

Раздел II

**КЛИНИКА И МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ.
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА.
НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ**

УДК 612.014

КЛИНИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК[#]

Д.В. ИВАНОВ*, А.А. ХАДАРЦЕВ**, В.А. ХАДАРЦЕВ*, О.А. СЕДОВА**,
О.А. МИТЮШКИНА*

Ключевые слова: стволовые клетки, лечение

Стволовая клетка (СК) – это незрелая клетка, способная к самообновлению и развитию в специализированные клетки организма. Большая их часть находится в костном мозге. СК можно выделять и растить в культуре ткани. Способность давать множество разнообразных клеточных типов делает их важнейшим восстановительным резервом в организме, который используется для замещения дефектов.

Наиболее примитивные – *эмбриональные стволовые клетки (ЭСК)*, которые формируются, как внутренняя клеточная масса к 5 дню после оплодотворения, обладают наибольшим потенциалом к самообновлению, дифференцировке, воспроизведению клеток других видов (*плюрипотентностью*), и клетки плода (*фетальные СК*). Применение ЭСК ограничивается не решенностью законодательных и этических проблем, отсутствием коллекции ЭСК, годных к клиническому применению. ЭСК экспрессируют большую часть своего генома «случайным образом». Такая разрешенная экспрессия включает родо-специфические и тканеспецифические гены, некодирующие области генома (которые обычно «безмолвствуют»), повторные последовательности генома, которые также в обычном состоянии не экспрессируют.

Клиническое применение нашли аутологичные СК, мезенхимальные СК. Мировой опыт их использования представлен десятками миллионов трансплантаций при различных заболеваниях с положительным эффектом. Кроме того, используется стимуляция выхода СК из депо – различными способами.

СК при сердечно-сосудистой патологии. Воссоздана одна из разновидностей тканей человеческого сердца при помощи СК костного мозга. Эта ткань выполняет роль сердечных клапанов. Разработанная методика перспективна для выращивания из СК полноценного сердца для трансплантации больным (Великобритания, 2007). Выращены структурно полноценные капиллярные кровеносные сосуды из СК человеческого эмбриона. Используются капиллярные клетки, генерированные из СК, импортированных в 2002 году из Австралии (Япония, 2004).

Испытана технология *AngioStem* – трансплантация СК пушпинной крови для восстановления кровеносных сосудов, проведены клинические испытания лечения болезней периферических артерий аутологичными СК костного мозга (Indiana Center, 2007). Наиболее эффективны методы трансплантации аутологичных миоцитов и СК костного мозга в ткани сердца. Опыт трансплантации располагают медицинские центры Европы, Азии и США, России. При этом имеются трудности приготовления препаратов, инвазивность методики трансплантации – необходимость коронароангиографии или операции на сердце.

Альтернатива – методика мобилизации СК костного мозга с помощью *гранулоцитарного колоний-стимулирующего фактора (Г-КСФ)*. Стимулом к выходу СК является смесь хемо- и цитокинов, в частности Г-КСФ. Он стимулирует пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических и мезенхимальных клеток-предшественниц. Вызывает миграцию СК к очагу воспаления (повреждения) также хемокин, получивший название *фактора стволовых клеток (SCF)*. Важную роль в регенерации миокарда играет *сосудистый фактор роста (VEGF)*.

Кроме костного мозга, каждый орган имеет собственное «тканевое дело» клеток-предшественников. Мышечные клетки-сателлиты (менее 5% всех миоцитов) представляют собой «мышечную» популяцию постнатальных СК, сохраняют высокий потенциал превращения в высокодифференцированные миоциты.

Необходимым условием для физиологической регенерации миокарда является: наличие стимула к выбросу мезенхимальных СК в кровотоки, свободный доступ СК к месту повреждения, высокая концентрация СК в кровотоке (в месте повреждения).

Повысить концентрацию СК можно путем трансплантации субстрата, обогащенного СК в область повреждения (путем обкалывания соответствующей зоны миокарда во время операции на открытом сердце, или введением обогащенного субстрата в «заинтересованную» артерию ниже места окклюзии (стеноза). Другой путь повышения концентрации – мобилизация собственных СК в кровотоки путем стимуляции костного мозга Г-КСФ при подкожном введении. Возможно совмещение обеих методик.

