

ОБЗОРЫ

Применение клеток пуповинной крови в клинической практике

А.А. Исаев¹, В.С. Мелихова²

¹ ОАО «Институт стволовых клеток человека», Москва

² НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва

The Use of Cord Blood Stem Cells in Clinical Practice

A.A. Isaev¹, V.S. Melihova²

¹ Human Stem Cell Institute, Moscow

² General Pathology and Pathophysiology Institute, Moscow

Обзор посвящен применению основных типов клеток, выделяемых из пуповинной крови и тканей пупочного канатика. В двух частях обзора рассказано о клиническом опыте использования клеток при борьбе с онкологическими и имеющими другое происхождение болезнями.

Основные результаты клинических испытаний у детей и взрослых кратко представлены в таблицах. Кроме того, отдельные разделы обзора посвящены трудностям использования и препятствиям к повсеместному (более широкому) распространению методик трансплантации, а также перспективным направлениям клинического применения клеток ПК.

Ключевые слова: пуповинная кровь, стволовые клетки, клинические исследования.

Первая трансплантация клеток пуповинной крови (ПК) была проведена в 1988 году пациенту с анемией Фанкони [1]. По разным данным, в период с 1993 по 2007 год было выполнено 8000–9000 трансплантаций ПК. Общее количество замороженных образцов составляет 350–400 тысяч по всему миру [2]. Их количество с каждым годом растет, это связано со следующими факторами:

- появляются новые подтверждения преимуществ неродственной трансплантации клеток ПК по сравнению с клетками костного мозга (КМ);
- улучшается долгосрочный прогноз после использования клеток ПК;
- низкое число клеток в образце ПК преодолевается при помощи трансплантации двух образцов ПК или экспансии клеток *in vitro*;
- увеличивается общее количество банкированных образцов;
- улучшаются условия логистики и общей доступности образцов.

По количеству ежегодных трансплантаций ПК лидирует Япония, затем идут США, где половина трансплантаций у детей приходится на ПК, а у взрослых пациентов этот показатель достигает 20% [2]. Однако до 40% смертность после пересадки клеток ПК все еще связано с инфекционными заболеваниями, как и при любом другом типе гемотрансфузии [3]. Кроме того, существует информация, свидетельствующая о том, что критическая доза клеток, меньше которой, смертность значительно возрастает, составляет $1,7 \times 10^5$ CD34⁺/кг [4]. На момент написания обзора количество

здесь мы обобщаем общие достижения в области пуповинной крови (как и в области стволовых клеток). В основной части обзора мы обсуждаем клинический опыт использования клеток-предшественников из пуповинной крови в лечении онкологических и других заболеваний.

Основные результаты клинических испытаний у детей и взрослых пациентов кратко представлены в нескольких таблицах. Кроме того, в обзоре посвящено внимание некоторым трудностям и проблемам, связанным с использованием клеток пуповинной крови и общим перспективным направлениям клинического применения.

Key words: cord blood, stem cells, clinical trials.

клинических исследований (в фазе набора испытуемых пациентов), проводимых с использованием ПК, только в США составляло 150 [5].

1. Гематологические заболевания

Область применения клеток ПК в гематологии – наиболее широкая, по сравнению с другими областями медицины. В этом случае о ПК говорят прежде всего как об источнике гемопоэтических клеток. Одной из наиболее многообещающих и молодых методик является пересадка двух частично-родственных образцов ПК. Эта методика уже находится в 3-й фазе клинических испытаний. Показано, что данная практика приводит к ускоренному восстановлению количества нейтрофилов (в среднем – 24 дня) после миелоабляции, а приживление (энграфтмент) составляет 90% (у взрослых). Этот результат повторяет эффективность применения у детей. Несмотря на то, что механизм действия и относительный вклад как подготовительной терапии флударабином (Fludarabine), так и влияние двойной дозы ПК неясно и для его понимания требуется более глубокий анализ, сочетание этих двух факторов обеспечивает стабильный положительный эффект при неродственной трансплантации у взрослых. Другой перспективной методикой, позволяющей достаточно быстро добиться восстановления числа нейтрофилов, является совместная пересадка частично HLA-совпадающих стволовых клеток ПК без Т-клеток (после Т-клеточной деплеции), это обеспечивает быстрое (10 дней), но временное восстановление нейтрофилов. Несмотря на это, такая методика может служить «мостом» и к достижению долгосрочного эффекта.

Еще одним способом применения ПК, проходящим первые клинические испытания, является трансфузия клеток ПК непосредственно в костный мозг. Это может позволить сократить потери клеток при внутривенной трансплантации, т.к. известно, что значительное количество этих клеток оказывается в паренхиматозных органах (легкие, печень) [6]. Другие методики включают совместную трансфузию Т-клеток (CD4⁺CD25⁺) и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), т.к., по предварительным данным, эти клетки обеспечивают иммуносупрессию и способствуют лучшему приживлению трансплантата, а также поддерживают гемопоэз, синтезируя факторы роста и формируя межклеточные контакты, обеспечивая гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) нишей [7].

1.1. Неродственная пересадка

Первая неродственная трансплантация клеток ПК была проведена в 1993 году J. Kurtzberg в Duke University. Пациенту в возрасте 20 месяцев с острым лейкозом была проведена трансплантация клеток ПК. Сейчас этот пациент здоров и является наиболее долгоживущим пациентом после трансплантации ПК [8]. Также было отмечено, что при частичном несовпадении HLA5/6 при достаточном количестве клеток удается добиться результатов, аналогичных тем, что наблюдаются при трансплантации полностью совместимых клеток (6/6) [9]. В 2005 году правительство США утвердило бюджет на создание «Изобретений в области пуповинной крови» (National Cord Blood Inventory) в размере 80 млн долларов на следующие 5 лет («Акт о терапии и исследовании в области стволовых клеток 2005», «Stem Cell Therapeutic and Research Act of 2005»). Основные результаты неродственных пересадок у детей приведены в таблице 1 (цит. по Ballen K.K. New trends in umbilical cord blood transplantation. Blood 2005;105: 3786–92).

