёма) после обширных резекций (более 5 сегментов) не способен поддерживать метаболическую функцию органа на должном уровне. Для увеличения объёма остаточных сегментов печени после её обширных резекций было предложено использовать метод преоперативной селективной портальной венозной эмболизации (СПЭ) контрлатеральных сегментов.

Метод оказался довольно безопасным и применяется для регенерации левых боковых сегментов (II и III), при правосторонней трисегментэктомии [1, 2]. Однако у некоторых пациентов, особенно с первичными и вторичными опухолями печени, длительное ожидание перед резекцией (составляющее как минимум 150 дней [2]), необходимое для достижения адекватной массы регенерирующей ООП, может быть недопустимо в связи с возможной быстрой прогрессией заболевания и развитием печёночной недостаточности. Идея стимуляции регенерации печени аутологичными стволовыми клетками костного мозга не нова и опирается на богатую экспериментальную базу [3, 4]. Популяция CD133+ была описана как ранние предшественники гемопоэтических клеток в костном мозге [5, 6] и считается од-

ной из самых привлекательных в плане аутологичной клеточной терапии. Так, уже было сообщено о первом успешном применении аутологичных CD133+ клеток для кардиомиопластики в клинике [7, 8, 11]. Вышеуказанные факты послужили предпосылками для начала клинического исследования эффективности трансплантации аутологичных CD133+ клеток для стимуляции регенерации печени при её обширных резекциях у онкологических пациентов. Исследование проходило в Heinrich-Heine-University of Duesseldorf (Germany) и было опубликовано в недавнем номере журнала Stem Cells. Исследование проведено на трех пациентах с большими центральными опухолями печени. Эти больные находились в ожидании обширных резекций, но с прогнозируемым ООП менее 20%. Ожидание достижения регенеративного эффекта СПЭ было чревато быстрым прогрессом печёночной недостаточности в связи с низким качеством (цирроз) и малым объёмом оставшейся паренхимы или распространением рака. В контрольную группу (без клеточной трансплантации) вошли 3 пациента с аналогичной клинической картиной и планом хирургических вмешательств. Объём аспирата костного мозга составил 220 мл (у двух пациентов) и 60 мл (у третьего пациента). CD133+ выделяли методом магнитного сортирования (CliniMACS). Перед введением клеток проводили портографию и СПЭ мини-лапаротомическим доступом. Катетер, введённый прямо в систему воротной вены, подводили к соответствующим сегментам и вводили полимерно-алкогольные материалы (polyvinyl alcohol, microcoils, Histoacryl/Lipiodol). Клетки вводили внутрипортально сразу после СПЭ в 80 мл фосфатного буфера, в количестве 8,8, 12,3 и 2,4 миллионов соответственно, медленно в течение 8 минут под флюороскопическим контролем. Для этого катетер устанавливали в ветви III и IV (неокклюзированных) сегментов. ООП измеряли методом компьютерной томографии. Прирост ООП составил 51%, 122% и 43% (9,87 мл/день) после 22, 21 и 14 дней соответственно от момента трансплантации. В группе контроля (СПЭ без введения клеток) наблюдали 2-кратно меньшее увеличение ООП (4,03 мл/день) в контрольных сроках 22, 23 и 26 дней после процедуры. Осложнений, связанных с вмешательствами, отмечено не было. У двух пациентов в послеоперационном периоде возникло инфицирование раны с кратковременной лихорадкой. В этот период наблюдали повышение уровня трансаминаз, в то время как другие биохимические показатели крови оставались в пределах нормы. После достижения регенераторного эффекта и получения должной ООП производили трисегментэктомию (I, IV, VII) по Ру. Послеоперационный период протекал с временным повышением уровня биохимических маркеров печёночной недостаточности (трансаминазы, билирубин), возвратившихся к приемлемому уровню на второй неделе. Один из пациентов подвергся релапаротомии в связи с потерей желчи через катетер. В контрольной группе, два пациента были признаны неоперабельными в связи с распространением опухоли на левые боковые сегменты, третий пациент подвергся обширному оперативному вмешательству (расширенная резекция печени была дополнена частичной панкреатодуоденальной резекцией) и умер на 10-й день от полиорганной недостаточности.