Кардиологи *University Hospital of Navarre* в сотрудничестве с отделением Клеточной терапии, и с *Gregorio Maranon Hospital in Madrid* в 2006 г. осуществили трансплантацию зрелых СК (миобластов) в сердце людей, перенесших инфаркт миокарда. Вводили клетки при использовании катетера, а не во время хирургической операции. СК, способные обращаться в мышечную ткань, отделяли от кровоторных СК, вводили в коронарную артерию во время операции стентирования через зонд, при помощи которого расширитель внедряется в заблокированную артерию (Великобритания, 2006). В США 14 больным с ИБС и тяжелой левожелудочковой дисфункцией сделано в среднем по 15 инъекций аутологичных костномозговых мононуклеаров, выделенных за 4 часа до вмешательства. Каждый раз вводилось до 2 млн. СК. Осложнений не было. Достоверно улучшались клинические и гемодинамические показатели, увеличена фракция выброса.

Нуждаются в дальнейших исследованиях процессы, происходящие в ткани-реципиенте с пересаженными клетками (их трансдифференциация или межклеточная интеграция), какие клеточные и генетические механизмы регулируют эти процессы и какая роль в них отведена иммунному ответу, механизмам апоптоза. Не получены прямые клинические подтверждения появления «новых» кардиомиоцитов после трансплантации СК или введения Г-КСФ.

СК при инсульте. СК внедряются с помощью матрицы из саморастворяющегося в организме биополимера, который заполнялся СК нервной ткани и вводился в пораженные участки мозга. Преимущество данного метода в том, что частицы биополимера вводятся через очень тонкую иглу, и СК доставляются точно в нужный участок мозга. При этом создаются связи со здоровыми клетками, и ткань растет быстрее. Нужно всего семь дней для того, чтобы СК заполнили пространства с поврежденными клетками в головном мозге (Великобритания, 2008).

СК при почечной недостаточности. Восстановление почечной ткани при трансплантации фетальных почечных клеток в определенные сроки гестации (т.к. при ранних сроках СК могут дифференцироваться в др. виды тканей, а при поздних – наблюдалось слабое формирование почечных структур) (Корея, 2007).

СК при катаракте. Использовали 1 СК, взятую из края роговицы, которая была помещена в питательную среду. Спустя неделю она развилась в группу клеток, а на четвертой неделе преобразовалась в роговицу диаметром 2 см. Таким же образом был получен тонкий защитный слой (конъюнктива), покрывающий роговицу снаружи. Впервые полноценная ткань человеческого организма выращена из единственной СК (Япония, 2007).

СК при ДЦП. Трансплантированные в организм СК стимулируют репарацию нервной ткани и замещают поврежденные

[#] Обзор литературы на основе >500 первоисточников по клиническому использованию стволовых клеток

*ГУПТО НИИ новых медицинских технологий

**ГБОУ ВПО «Тюльский государственный университет»

клетки, восстанавливая функциональное поврежденного мозга. СК восстанавливают нормальное кровоснабжение, активируют собственные механизмы репарации. Чем раньше начато лечение, тем оно эффективнее. Однако, наблюдается положительная динамика при применении СК даже в 20-летнем возрасте.

Клеточный трансплантат проходит 3-уровневое тестирование, которое включает в себя два иммуноферментных анализа и одно ПЦР-тестирование. Применены СК у 125 больных. Им выполнено 310 клеточных трансплантаций. В результате лечения очевидные неврологические улучшения наблюдались у подавляющего большинства (у 85%) пролеченных пациентов.

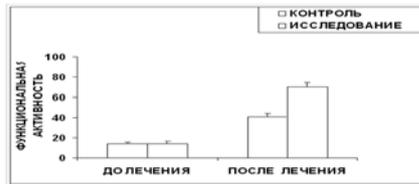


Рис. 1. Активность основных психомоторных функций у пациентов до и через 1 год после лечения



Рис. 2. Уровни самообслуживания пациентов до и через 1 год после лечения

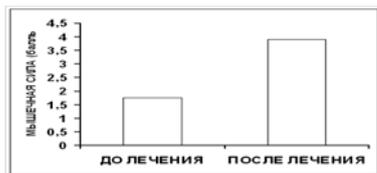


Рис. 3. Мышечная сила пациентов

СК при болезни Альцгеймера. При болезни Альцгеймера – аккумуляция в мозге амилоидных белков. Они образуют бляшки, вокруг которых накапливаются клетки микроглии – иммунные клетки ЦНС, введение которых не эффективно в борьбе с амилоидными белками. Клетки микроглии, полученные из СК – инфильтрируют амилоидные бляшки и разрушают их, СК привлекаются амилоидными белками, токсичными для нейронов. После введения СК – улучшается память, начинаются процессы восстановления тканей мозга. В большинстве случаев СК способны полностью остановить развитие болезни Альцгеймера.