1.1.1. Злокачественные заболевания

Острые лейкозы

Данное заболевание у детей чаще всего требует аллогенной пересадки ГСК. Последние исследования показывают, что через 1 год после трансплантации уровень выживаемости пациентов составляет 59%, а через два года – 47%

[10]. При этом было подсчитано, что среднее количество клеток составило $6-8 \times 10^7$ /кг, а уровень восстановления нейтрофилов составил 81%. Однако стоит отметить, что уровень выживаемости в значительной степени зависел от возраста пациента.

Результаты по применению клеток на более взрослых пациентах выглядят значительно скромнее. Кроме того, результаты в этой группе значительно более разнородные. Одна исследовательская группа заявляет 22–25%–ный уровень выживания для пациентов с вторичным лейкозом [11]. Это исследование включает данные собранные из нескольких клинических центров.

V. Rocha и E. Gluckman (2006) провели ретроспективное исследование, сравнивая результаты после пересадки клеток ПК и гаплоидентичных ГСК (без Т-клеток) [3, 12]. У реципиентов гаплоидентичных ГСК был значительно снижен риск развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), однако через 2 года общая смертность в обеих группах становилась одинаковой. У пациентов с острой миелоидной лейкемией также не наблюдалось развития рецидивов в течение 2 лет после трансплантации, вне зависимости от источника ГСК.

В целом, ПК можно рассматривать как полностью закономерный и обоснованный источник ГСК для пациентов с острой лейкемией, нуждающихся в аллогенной трансплантации.

Хронический миелолейкоз (ХМЛ)

Исследований по лечению хронического миелоидного лейкоза с применением клеток ПК гораздо меньше, по сравнению со всеми остальными заболеваниями. Так, P. Rubinstein с соавт. указывает на 20%–ю выживаемость после неродственной трансплантации при ХМЛ [13]. При этом уровень рецидивов составил от 10 до 20%, что значительно отличалось от такового при использовании клеток КМ без Т-лимфоцитов.

Миелодиспластический синдром

Редкие работы отдельно посвящены применению клеток ПК при лечении миелодиспластического синдрома, чаще всего исследователи указывают на значительный разброс цифр выживаемости пациентов через 2 года после пересадки – от 25% до 75% [14].

Таблица 1. Основные результаты неродственных трансплантаций клеток ПК у детей

Опубликовано	Кол-во пациентов	Заболевание	Среднее время наблюдения	Уровень выживаемости в отсутствие проявлений симптомов заболевания
Kurtzberg J. et al., 1994	25	ОЛЛ, ОМЛ, МДС	13 мес.	48%
Locatelli F. et al. 2005	60	ОЛЛ, ОМЛ	14 мес.	34%
Gluckman E. et al., 2006	65	ОЛЛ, ОМЛ, МДС, ХМЛ, лимфома, анемия Фанкони, метаболические нарушения	10 мес.	29%
Wagner J. et al. 2006	102	ОЛЛ, ОМЛ, ХМЛ, лимфома, анемия Фанкони, метаболические нарушения	32 мес.	47%
Michel G. et al. 2003	95	ОМЛ	31 мес.	41%
Staba S. et al. 2004	20	Синдром Гурлера (мукополисахаридоз типа I)	30 мес.	85%

Примечание: ОЛЛ – острый лимфолейкоз; ОМЛ – острый миелолейкоз; МДС – миелодиспластический синдром; ХМЛ – хронический миелолейкоз.

Лимфомы

В случае с ходжкинскими и неходжкинскими лимфомами применение клеток ПК чаще всего описано уже после трансплантации ГСК КМ. Таким образом, значительная часть этих пациентов уже получала сниженные дозы лекарств или немиелоаблативный режим кондиционирования. Клиническое исследование на 21 пациенте свидетельствует в пользу 20–25%-й выживаемости пациентов через год после трансплантации [15].

В исследовании из University of Minnesota, включавшем 110 пациентов после немиелоаблативного кондиционирования, было показано что при дозе $3,0 \times 10^7$ мононуклеарных клеток на кг веса пациента через 3 года после трансплантации процент выживаемости не превышал 45%, при этом развитие острой РТПХ и процент смертности, связанный с трансплантацией составил 26%. Факторы, способствовавшие положительному исходу: отсутствие грибковых инфекций, использование двух образцов ПК и отсутствие острой РТПХ. Все это позволяет применять клетки ПК после немиелоаблативной терапии у взрослых с гематологическими заболеваниями [16].

Таким образом, несмотря на небольшие выборки пациентов, ПК необходимо уже сейчас рассматривать как адекватный источник ГСК для тех, кому требуется неродственная пересадка. Однако, нельзя не отметить более частое развитие РТПХ у взрослых, что, возможно, является результатом инволюции тимуса и не связано напрямую с пересадкой клеток. Основные результаты неродственных пересадок у взрослых приведены в табл. 2 (цит. по Ballen K.K. *New trends in umbilical cord blood transplantation*. Blood 2005; 105: 3786–92).

1.1.2. «Незлокачественные» заболевания

Применение клеток ПК при различных незлокачественных заболеваниях относится, прежде всего, к педиатрической практике. У взрослых подобные процедуры были описаны лишь для больных с приобретенной апластической анемией [17].

Гемоглобинопатии

В целом, сообщения, касающиеся применения клеток ПК при гемоглобинопатиях (серповидно-клеточная анемия и β -талассемия), носят оптимистический характер. У пациентов с подобными заболеваниями ярче выражено приживление трансплантата, а, значит, и общий уровень выживания после лечения гораздо выше. При достаточном количестве клеток и наличии максимального совпадения реципиента и

донора по HLA – антигенам возможно значительное улучшение показателей после трансплантации клеток ПК у больных незлокачественными заболеваниями [18, 19]. Однако, при анализе результатов лечения пациентов в 4-х американских центрах были сделаны следующие выводы [18]. После того, как семи пациентам была проведена неродственная пересадка клеток ПК, оказалось, что после миелоабляции четверем из них – у двух пациентов развилась РТПХ, один пациент умер, у другого развилась хроническая РТПХ. Трансплантат прижился в трех случаях, лишь в одном случае был подтвержден химеризм. У трех других пациентов был проведен режим кондиционирования пониженной интенсивности. У всех трех человек не было зафиксировано приживления (энграфтмента). Лишь у одного пациента было обнаружено приживление после второй пересадки. Кроме того, у четырех пациентов были обнаружены вирусные инфекции.