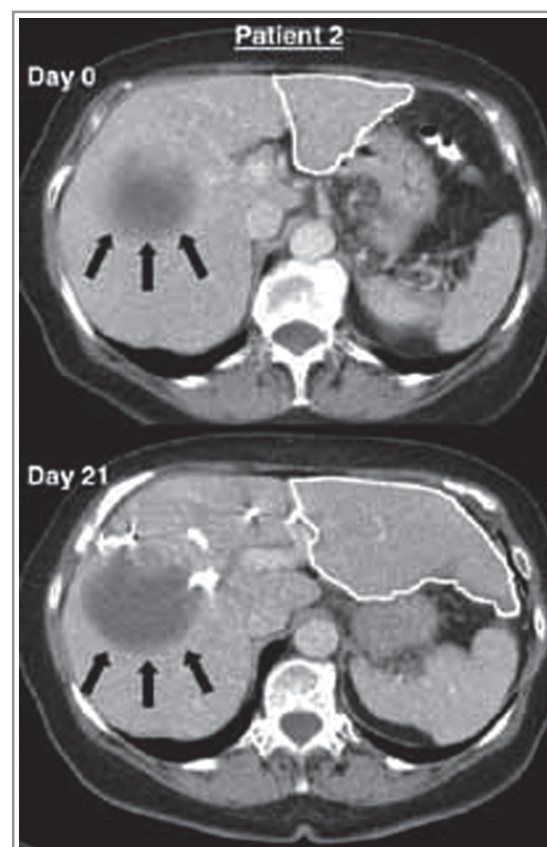


Рис. Компьютерная томограмма на уровне печени. Прирост объёма печени (сегменты II и III) через 21 день после трансплантации CD133+ клеток (отмечено стрелками) у пациента 2. Компьютерная томография. Из Stem Cells 2005; 23: 463-470.

Таким образом, это исследование продемонстрировало техническую выполнимость и безопасность процедуры аутологичной трансплантации CD133+ клеток с целью стимуляции регенерации ООП у больных с опухолями печени. Пока имеется только три наблюдения, пациенты были не рандомизированы, однако предварительные выводы о безопасности и эффективности клеточной трансплантации сделать можно. Было показано ускорение регенерации ООП в 2,5 раза по сравнению с группой контроля. Однако контрольная группа была слишком «тяжёлой», и сделать окончательные выводы об эффективности процедуры можно будет только при анализе большего числа наблюдений. Интересно также, почему наблюдался большой разброс данных по чистоте популяции CD133+ после сортирования (91%, 11,9% и 69,7% соответственно)? Очень важен вопрос и об онкогенной безопасности трансплантации CD133+ клеток в клинике. В последнее время стали появляться сообщения о CD133+ как раковых стволовых клетках взрослого человека [9, 10]. Поэтому оценка онкогенной безопасности такой трансплантации в клинике очень важна. В этом исследовании не приводятся результаты длительного наблюдения пациентов после трансплантации и оперативных вмешательств.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Hemming A.W. et al. Preoperative portal vein embolization for extended hepatectomy. Ann Surg 2003; 237: 686-91.
2. Broering D.C. et al. Portal vein embolization vs. portal vein ligation for induction of hypertrophy of the future liver remnant. J Gastrointest Surg 2002; 6: 905-13.
3. Masson S. et al. Potential of hematopoietic stem cell therapy in hepatology: a critical review. Stem Cells 2004; 22; 6: 897-907.
4. Fujii H. et al. Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. J Hepatol 2002; 36: 653-9.
5. Yin A.H. et al. AC133 a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. Blood 1997; 90; 12: 5002-12.
6. Miraglia S. et al. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. Blood 1997; 90; 12: 5013-21.

7. Stamm C. et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. Lancet 2003; 361: 45–6.
8. Pompilio G. et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation for myocardial regeneration: a novel strategy for cell collection and surgical injection. Ann Thorac Surg 2004;78:1808–13.
9. Singh S.K. et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. Cancer Res 2003 63: 5821–5828.
10. Singh S. et al. Identification of human brain tumor initiating cells. Nature 2004; 432: 396–400.