СК при болезни Паркинсона. Болезнь Паркинсона – хроническое, прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, связанное с утратой клеток, содержащих дофамин. Клинически – дрожание конечностей, замедление движения и ухудшение баланса. Лекарственная терапия дает временное облегчение, ведет к осложнениям, замещающие дофамин препараты ведут к увеличению дозировки и резистентности. СК продуцируют дофамин, отсутствующий при болезни. Введение СК ведет к экспансии определенного их числа в мозг и дифференцировке в функциональные нейрональные клетки. Используются взрослые СК пациента, иногда применяют и аллогенные клетки.

СК при болезни Рейно. Синдром Рейно (СР) – на фоне коллагенозов, часто при склеродермии. Нарушение кровообращения ведет к некрозам тканей верхних конечностей, гангрене. Велика роль профзаболеваний: вибрационной болезни, интоксикации химическими веществами. С СР протекают заболевания позвоночника, болезни ЦНС (синдром миелита, мозговые инсульты). СР, в отличие от *болезни Рейно* (БР) – чаще односторонний. БР не связана с коллагенозами, ее причина не ясна, как и СР. БР – вазоспастическая болезнь со спазмом кровеносных сосудов.

Хирургическое лечение БР и СР – симпатэктомиа, «выключающая» нервные волокна с патологической импульсацией. Наименее травматична эндоскопическая симпатэктомиа.

Принципиально новый метод лечения БР и СР – лечение СК, полностью останавливающий СР и БР, т.к. нормализует кровообращение и стимулирует нервные клетки к регенерации.

СК при мышечной дистрофии Дюшена. Мышечная дистрофия Дюшена – наследственное нервно-мышечное заболевание с частотой до 1:5000 новорожденных мальчиков. На начальной стадии заболевания дегенерация мышечных волокон компенсируется активной регенерацией мышечных фибрилл благодаря делению и слиянию вспомогательных клеток. С возрастом мышечная слабость прогрессирует, мышцы замещаются фиброзной и жировой тканью. Мальчики к 12 годам оказываются прикованными к креслу-каталке. Смерть наступает в возрасте около 30 лет из-за нарушения работы сердца и диафрагмы.

Введение СК останавливает развитие и обеспечивает заметное улучшение. Часть введенных СК мигрирует в скелетные мышцы, где сливается с миофибриллами. В первые 2 месяца после введения сила различных групп мышц возрастает на 100-700% и сохраняется на высоком уровне в течение 8-15 мес. Улучшаются двигательные способности в зависимости от стадии болезни: улучшается качество ходьбы, способность опираться на пятку и ходить по лестнице, отрыв от пола стал более уверенным, возрастает переносимость дневных нагрузок.

СК при боковом амиотрофическом склерозе. *Боковой амиотрофический склероз* (БАС) – прогрессирующее заболевание, с развитием слабости и атрофии пораженных мышц больного, с мышечной дисфункцией, неспособностью и смерти или зависимости от вспомогательных средств дыхания через 3 года после того появления слабости мышц. Причина БАС – прогрессирующая потеря мышечных моторных нейронов. Поражаются нервные клетки спинного мозга или ствола головного мозга, связанные с мышцами, и в коре головного мозга, связанные с нижними моторными нейронами. Также при БАС могут быть затронуты нервные клетки и цепочки, которые находятся в передней доле головного мозга.

Ни один способ лечения не эффективен при БАС, кроме СК, задерживающих прогрессирование этой болезни. Около 70 % введенных при БАС СК развиваются в новые нервные клетки, большинство из которых образует связи с нервными клетками спинного мозга. При этом болезнь прогрессирует медленнее и больные БАС живут дольше.

СК при травмах спинного мозга. Хирургические методы лечения бывают эффективны в острый период травмы, но часто не приводят к улучшению неврологического статуса больных при давности травмы более 12 ч., поскольку не устраняется основная причина – повреждение невральных структур спинного мозга.

Применение СК – единственное решение проблемы. Способность их к превращению в клетки мозга можно использовать для частичного восстановления функций поврежденного спинного мозга. После первого курса лечения СК у спинальных больных происходит восстановление функций тазовых органов, уменьшение двигательных нарушений. У ряда пациентов на фоне введения СК отмечается положительная динамика – появление чувствительности по мозаичному типу. Восстановление спинальных больных происходит эффективнее при терапии *аутологичными* (собственными) клетками пациента.