При достаточном количестве клеток и наличии максимального совпадения реципиента и донора по HLA – антигенам возможно значительное улучшение показателей после трансплантации клеток ПК у больных «незлокачественными» заболеваниями [19].

Врожденные нарушения метаболизма

Использование аллогенной трансплантации у детей с врожденными метаболическими нарушениями открыло новые возможности лечения этих заболеваний. Успех этого лечения в значительной степени будет зависеть от способности клеток приживаться в организме реципиента, а также от их способности продуцировать необходимые уровни правильного или отсутствующего фермента. В этих случаях также критичны сроки трансплантации. Например, у пациентов с болезнью Краббе прогноз сомнительный при обнаружении симптомов уже в младенческом возрасте, однако, при пренатальной и срочной постнатальной диагностике и последующей трансплантации ГСК прогноз значительно улучшается [20]. Кроме того, S.L. Staba и соавт. (2004) отметили эффективность использования клеток ПК при синдроме Гурлера (Hurler syndrome, мукополисахаридоз типа I – обусловлен отсутствием фермента α -L-идуронидазы, в результате чего в соединительной ткани органов накапливается дерматансульфат и гепарансульфат), а также при скорейшем использовании клеток от неродственных доноров [21]. Общее исследование эффективности применения клеток ПК при лизосомных и пероксисомных болезнях накопления подтвердило восстановление нейтрофилов у 84% пациентов, а также выживаемость через год после процедуры – 72% [22].

Таблица 2. Результаты применения единственного образца ПК у взрослых пациентах

Опубликовано	Кол-во пациентов	Заболевание	Среднее время наблюдения	Уровень выживаемости в отсутствие проявлений симптомов заболевания
Laughlin M.J. et al. 2003	68	ХМЛ, ОМЛ, ХЛЛ, ОЛЛ, лимфома	22 мес.	26%
Long J. et al. 2005	57	ХМЛ, ОМЛ, ХЛЛ, ОЛЛ, лимфома	56 мес.	19%
Sanz G. et al. 2006	22	ХМЛ, ОМЛ, МДС, ОЛЛ	8 мес.	53%
Ooi J. et al. 2004	18	ОМЛ	18 мес.	76%
Laughlin M.J. et al. 2005	116	ХМЛ, ОМЛ, МДС, ОЛЛ	40 мес.	23%
Rocha V. et al. 2006	98	ОЛЛ, ОМЛ	27 мес.	33%

Примечание: ОЛЛ – острый лимфолейкоз; ОМЛ – острый миелолейкоз; МДС – миелодиспластический синдром; ХМЛ – хронический миелолейкоз; ХЛЛ – хронический лимфолейкоз.

Иммунодефицитные состояния

Известно, что врожденные иммунодефицитные состояния также поддаются коррекции с помощью клеток ПК [23, 24]. Например, пересадка ГСК ПК у больных с синдромом Вискотта–Олдрича приводила к высокой степени приживления трансплантата и общему уровню выживаемости пациентов, так же, как и при трансплантации совпадающих по HLA родственных и неродственных клеток КМ [25]. Другие авторы предлагают использовать клетки ПК при лечении синдрома Вискотта–Олдрича из-за их быстрой доступности и меньшей вероятности вызывать РТПХ. Так, сразу после диагностики этого заболевания был использован образец неродственной ПК у двухмесячного пациента [25]. Общее количество мононуклеарных клеток составило $11,14 \times 10^7$ /кг. На 80-й день было зафиксировано полное восстановление нормального количества нейтрофилов и тромбоцитов. Это доказывает тот факт, что трансплантация клеток ПК в таких случаях является безопасным (а также технически возможным и воспроизводимым) и надежным способом коррекции иммунодефицитных состояний у детей, когда нет возможности провести родственную или неродственную пересадку клеток КМ.

В целом, темпы приживления неродственного частично совпадающего по антигенам HLA трансплантата ПК ниже, чем у клеток КМ, однако в то же время, развитие РТПХ при этом происходит реже. Общий процент выживающих пациентов практически одинаков для обоих источников клеток. Следует упомянуть, что успех трансплантации во многом зависит и от возраста реципиента. Связь уровня приживления клеток и возраста пациентов представлена в таблице 3 (цит. по Brunstein C.G., Setubal D. C., Wagner J. E. Expanding the role of umbilical cord blood transplantation. Br. J. Haematol. 2007; 137: 20–35).

1.1.3. Первый пример аутогенной трансплантации ПК

Данный опыт описан совместно двумя американскими клиниками: Mayo Clinic, Рочестер, Миннесота и CorCell Inc, Филадельфия, Пенсильвания [26]. Трехлетней пациентке с острым лимфобластным лейкозом был проведен курс химиотерапии через 10 месяцев после постановки диагноза. Вскоре у нее развилось поражение ЦНС. Клиницистам удалось добиться вторичной ремиссии после повторного курса химиотерапии. Затем ей провели курс миелоаблативной терапии и радиотерапии, после чего провели трансфузию клеток ее собственной ПК, сохраненной при рождении. Через 20 месяцев клиницисты констатировали полную ремиссию.

Через 23 часа после получения материала кровь была заморожена в частном банке. Для определения, присутствует ли лейкозный клон в замороженном образце, был проведен молекулярный анализ (специфические перестановки в генах рецептора IgH и рецептора T-γJg), обнаруженные в клетках КМ ребенка. Общее количество клеток в образце после размораживания составило 54×10^6 /кг.

Таблица 3. Уровни приживления трансплантатов и уровни выживаемости при различных возрастах реципиентов

Заболевание и возраст	Уровень приживления клеток	Уровень выживаемости пациентов
Новорожденные с лейкозом	80%	55%
Дети с лейкозом	75%	49%
Взрослые с лейкозом	28–48%	75%
Пациенты всех возрастов с незлокачественными заболеваниями	70–80%	80%

Приживление трансплантата было зафиксировано на 15-й день после пересадки. У пациента не было обнаружено наиболее частых посттрансплантационных осложнений.

