



В результате уже через 3 месяца после трансплантации аутогенных хондробластов наблюдали улучшение состояния тканей межпозвонковых дисков, проявляющееся в гидратации тканей, увеличении высоты диска, что выявлено при магнитно-резонансной томографии (режим T2). Морфологическими методами было показано, что хондроциты выживают после трансплантации, пролиферируют (метка BrdU), синтезируют белки межклеточного матрикса (протеогликан) и коллаген (I и II типов).

Уменьшение и полное исчезновение болевого синдрома наблюдали в течение двух лет (что соответствует рентгенологической картине восстановления диска). Клиническое состояние пациентов значительно улучшалось по всем функциональным шкалам, применяемым в исследовании. У всех

пациентов после трансплантации клеток не потребовалось последующее оперативное лечение, несмотря на неполное удаление тканей диска и высокую вероятность вторичной протрузии.

Таким образом, проведенное клиническое исследование в рамках первой фазы показало безопасность и эффективность трансплантации аутогенных хондробластов для восстановления тканей межпозвонкового диска у пациентов, подвергнутых их удалению малоинвазивным способом. Исследования по программе EuroDisc продолжаются. В настоящее время в программу включено 140 пациентов в нескольких медицинских центрах. В ближайшее время стоит ожидать отчетов о II и III фазах клинических испытаний из ряда других центров. На данный метод лечения возлагаются большие надежды.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Anderson D.G., Albert T.J., Fraser J.K. et al. Cellular therapy for disc degeneration. *Spine* 2005; 30(17 Suppl): S14–9.
2. Anderson D.G., Risbud M.V., Shapiro I.M. et al. Cell-based therapy for disc repair. *Spine J.* 2005; 5(6 Suppl): 297S–303S.
3. Antoniou J., Steffen T., Nelson F. et al. The human lumbar intervertebral disc: Evidence for changes in the biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, aging, and degeneration. *J. Clin. Invest.* 1996; 98, 996–1003.

4. Gorensek M., Jaksimovic C., Kregar-Velikonja N. et al. Nucleus pulposus repair with cultured autologous elastic cartilage derived chondrocytes. *Cell Mol. Biol. Lett.* 2004; 9(2): 363–73.

5. Gruber H.E., Johnson T.L., Leslie K. et al. Autologous intervertebral disc cell implantation: a model using *Psammomys obesus*, the sand rat. *Spine* 2002; 27(15): 1626–33.

6. Sato M., Asazuma T., Ishihara M. et al. An experimental study of the regeneration of the intervertebral disc with an allograft of cultured annulus fibrosus cells using a tissue-engineering method. *Spine* 2003; 15; 28(6): 548–53.

Подготовил: А.В. Волков

По материалам: *Biomol. Eng.* 2006 *Epub.*

Первое опубликованное наблюдение введения эмбриональных стволовых клеток человеку

Во всем мире активно ведутся дебаты о возможностях клинического применения эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и их дериватов в будущем. Безусловно, ЭСК — это перспективный и практически неограниченный источник клеточного материала любого типа для целей регенеративной медицины. С другой стороны, этот источник таит в себе ряд опасностей — потенциальный риск канцерогенеза и иммунного отторжения. Противники применения ЭСК в клинике считают, что эти риски избежать невозможно и будущие перспективы связаны только с терапией взрослыми стволовыми клетками. О намерениях применять дериваты ЭСК в клинике неоднократно заявляли различные исследовательские группы. Сторонники этого подхода считают, что риска канцерогенеза можно избежать методами высокой очистки специализированных зрелых или прогениторных клеток от недифференцированных ЭСК, а иммунное отторжение предотвратить использованием технологии переноса клеточного ядра реципиента в донорскую яйцеклетку. Однако до сих пор ни одного сообщения в научных журналах о трансплантации ЭСК или их дериватов человеку не появлялось.

В недавнем номере журнала *Transplantation Proceedings* сообщается о первом введении ЭСК и их дериватов человеку. Авторы из Institute of Transplantation Sciences (Gujarat, India) приводят клиническое наблюдение пациента — мужчины 40 лет — с хронической почечной недостаточностью, которому выполняли трансфузию ЭСК с целью индукции толерантности к пересаженной почке. Подход авторов исследования основывался на данных о возможности достижения толерантности

к почечному аллотрансплантату методом введения больших доз гемопоэтических клеток от того же донора перед трансплантацией органа [1–3]. Трансплантация ЭСК и гемопоэтических клеток вместе с обычным протоколом индукции, по мнению авторов, должна была усилить химеризм и ускорить наступление толерантности к донорскому органу без иммуносупрессии в посттрансплантационном периоде.

Родственный донор почки — сестра пациента, также согласилась на донацию костного мозга, «мобилизацию» гемопоэтических клеток в периферическую кровь и стимуляцию овуляции для забора яйцеклеток. В предтрансплантационном периоде пациенту вводили лейкоциты донора, а также нефракционированные клетки костного мозга в тимус, интратрансплантационно и внутривенно на фоне иммуносупрессии по разработанным ранее протоколам [1–3]. ЭСК получали методом переноса ядра кумулюсной клетки этого же донора в знукелированный ооцит. После выделения ЭСК из сформировавшейся бластоцисты выполняли их безсывороточное кокультивирование с аутогенными нефракционированными клетками костного мозга для создания условий, индуцирующих гемопоэтическую дифференцировку.