СК при миастении. Миастения – аутоиммунное нервно-мышечное заболевание, клинически – патологическая слабость и утомляемость произвольной мускулатуры, с глазодвигательными, бульбарными нарушениями, слабостью жевательных и мимических мышц, мышц шеи и конечностей, с распространением от одностороннего птоза до вовлечения практически всех произвольных мышц. Лечение дает положительный эффект в виде ремиссии на фоне медикаментозных средств или без них у 80%. При лечении миастении СК достигается полное выздоровление или стойкая длительная ремиссия. Улучшение начинается сразу после внутривенного введения СК: исчезают птоз, глазодвигательные нарушения, слабость жевательных и мимических мышц, мышц шеи и конечностей, дыхательные расстройства. После курса лечения СК в большинстве случаев миастения исчезает.

СК при СКВ. СК восстанавливают собой иммунной системы, в результате чего перестают вырабатываться вещества, повреждающие сосуды, кожу, суставы, внутренние органы. При лечении *системной красной волчанки* (СКВ) СК останавливают прогрессирующее воспаление. После введения они попадают в зону гибели клеток сердца, легких и головного мозга, замещают рубцовую ткань на здоровые клетки, восстанавливая функциональную способность органов. СК синтезируют вещества, активи-

вирующие процессы регенерации, а чем раньше начать лечение СКВ СК, тем быстрее она происходит. При воздействии СК у реципиентов развивается стойкий смешанный *химеризм* – состояние, при котором формирующаяся иммунная система представляет собой не конфликтующую смесь клеток донора и реципиента. При этом у реципиентов исчезают проявления симптомов аутоиммунного заболевания, в том числе протеинурия, а также *циркулирующие* в крови *иммунные комплексы* (ЦИК) и аутоантигены к ядерным антигенам.

Методы клеточной терапии СКВ сходны с таковой при онкогематологических заболеваниях: у пациента сначала брали костный мозг, затем проводилась химиотерапия высокими дозами циклофосфамида, в результате чего иммунная система пациента полностью разрушалась. После этого для восстановления иммунной системы вводились отобранные ранее СК костного мозга; в большинстве случаев аутоиммунная агрессия после этого прекращалась. Испытания проводились с 1997 по 2005 год группой ученых из *Northwestern University Feinberg School of Medicine* (Чикаго). Средняя пятилетняя выживаемость пациентов была 84%, устойчивая ремиссия за этот период – 50%, наибольший период ремиссии – 7,5 лет. Смертность – 4%. Эти результаты лучше, чем при стандартных методах лечения. К недостаткам метода относится опасность инфекций в период становления новой иммунной системы. Авторы исследования рекомендуют применение СК в тех случаях, когда болезнь угрожает жизни пациента и не поддается стандартным методам лечения.

СК при аутоиммунных болезнях и болезни Крона. Аутоиммунные болезни лучше всего лечатся СК, как и *болезнь Крона*.

После терапии *болезни Крона* СК устанавливается стойкая ремиссия сразу после введения СК и подтверждается рентгенологическими и колоноскопическими исследованиями. Симптомы и маркеры *болезни Крона* быстро исчезают. При поздних стадиях *болезни Крона*, при свищах – сначала идет оперативное вмешательство, а потом курс лечения СК, во избежание рецидивов.

СК и сахарный диабет 2 типа. При лечении диабета применяют собственные, аллогенные клетки и комбинированный подход, что зависит от индивидуальных особенностей организма. Например, при диабете часто бывает ишемия конечностей. Тогда инъекции также делают и в нижние конечности.

В Новосибирском НИИ клинической иммунологии СО РАМН внедрён способ трансплантации СК при сахарном диабете. В период с 2004 по 2007 год в клинике пролечено 34 пациента, страдающих сахарным диабетом. Одной группе пациентов вводились собственные СК, другой – СК плода. После трансплантации СК на вторые сутки улучшалось качество жизни пациентов. Уровень сахара в крови снижался на 20%, что позволило снизить или отменить дозу инсулина. Улучшалась чувствительность в нижних конечностях, переносимость физических нагрузок, исчезло чувство онемения и боли в мышцах. При комплексном лечении на 10-15 сутки восстанавливался иммунный статус, стабилизировался уровень глюкозы в крови, других лабораторных показателей сахарного диабета, в течение месяца после процедуры отмечено достоверное увеличение синтеза С-пептида, снижалась суточная доза вводимого экзогенного инсулина, титр аутоантител к антигенам *b*-клеток, к инсулину, к глутаматдекарбоксилазе, повышалась резистентность больного к сахарной нагрузке, отмечалось значительное улучшение качества жизни и самочувствия, оцениваемое стандартными объективными методами, улучшались клинические показатели – снижение частоты гипогликемических эпизодов. Положительная динамика достигала максимума к 3 мес. после процедуры и в последующем оставалась стабильной длительное время.