2. Негематологические заболевания

Спектр исследования потенциального применения клеток ПК при негематологических заболеваниях очень широк (инфаркт миокарда, инсульт, «ишемия» нижних конечностей, болезни Паркинсона и Альцгеймера и др.). Идея такого нетрадиционного применения клеток ПК возникла в связи с появлением сообщений о мультипотентности некоторых из них (в частности ММСК из ПК) [27–29]. Было показано, что клетки ПК (как ММСК, так ГСК) возможно индуцировать к дифференцировке в нейрональном, остеогенном, хондрогенном и гепатоцитарном направлениях. Однако практически все подобные исследования являются до сих пор доклиническими и проводятся в основном на животных.

2.1. Заболевания сердечно-сосудистой системы

Несмотря на то, что в лечении сердечно-сосудистых заболеваний произошел заметный прогресс за последние 5 лет, эта группа болезней является причиной самого высокого показателя смертности среди трудоспособного населения в развитых странах. Различные группы клеток, выделяемых из ПК, проходят доклинические и клинические испытания в кардиологии.

Инфаркт миокарда

При исследовании действия клеток ПК на крупных животных оказалось, что их эффективность сомнительна [30]. Через 5 недель после внутрикоронарного введения моноядерных клеток ПК не было замечено никакого значимого улучшения общей и локальной функции левого желудочка (ЛЖ). Более того, исследователи сообщают об обнаружении микроинфарктов при гистологическом исследовании миокарда после введения клеток. Однако на грызунах получены противоположные данные. К.Н. Wu с соавт. (2007) сообщают об улучшении сердечной функции в экспериментальной группе крыс после инфаркта миокарда (ИМ), прежде всего за счет увеличения плотности сосудистой сети [31]. Исследователи отмечают также определенную степень дифференцировки пересаженных клеток по экспрессии гладкомышечного актина и тропонина I. Той же точки зрения придерживаются члены японской группы ученых. Согласно их данным, мезенхимальные клетки ПК в процессе со-культивирования с кардиомиоцитами грызунов начинают экспрессировать кардиомиогенные сократительные белки и синхронно сокращаться [32]. Некоторые авторы говорят о спонтанной дифференцировке клеток ПК в кардиомиоциты *in vitro*. Так, после выделения и кратковременного культивирования клетки начинали экспрессировать Cx-43, SERCA-2, и SDF-1α [33].

Израильские ученые для стимуляции постинфарктного ангиогенеза у безтимусных крыс использовали CD133⁺ клетки

ПК человека [34]. Клетки были пересажены через 7 дней после лигирования левой коронарной артерии. По результатам исследования, клетки были способны мигрировать и заселять инфарцированный миокард, а стенка сердца значительно утолщалась по сравнению с контрольными животными. При этом клетки обнаруживали преимущественно около сосудов (в периваскулярной области) и в самой стенке сосудов.

Исследования на людях гораздо менее многочисленные и лишь косвенно затрагивают деятельность сердечно-сосудистой системы. Так, было опубликовано сообщение о развитии артериального спазма у взрослого пациента при внутривенном введении клеток ПК с целью лечения атипичной хронической миелоидной лейкемии [35]. Через 15 мин. после начала внутривенного введения размороженного и отмытого от ДМСО (криопротектора) образца ПК, совпадающего по антигенам HLA 4/6, у 60-летнего реципиента начался спазм коронарной артерии.

Группа исследователей под руководством W.J. Giessen (Нидерланды) (2007), для изучения эффективности трансплантации клеток ПК (так называемых USSC – unrestricted somatic stem cells – неограниченно делящиеся соматические стволовые клетки), моделировала инфаркт с реперфузией на крупных животных (свиньях) и использовала интракоронарный способ введения клеток [36]. Авторы делают вывод о том, что интракоронарное введение USSC после инфаркта миокарда (ИМ) с реперфузией неспособно предупредить развитие рубцовой ткани в стенке левого желудочка и приводит к ухудшению его функциональной способности. Более того, трансплантация USSC приводит к увеличению размера инфарктной зоны, ее усиленной кальцификации и накоплению лейкоцитов (CD45⁺ и CD3⁺-клеток). В зоне инфаркта не было обнаружено USSC, позитивных по эндотелиальным (фактор фон Виллебранда) и кардиомиоцитарным (сердечный тропонин Т) маркерам. Исследователи подробно анализируют полученные результаты и возможные причины расхождения с положительными данными других авторов. Они доказывают, что выбранное ими для трансплантации время после ИМ, продолжительность проспективного наблюдения и выживаемость клеток в зоне инфаркта не могли повлиять на получение негативных результатов. Основную причину неудовлетворительного результата исследования они видят в интракоронарном способе введения USSC, который, по их данным, приводит к повышенному риску микроэмболии мелких сосудов сердца и развитию множественных микроинфарктов, дополнительно ухудшающих функцию левого желудочка. Этот эффект сильнее выражен для культивированных USSC, на поверхности которых повышается экспрессия молекул адгезии, что также способствует прикреплению клеток к эндотелию и закупорке сосудов сердца. Таким образом, судя по результатам этой работы, интракоронарный путь введения USSC, особенно предкультивированных, при ИМ представляется непригодным для использования в клинике. В то же время, учитывая положительные результаты лечения экспериментального ИМ при введении USSC непосредственно в поврежденный миокард, полученные в предыдущем исследовании [37], необходимо определение наиболее оптимального способа трансплантации клеток, одним из которых может стать трансэндомиокардиальный путь введения с помощью специального катетера.

Ишемия нижних конечностей

При сравнении влияния клеток ПК и КМ на развитие сосудистой сети при ишемии нижних конечностей (у NOD/SCID мышей) оказалось, что оба типа клеток оказывают равный терапевтический эффект (увеличивая плотность капилляров на единицу площади мышцы), однако имеют различный фенотип и характеристики роста [38]. При этом в обеих

популяциях клеток была ярко выражена экспрессия маркеров моноцитов и эндотелиоцитов (в обеих популяциях – в равной степени), а отличие в паттерне экспрессии приходилось на стромальные маркеры (CD105 и CD73). Экспрессия CXCR4 была значительно выше на клетках ПК, чем на клетках КМ.

В работе японских ученых обсуждается наиболее подходящая популяция клеток – эндотелиальных предшественников для борьбы с ишемией [39]. В данном случае такие клетки имеют низкую активность фермента альдегиддегидрогеназы (aldehyde dehydrogenase). Доклинические исследования в этой области позволили начать ограниченные клинические испытания, для выяснения безопасности и эффективности метода введения клеток ПК в лечении ишемии нижних конечностей у людей [40].