*Подготовил А.В. Берсенов;
по материалам Stem Cells 2005; 23: 463–470.*

Трансплантация гепатоцитов: клиническое наблюдение фатального портального тромбоза

Современное развитие клинической клеточной трансплантологии предусматривает определение показаний, противопоказаний, выявление осложнений и разработку безопасных протоколов введения клеток в организм человека. Пересадка зрелых гепатоцитов и малодифференцированных клеток костного мозга продемонстрировала безопасность и возможность использования этой технологии в клинике [1,2]. Трансплантированные клетки заметно улучшают функцию печени и общее состояние пациентов. С целью улучшения включения клеток в ткани реципиента (энgraфтинга), современная методика трансплантации гепатоцитов (ТГ) и стволовых клеток подразумевает их внутриворотное введение через сосудистый катетер [1, 3, 4]. Метод был разработан группой Shapiro (Канада) для трансплантации островковых клеток при диабете [5] и считается методом выбора в клинике. Для внутриворотной трансплантации используются различные доступы – по Сельдингеру, катеризация пупочной вены у детей, чрескожная транспеченочная пункция, лапаротомическая или лапароскопическая установка катетеров в селезеночную артерию или воротную вену и ветви её бассейна (например, брыжеечные вены). Известно, что сам факт установки катетера и его длительное нахождение в сосуде являются фактором риска возникновения тромбозов. На риск таких осложнений, особенно у больных с печеночной недостаточностью (сопровождающейся коагулопатиями), указывала ещё группа Rapier, впервые осуществившая внутриворотную ТГ пяти детям с семейной гиперхолестеринемией [6]. Однако, тромботические осложнения, непосредственно связанные с ТГ, не были описаны за всю 10-ти летнюю историю клинического применения метода.

В журнале Transplant International опубликовано клиническое наблюдение из University Hospital Udine (Италия), описывающее портальный тромбоз после трансплантации гепатоцитов, приведший к смерти пациента. Мужчине 54-х лет, страдающему алкогольным циррозом печени, дважды была произведена трансплантация донорской печени, и оба раза трансплантированный орган не функционировал. У пациента отмечалась гипербилирубинемия и коагулопатия. На фоне отсутствия функции печени добавились и такие осложнения, как острая почечная недостаточность и синегнойная пневмония. Ввиду отсутствия возможности повторной трансплантации в связи с тяжестью состояния была выполнена интрапортальная трансплантация аллогенных гепатоцитов в дозе 14 миллионов клеток/мл. Всего

было введено 280 мл суспензии в четыре приема с интервалом 30 мин. Через 12 часов после ТГ возникли симптомы острого портального тромбоза. Попытки тромболизиса привели к частичной реканализации правой ветви, однако пациент умер через 48 часов после трансплантации клеток. Данные аутопсии показали, что тромбоз возник в результате агрегации трансплантированных гепатоцитов. Это

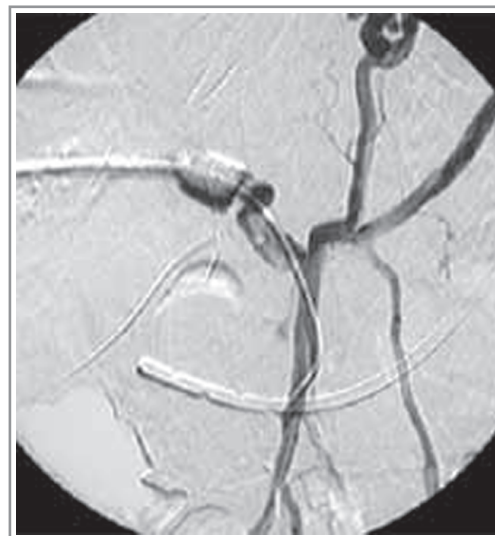


Рис. Портография. Тромбоз правой и левой ветвей воротной вены после трансплантации клеток. Из Transpl Int 2005; 18; 6: 750–754.

первый в мире описанный случай смерти человека в результате трансплантации донорских гепатоцитов, введенных в портальную систему. Тем не менее, данное наблюдение не позволяет сделать однозначный вывод о том, что только ТГ привела к смерти пациента. Крайне тяжелое состояние, обусловленное двумя трансплантациями органа, наличие сопутствующих поражений почек и легких, приведших к полиорганной недостаточности, не могло не сказаться на фатальном прогнозе. При такой сопутствующей патологии также не следовало бы рассчитывать на должный энgraфтинг донорских гепатоцитов. Признаки тканевой эмболии, найденные на аутопсии, могут указывать как на