Перед внутривенным введением клеточная суспензия представляла из себя смесь гемопоэтических и недифференцированных ЭСК донора. Фенотипическая характеристика клеточного трансплантата — 66,58% CD45⁺/7,58% CD34⁺, ряд клеток имели маркеры ЭСК — слабопозитивны по SSEA-1, сильнопозитивны по SSEA-4, Oct-3/4, TRA-1/60. Кариотипическая картина клеток перед трансплантацией

была нормальной. Количество вводимых клеток 10 000/кг веса реципиента. Трансплантацию почки выполняли через неделю после трансфузии клеток, совместимость органа 6/6 HLA.

Благодаря такому подходу авторам удалось добиться увеличения химеризма периферической крови с 1% (после стандартных протоколов индукции) до 8% (после трансфузии ЭСК). Уровень химеризма крови исследовали методом идентификации X-хромосомы (FISH). Через 100 дней после трансплантации донорский химеризм поддерживался на уровне 4%. Это позволило авторам полностью отказаться от иммуносупрессии после пересадки органа. Исследователи заключают, что используемый протокол безопасен в течение всего времени наблюдения (100 дней). Признаки острого канальцевого некроза аллотрансплантата были незначительными, функции печени и донорской почки оставались нормальными, признаков реакции «трансплантат против хозяина» не отмечали.

Впервые представленное клиническое наблюдение введения аллогенных ЭСК вызывает много вопросов. Первое, что вызывает опасения — потенциально высокий риск туморогенеза при использовании приведённого протокола выделения и трансплантации ЭСК. Так, исследователи указывают, что в клеточном трансплантате присутствовали клетки, несущие маркеры плюрипотентности — истинные

ЭСК. В этом плане было бы интересно узнать дальнейшую судьбу пациента и долгосрочный результат наблюдения. Вызывает сомнения протокол стимуляции гемопоэтической дифференцировки ЭСК, поскольку были использованы нефракционированные клетки костного мозга как индуктор, но не чистая стромальная фракция. Это могло привести к контаминации ЭСК–трансплантата гемопоэтическими CD34⁺ и зрелыми иммунными клетками из костного мозга. Кроме того, в краткосрочной культуре (2 дня) не применялось никаких гемопоэтических цитокинов. Авторы указывают, что не наблюдали никаких иммунологических нарушений, хотя клетки были аллогенными. С другой стороны, совместимость донора и реципиента по HLA была полной — 6/6.

Тем не менее, основной результат, по мнению авторов заключается в достижении индукции толерантности и значительном увеличении химеризма именно благодаря введению ЭСК. Наблюдение уровня химеризма около 5% в течение 100 дней после трансплантации органа позволяет сделать положительный прогноз по индукции толерантности и ведению пациента без иммуносупрессии [1–3]. В данном наблюдении донорский химеризм поддерживался на уровне 4% через 100 дней, однако пациент восстановил функцию пересаженной почки и не принимал иммуносупрессантов. И самое важное, что используемый протокол был признан полностью безопасным в течение всего времени наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Trivedi H.L., Shah V.R., Vanikar A.V. et al. High dose allogeneic PBSC infusion—a strategy to induce allograft hypo-responsiveness in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr. Transplant.* 2002; 6: 63–8.
2. Trivedi H.L., Shah V.R., Shah P.R. et al. Mega dose unfractionated donor bone

marrow derived cell infusion in thymus and periphery – an integrated clinical approach for tolerance in live related renal allograft. *Transplant. Proc.* 2001; 33(1–2): 71–6.

3. Trivedi H.L., Vanikar A.V., Modi P.R. et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, mixed chimerism and tolerance living-related donor renal allograft recipients. *Transplant. Proc.* 2005; 37(2): 737–42.

Подготовил А.В. Берсенёв

По материалам: *Transplant. Proc.* 2006; 38(9): 3103–8

Лечение ишемии нижних конечностей методом трансплантации мобилизованных стволовых клеток периферической крови — результаты клинических испытаний в Японии

Ишемия нижних конечностей (ИНК) различного генеза является распространённым сосудистым заболеванием, которое может приводить к развитию гангрены, а в 20–30% случаев требует ампутации [1]. Эффективность традиционных методов лечения (простагландиновая терапия, шунтирование) зависит от сложности заболевания и сопутствующих факторов риска, среди которых распространены сахарный диабет и длительная история гемодиализа [2, 3].

Клеточная трансплантация может быть эффективным методом лечения ИНК, приводящим к восстановлению кровоснабжения мышц [4]. Разными клиническими группами используются различные виды и источники клеток, методики их получения и введения. Различаются также критерии отбора пациентов и масштабность испытаний [4].

Японские исследователи Kawamura A. et al. недавно опубликовали результаты своей пятилетней работы, в которой

показана эффективность лечения ИНК путем трансплантации аутогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), мобилизованных в периферическую кровь. Работа является масштабным продолжением предыдущих исследований, в которых для лечения ишемии конечностей применяли трансплантацию мобилизованных стволовых клеток периферической крови СК ПК [5, 6].

В исследование было включено 92 пациента с разной степенью тяжести заболевания, подписавших информированное согласие на лечение. 68 пациентов имели многолетнюю историю прохождения гемодиализа по поводу почечной недостаточности. В отличие от предыдущих исследований, где сахарный диабет был исключающим критерием [10], в это испытание вошли 62 пациента с многолетней историей диабета 2-го типа. Средний период наблюдения после лечения составил 9,3 месяца.