Таким образом, применение клеток ПК с целью обеспечения терапевтического ангиогенеза становится все более привлекательным, т.к. исследователи приблизились в пониманию фенотипа используемых клеток. Однако, существует нерешенная проблема разработки безопасного способа введения клеток при преодолении последствий ИМ.

2.2. Неврологические заболевания

В данный момент ведутся доклинические исследования применения клеток ПК при нейродегенеративных заболеваниях. Предпосылкой послужили работы, свидетельствующие о способности различных групп клеток ПК дифференцироваться в нейрональные клетки (также разных типов), кроме того, было показано, что эти клетки способны секретировать нейротрофические факторы роста [41, 42].

Поскольку данных *in vivo* было недостаточно, в новом исследовании V.R. Dasari и соавт. (2007) клетки ПК были пересажены крысам с травмой спинного мозга (на фоне иммуносупрессии) [43]. Восстановление двигательной функции задних конечностей связывали с восстановлением миелинизации демиелинизированных аксонов. По предварительным результатам этой исследовательской группы, клетки ПК (коммитированные в олигодендроциты) синтезировали и секретировали нейротрофические гормоны.

Основные результаты данной работы заключаются в нижеследующем.

1. *In vitro* осуществлена дифференцировка мононуклеарных клеток ПК под воздействием hEGF/RA в нейроны и олигодендроциты.
2. Доказано выживание и дифференцировка пересаженных клеток в спинном мозге крыс после травмы.
3. Показано, что выжившие клетки секретировали нейротрофические гормоны (через 14 недель после пересадки) – NT3 и BDNF.
4. Продемонстрировано восстановление локомоторной функции у подопытных животных через 2 недели после трансплантации клеток.

Предложено использовать данную методику в клинических испытаниях.

Другое мнение высказывают авторы статьи в Brain Research Bulletin [44]. По их данным, клетки ПК, культивированные в течение долгого времени, разделялись на несколько популяций, одна из которых несла ранние нейрональные маркеры (nestin и TuJ1). Эти клетки пересадили в неповрежденное нормальное полосатое тело (ядро) мышей NOD/SCID. Через 5 дней проанализировали количество выживших клеток. Клетки присутствовали в месте инъекции и также экспрессировали нейрональные маркеры, однако уже через месяц после трансплантации после повторного анализа пересаженные клетки обнаружить не удалось. Отсутствие Т-клеток, а также минимальные изменения микроглии отвергают версию о Т-клеточном

иммунном ответе. Исследователи предполагают, что это обусловлено естественной гибелью клеток, которые были способны долго пролиферировать в культуре, однако не выжили и месяца в мозге реципиента.

Другая группа ученых в качестве прямых претендентов на использование при травме спинного мозга называет CD34⁺ клетки [45]. Клетки в носителе (Matrigel) были пересажены в место поражения. Клетки способствовали функциональному восстановлению, ремиелинизации аксонов. Однако, клетки обнаруживались и были жизнеспособны на 3-й неделе после пересадки, а на 5-й неделе исчезали полностью (без видимых признаков иммунного отторжения). Клетки все это время продолжали экспрессировать маркеры ГСК, а не нейрональные маркеры.

Последняя работа была проведена на собаках [46]. Аллогенные ММСК пуповинной крови были использованы для преодоления компрессионной травмы позвоночника. Значительное улучшение отмечено на сроках в 4 и 8 недель, у животных улучшилась скорость проведения нервного импульса.

2.3. Диабет I типа

За последние 3 года исследования по применению ПК в области лечения диабета прошли путь от доклинических экспериментов на животных до нескольких клинических испытаний. Целью одного из них является инфузия аутологичных клеток ПК детям с диабетом 1-го типа для «переустановки» иммунной системы и, возможно, для дифференцировки клеток ПК в инсулин-продуцирующие клетки [47].

Первое сообщение об исследовании клеток ПК на предмет экспрессии маркеров и транскрипционных факторов β-клеток появилось в 2004 году [48]. Оказалось, что недифференцированные клетки ПК экспрессируют нестин, цитокератин 19 и факторы транскрипции нейрогенин (neurogenin-3, Ngn-3), Pax-4 и Isl-1, которые необходимы для дифференцировки β-клеток. В недавней работе корейских ученых описана группа ЭСК-подобных клеток из ПК, способная дифференцироваться в инсулин-продуцирующие клетки [49]. Исследователям удалось выделить группу клеток, подобных ЭСК, экспрессирующих SSEA-4 и Oct4, а затем коммитировать их в инсулин-продуцирующие клетки, одновременно экспрессирующие С-пептид.

В работе японских ученых 2005 года была показана способность клеток ПК дифференцироваться в клетки, продуцирующие инсулин [50]. После внутривенной трансплантации клеток NOD/SCID мышам, человеческие клетки обнаруживали в островках поджелудочной железы. Несмотря на то, что одновременно достаточно сложно оценить происхождение человеческих клеток в поджелудочной железе мышей и их способность секретировать инсулин (т.е. сложно доказать, что именно человеческие клетки секретуют инсулин), было показано, что такие клетки несут как человеческие, так и мышинные хромосомы. Возможно, в этом случае следует говорить о полном слиянии клеток, включая слияние ядер. Однако процент таких клеток по-прежнему крайне невелик (до 1% инсулин-продуцирующих клеток).

Одним из главных осложнений диабета является диабетическая нейропатия – осложнение, связанное прежде всего с нарушением трофики периферических нервов. Как источник эндотелиальных предшественников, а также клеток, продуцирующих факторы роста, эти клетки могут рассматриваться в качестве правомерных кандидатов для терапии данного осложнения [51, 52]. При внутримышечной трансплантации клетки улучшали кровоток в нижних конечностях у животных с диабетом 1-го типа.