СК и сахарный диабет 1 типа. Трансплантация инсулин-продуцирующих островковых клеток – единственная возможность излечения сахарного диабета 1 типа. Получены синтезирующие инсулин и С-пептид клетки, образующие островковоподобные структуры из клеток пуповинной крови после выделения популяции клеток, экспрессирующих маркер *SSEA-4* и маркер мультипотентных СК *Oct4* (Корея, 2007). При трансплантации СК костного мозга в поджелудочную железу они трансформируются в бета-клетки, продуцирующие инсулин, что ведет к отказу от инсулинотерапии и приема сахароснижающих препаратов (Компания «Реметэкс», испытания под руководством ученых РАМН).

Выделен белок-антиоксидант *SS31*, проникающий в островковые клетки и укрепляющий мембраны митохондрий, сохраняющий их поляризацию и предотвращающий апоптоз клеток. Это

повышает выживаемость трансплантата так, что клеточного материала от одного донора хватит для излечения диабета у 1 человека (Weill Cornell Medical College, 2007).

СК и цирроз печени. В Новосибирске в лаборатории клеточных технологий НИИ клинической иммунологии СО РАМН разработан и внедряется способ трансплантации СК в печень.

На 180 сутки после трансплантации в пораженной циррозом печёночной ткани начинают появляться очаги восстановления, то есть идёт процесс активной регенерации. Спустя 12 мес. после трансплантации у 100% больных не выявляется развития типичных осложнений цирроза печени.

СК и псориаз. Псориаз лечат введением собственных, или аллогенных СК (когда псориаз обусловлен генетическими причинами), при этом исчезают псориатические бляшки. При местном введении СК стимулируют клеточную пролиферацию и фибриногенез, синтез коллагеновых и эластических волокон и укрепление каркаса дермы, восстанавливают микроциркуляцию и стимулируют обменные процессы. СК вызывают постепенное замещение дефекта ткани собственными новообразованными коллагеновыми волокнами, регенерацию кожи естественным путем. Введение СК при псориазе ведет к частичному или полному клиническому выздоровлению, нормализуя иммунный, гематологический и эндокринный статус. Резко снижается титр вирусных антигенов и противовирусных антител (*IgM*) вплоть до полного их исчезновения. Снижается активность до полного купирования хронических воспалительных процессов, ликвидируются признаки хронической эпидермиса и дермы, рассасывание келоидных рубцов.

СК и артрозы. СК участвуют в лечении даже тяжелого артроза, вплоть до излечения. Действие СК основано на улучшении питания пораженных суставов и обмена веществ во всём организме. При в/венном введении СК отмечается уменьшение или полное исчезновение болей в суставах, пораженных артрозом. Местное введение СК в зону болевых ощущений, в сам сустав, зачастую приводит к полному излечению. Эффективность СК при лечении артроза и сопутствующих заболеваниях составляет в среднем 85%. Эффект от лечения СК заметен сразу.

СК и остеохондроз. Действие СК при лечении остеохондроза основано на улучшении питания тканей позвоночника, обмена веществ в позвонках и во всём организме. Это обеспечивает активацию восстановительных процессов в пораженных остеохондрозом позвонках. Даже при простом внутривенном введении СК у большинства отмечается уменьшение или исчезновение болей в позвоночнике, пораженном остеохондрозом.

Несмотря на большой мировой опыт эффективного применения СК при различных заболеваниях, остаются проблемными: выбор клеточного материала для лечения, оптимизация дозировки, путей введения. Целесообразен поиск природных средств, полей и излучений, способствующих мобилизации собственных СК, подобно Г-КСФ. Необходима унификация способов оценки эффективности применения клеточных технологий.

УДК 616-003.93

ВОЗМОЖНОСТИ ФИТОЛАЗЕРОФЕРЕЗА В СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССА КЛЕТОЧНОЙ И ТКАНЕВОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ

В.Г. КУПЕЕВ, Е.В. КАСАЕВА, Р.В. КУПЕЕВ*

Ключевые слова: регенерация, стволовые клетки

Стимуляция выработки стволовых клеток и ускорение процессов регенерации на всех уровнях организма, что является приоритетным направлением медицины.

Цель работы – выявление эффективности медицинской технологии фитолазерофереза в процессах стимуляции процесса регенерации тканей и органов, используя: фитостероиды растительного происхождения; лазеропунктуру – воздействие *низкоинтенсивного лазерного излучения на биологически активные точки* (БАТ) и *биологически активные зоны*.

Материалы и методы. В центре восстановительной медицины «АИРМЕД» разработана методика фитолазерофереза, позволяющая добиться стимуляции выработки молодых клеток и

* Центр восстановительной медицины «АИРМЕД», г. Москва