2.4. Репопуляция печени и дифференцировка клеток ПК в гепатоциты

Спектр работ, затрагивающих ПК и регенерацию печени, можно разделить на две большие группы. В первой исследователи пытаются получить функциональные гепатоциты из различных клеток ПК (как *in vitro*, так и *in vivo*), а представители второй группы работ отслеживают степень химеризации реципиентной печени вводимыми клетками (т.е. репопуляцию печени клетками ПК). В недавней работе японских ученых клетки ПК были пересажены двум группам мышей NOD/SCID: с временным и хроническим поражением печени [53]. После трансплантации оценивали присутствие гепатоцитоподобных клеток человеческого происхождения в мышной печени. Через 3 недели было обнаружено лишь небольшое количество гепатоцитоподобных клеток. Во второй группе (ген урокиназы находился под альбуминовым промотором ALB-uPA/SCID mice), напротив, было обнаружено большое количество клеток человеческого происхождения.

И в том, и в другом случае клетки экспрессировали некоторые маркеры гепатоцитов, например, цитохром P450s, альбумин, α-фетопротеин. Эти данные свидетельствуют о том, что клетки ПК способны приобретать фенотип гепатоцитов (пусть и в разной степени), а при хроническом нарушении способны дифференцироваться в зрелые гепатоциты, компенсируя их недостаток. Другие исследователи сообщают о пересадке CD34⁺ клеток мышам линии NOD/SCID/γ_c^{null} (NOG) – эта линия характеризуется очень высокой степенью химеризма при трансплантации ГСК человека [54]. В печени таких мышей после трансплантации был зафиксирован высокий уровень клеток, экспрессирующих человеческий альбумин и α-1-антитрипсин. Альбумин также выделяли из мышинной сыворотки, что говорит о функциональной зрелости человеческих гепатоцитов. Цитофлуориметрический анализ суспензии клеток печени подопытных мышей показал также экспрессию на одних и тех же альбумин-положительных клетках – МНС человека и мыши и отсутствие CD45. ПЦР анализ подтвердил данные о том, что клетки экспрессируют целый спектр человеческих белков – маркеров гепатоцитов и холангиоцитов. Эти результаты предполагают слияние пересаженных CD34⁺ клеток с гепатоцитами NOG-мышей без нарушения работы их печени. При этом клетки теряли свой гематопозитический фенотип и становились клетками, экспрессирующими гены, специфичные для клеток печени. Подобного явления не наблюдали при пересадке CD34⁻ клеток.

В работе немецких ученых мононуклеарные клетки пересаживали мышам с токсическим поражением печени (индукция четыреххлористым углеродом) и наблюдали формирование гепатоцитоподобных колоний. Эти клетки экспрессировали человеческий альбумин и Herp 1, однако мышинный цитокератин 18 (CK18). Авторы предположили формирование химерных гепатоцитов, однако не предлагали никакого механизма, объясняющего это явление [55].

Еще одним способом дифференцировки клеток ПК в гепатоциты является их сокультивирование с клетками CFSC/HGF⁺ фидерными клетками. В результате такого метода клетки ПК приобрели фенотип CD34(+/-)CD90(+/-)CD49f(+)/CD29(+)/Alb(+)/AFP(+) [56]. А через 7 дней после сокультивирования клетки ПК приобрели морфологию гепатоцитов. ПЦР продемонстрировала экспрессию генов AFP, Alb, CYP1B1 и цитокератинов CK18 и CK19.

3. Проблемы и осложнения

3.1. Реакция «трансплантат-против-хозяина» (РТПХ)

Реакция «трансплантат-против-хозяина» является наиболее частым осложнением после аллогенной пересадки клеток ПК. Именно этот эффект противостоит нормальному

восстановлению кроветворения и требует дополнительных иммуносупрессивных мероприятий. РТПХ и ее лечение значительно повышают риск присоединения последующих инфекций, а значит и количество летальных исходов. Известно, что РТПХ значительно снижается при применении в неродственной трансплантации клеток ПК. Это связывают с незрелостью Т-клеток, а также с присутствием в трансплантате Т-регуляторных клеток, подавляющих аллогенный иммунный ответ. Пуповинная кровь содержит большие количества Т-клеток, экспрессирующих CD45RA⁺/CD45RO⁻, CD62L⁺ [57]. Кроме того, некоторые исследования свидетельствуют в пользу синтеза клетками ПК противовоспалительных хемокинов, например, ИL-10, которые могут подавлять РТПХ [58].

У детей после неродственной трансплантации вероятность развития РТПХ составляет 20–50%, хронической РТПХ 5–30%. Важно также отметить, что трансплантаты ПК, как правило, совпадают по молекулам первого класса генов гистосовместимости на антигенном уровне, а для второго класса – на уровне аллелей. Очевидно, что при трансплантации двух образцов ПК вероятность развития РТПХ должна удваиваться.

3.2. Аллогенная трансплантация двух образцов ПК

В связи с растущим интересом к ПК уже несколько лет предпринимаются попытки использовать ее при трансплантации взрослым реципиентам. Следовательно, потребовались большие количества клеток, т.к. их число традиционно рассчитывается с учетом веса пациента. Поэтому обычных объемов ПК (40–100 мл) стало недостаточно для достижения выраженного терапевтического эффекта. Таким образом, появилась практика использования двух образцов, точнее их одновременной или последовательной пересадки взрослому пациенту [59].

В работе французских гематологов описано 4 клинических случая применения двух образцов ПК после неудачной первичной трансплантации (раннее отторжение трансплантата) при различных заболеваниях [60]. В своих выводах исследователи отмечают, что пересадка двух даже неродственных образцов является большим преимуществом при лечении многих типов заболеваний, прежде всего из-за своей доступности. Особенно в случаях отторжения первого трансплантата. Кроме того, авторы работы также предлагают использовать пониженный режим кондиционирования при вторичной двойной пересадке. Немаловажное значение имеют сроки выполнения процедуры. Было показано, что на поиск неродственного донора ГСК уходит в среднем 29 дней, тогда как в случае ПК время между принятием решения и пересадкой второго образца может максимально занимать 15 дней [61]. Поэтому в таких случаях замороженные образцы ГСК из ПК являются идеальным источником.

До сих пор неясно, как влияет на приживление пересадка двух образцов ПК, по сравнению с одним. В исследовании J.N. Barker и соавт. (2005) у 21 пациента из 23, которым была проведена трансплантация двух образцов, на 23-й день был обнаружен энграфтмент по крайней мере одного из пересаженных образцов, и этот показатель значительно превышает уровень приживления после трансплантации одного образца ПК [62]. Скорее всего, в результате сложных иммунологических процессов (невьясненных на данный момент) происходит приживление лишь одного образца в большем количестве случаев.

Стоит упомянуть, что группой J.N. Barker проведено более 200 пересадок двух образцов (после миелоабляции и немиелоаблативного режима), по результатам которых 90% взрослых пациентов были отнесены к группе «пригодных к трансплантации клеток ПК».

Кроме того, опубликовано исследование, проведенное на 96 взрослых, больных острым лейкозом [63]. Им была проведена трансплантация как одного, так и двух образцов ПК. Реципиенты двух образцов были тяжелее по массе (в среднем 70 кг по сравнению с первой группой – 32 кг) и старше по возрасту (24 года против 8 лет в первой группе). Кроме того, исследователи заметили, что при наиболее распространенной трансплантации образцов, совпадающих с реципиентом по 4 из 6 антигенов HLA (что как правило связывают в повышенным риском развития РТПХ), чаще развивается реакция «трансплантат против лейкоза». Многочисленные центры в Европе, Японии и Америке начали проводить вторую фазу клинических исследований использования клеток ПК у взрослых пациентов, а американская сеть Clinical Trials Network (CTN), финансируемая NIH, запустила рандомизированные исследования 3-й фазы у детей по сравнительной оценке использования одного и двух образцов ПК. Таким образом, уже сейчас можно говорить о преимуществах пересадки двух частично совпадающих образцов, что привело к рассмотрению возможности трансплантации и большего количества образцов для повышения «клеточности» трансплантата [64].

Отдельно стоит сказать об облегченном режиме кондиционирования. Это прежде всего относится к взрослым пациентам. Несмотря на то, что оптимальный режим химиотерапии, предваряющей использование клеток ПК, еще предстоит подобрать, уже сейчас понятно, что такой агент как «флюдарабин» играет ключевую роль в данном вопросе [65–68]. Сообщается о восстановлении количества нейтрофилов до нормального уровня между 9 и 20 днем (после пересадки ПК), с одинаковыми показателями приживления как при трансплантации одного образца, так и двух. В исследовании S. Brunstein и соавт. (2005) описано 150 трансплантаций после немиелоаблативного режима лечения. Средний возраст пациентов в этой группе составил 50 лет. Режим кондиционирования (Minneapolis Regimen) был следующим: флюдарабин 40 мг/м²/сут. – 5 дней, циклофосфамид 50 мг/кг/сут. – 1 день в сочетании с низкими дозами облучения. 80% таких пациентов получили двойную дозу клеток ПК и, несмотря на значительно значительный возраст и сопутствующие заболевания, смертность через 6 мес. после трансплантации составила 18%. Развитие острой РТПХ III–IV степени составило 25%, а хронической РТПХ – также 25%. В этой группе пациентов, крайне гетерогенной по диагнозу и фазам развития заболеваний, средняя выживаемость составила 44% в течение двух лет. Количество рецидивов было значительно снижено, а количество пациентов, выживших без возобновления болезни было выше в группе с двойными трансплантациями. При этом возраст пациентов, как отмечают авторы работы, не являлся фактором риска, поэтому они призывают не рассматривать этот критерий при включении пациентов в группу исследований действия клеток ПК. Единственным недостатком щадящего режима кондиционирования, как оказалось, является повышенная возможность заражения вирусом Эпштейна–Барра [64].

Вышеперечисленные результаты позволяют предлагать использование щадящего режима и последующей пересадки двух образцов ПК для преодоления фактора недостаточного количества клеток. Относительный вклад этих двух составляющих терапии, а также последовательность и механизмы процессов, протекающих в организме после пересадки, остаются невыясненными.

3.3. Незатронутые вопросы и перспективы исследований

Неродственная трансплантация клеток ПК все прочнее занимает свою позицию в ряду стандартных медицинских процедур (прежде всего у детей, и все больше и больше –

у взрослых). Однако, ряд вопросов остается невыясненным до конца.

1. Как обеспечить необходимое количество образцов ПК в связи с растущей потребностью в двух образцах при пересадке взрослому пациенту?

2. Как помочь банкам ПК (как государственным, так и частным) соответствовать все растущим требованиям к процессингу, хранению и типированию, предложенными сетью FACT-NETCORD, American Association of Blood Banks (American Association of Blood Banks, 2001; FACT-NETCORD, 2001) и другими органами, регулирующими работу банков ПК?

3. Как снизить стоимость выделения и хранения образцов?

4. Имеет ли преимущество использование клеток ПК совместно с периферической кровью гаплоидентичного донора, а также с одновременным введением регуляторных Т-клеток (для предупреждения развития аутоиммунных процессов и улучшенного химеризма)?

Например, 11 пациентам был пересажен один образец ПК, совместно с CD34⁺ клетками периферической крови от одного из членов семьи [70, 71]. Приживление нейтрофилов наступало, в среднем, на 11 день. У 4 пациентов развилась острая РТПХ, а 5 пациентов оказались здоровы через 43 месяца после трансплантации.

Заключение

К сожалению, основной трудностью при анализе научной литературы, касающейся применения клеток ПК при лечении различных заболеваний, является ее гетерогенность – описанные исследования проводят при несравнимых режимах лечения, применяемые дозы клеток и скорости введения также разнятся. Кроме того, стадии заболевания и время введения клеток также не всегда одинаковы. Все это не позволяет сделать однозначные выводы об эффективности использования клеток ПК по сравнению с традиционными трансплантациями при каждом конкретном случае. Однако уже сейчас понятно, что различные группы клеток из ПК являются незаменимыми при лечении 10–15 заболеваний у детей, и являются перспективными для применения у взрослых. Клетки ПК стали «равноправным» источником ГСК для аллогенной трансплантации, их стали гораздо чаще использовать как замену КМ при отсутствии подходящего по HLA донора. Количество клеток в образце также становится менее критичным параметром с введением щадящей химиотерапии и значительно расширяет спектр предполагаемых реципиентов ПК, включая пациентов всех возрастов. В табл. 4 представлены некоторые основные направления наиболее перспективных исследований в области применения ПК в клинической практике (цит. по Brunstein C.G., Setuba D.C., Wagner J.E. Expanding the role of umbilical cord blood transplantation. Br. J. Haematol. 2007; 137: 20–35).

Таблица 4. Новые тенденции использования клеток ПК

Стратегия	Цель	Этап развития	Комментарий
Трансплантация двух образцов ПК	Улучшение уровня приживления клеток, возможность включения в терапию взрослых пациентов	II фаза клинических испытаний	III фаза клинических испытаний в разработке
Пересадка клеток ПК после не-миелоаблативной терапии	Возможность включения в терапию взрослых пациентов на более поздних стадиях заболевания	II фаза клинических испытаний	Разработка многоцентровых испытаний II фазы
Ex vivo экспансия прогениторных клеток ПК	Улучшение приживления трансплантата	I–II фазы клинических испытаний	Нет очевидных преимуществ в процессе клинических исследований, нет токсичности клеток
Отдельная совместная (с ГСК ПК) трансфузия Т-регуляторных клеток ПК	Улучшение приживления трансплантата при отсутствии РТПХ	Поздние доклинические исследования	
Отдельная совместная (с ГСК ПК) трансфузия НК клеток ПК	Лечение острого миелоидного лейкоза	I–II фазы клинических испытаний	
Инфузия ГСК ПК в костный мозг	Улучшенный хоуминг и приживление клеток	I–II фазы клинических испытаний	При трансплантации двух образцов один вводят внутривенно, второй – в подвздошную кость
Совместная инфузия с ММСК КМ	Улучшение приживления	I фаза клинических испытаний	Треть – ММСК
Совместная инфузия с частично совпадающими CD34 ⁺ клетками	Укороченный период нейтропении	II фаза клинических испытаний	Треть – CD34 ⁺ клетки
Использование мультипотентных клеток ПК (ММСК или USSC)	Регенерация различных типов тканей	I фаза клинических испытаний	На стадии развития

ЛИТЕРАТУРА:

1. Gluckman E., Broxmeyer H.A., Auerbach A.D. et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *New England Journal of Medicine* 1989; 321: 1174-78.
2. Rubinstein P. Why Cord Blood? *Human Immunology* 2006; 67: 398-404.
3. Rocha V., Gluckman E. Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12 (Suppl 1): 34-41.
4. Wagner J.E., Barker J.N., DeFor T.E. et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 2002; 100: 1611-18.
5. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/search?term=cord+blood&submit=Search>
6. Yahata T., Ando K., Sato T., et al. A highly sensitive strategy for SCID repopulating cell assay by direct injection of primitive human hematopoietic cells into NOD/SCID mice bone marrow. *Blood* 2003; 101: 2905-13.
7. Kim D.W., Chung Y.J., Kim T.G., et al. Cotransplantation of third-party mesenchymal stromal cells can alleviate single-donor predominance and increase engraftment from double cord transplantation. *Blood* 2004; 103: 1941-48.
8. Kurtzberg J., Graham M., Casey J., et al. The use of umbilical cord blood in mismatched related and unrelated hemopoietic stem cell transplantation. *Blood Cells* 1994; 20: 275.
9. Rubinstein P., Eapen M., Stevens C.E., et al. Unrelated donor hematopoietic transplantation (HSCT) in children with acute leukemia: risks and benefits of unrelated cord blood (CB) vs. Bone Marrow (BM). *Blood* 2005; 106 (Abstract 3020).
10. Kernan N.A., Carter S.L., Wagner J.E. et al. Umbilical cord blood transplantation in pediatric patients: results of a prospective, Multi-Institutional Cord Blood Transplantation Study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2006; 12: 14.
11. Arcese W., Rocha V., Labopin M. et al. Unrelated cord blood transplants in adults with hematologic malignancies. *Haematologica* 2006; 91: 223-230.
12. Rocha V. & Gluckman E. Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2006; 12: 34-41.
13. Rubinstein P., Carrier C., Scaradavou A. et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *New England Journal of Medicine* 1998; 339: 1565-77.
14. Ooi J., Iseki T., Nagayama H. et al. The efficacy of unrelated cord blood transplantation for adult myelodysplastic syndrome. *Leukemia & Lymphoma* 2006; 47: 599-602.
15. Majhail N.S., Weisdorf D.J., Wagner J.E. et al. Comparable results of umbilical cord blood and HLA-matched sibling donor hematopoietic stem cell transplantation after reduced-intensity preparative regimen for advanced Hodgkin lymphoma. *Blood* 2006; 107: 3804-07.
16. Brunstein C. G., Barker J. N., Weisdorf D.J. et al. Umbilical Cord Blood Transplantation after Nonmyeloablative Conditioning: Impact on Transplant Outcomes in 110 Adults with Hematological Disease. *Blood* 2007; 110(8): 3064-70.
17. Mao P., Wang S., Zhu Z. et al. Umbilical cord blood transplant for adult patients with severe aplastic anemia using anti-lymphocyte globulin and cyclophosphamide as conditioning therapy. *Bone Marrow Transplantation* 2004; 33: 33-8.
18. Adamkiewicz T.V., Szabolcs P., Haight A. et al. Unrelated cord blood transplantation in children with sickle cell disease: Review of four-center experience. *Pediatr Transplantation* 2007; 11: 641-44.
19. Gluckman E. Cord blood transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2006; 12: 808-12.
20. Escolar M.L., Poe M.D., Provenzale J.M. et al. Transplantation of umbilical-cord blood in babies with infantile Krabbe's disease. *New England Journal of Medicine* 2005; 352: 2069-81.
21. Staba S.L., Escolar M.L., Poe M. et al. Cord-blood transplants from unrelated donors in patients with Hurler's syndrome. *New England Journal of Medicine* 2004; 350: 1960-69.
22. Martin P.L., Carter S.L., Kernan N.A. et al. Results of the cord blood transplantation study (COBLT): outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2006; 12: 184-94.
23. Bhattacharya A., Slatter M.A., Chapman C.E. et al. Single centre experience of umbilical cord stem cell transplantation for primary immunodeficiency. *Bone Marrow Transplantation* 2005; 36: 295-99.
24. Kobayashi R., Ariga T., Nonoyama S. et al. Outcome in patients with Wiskott-Aldrich syndrome following stem cell transplantation: an analysis of 57 patients in Japan. *British Journal of Haematology* 2006; 135: 362-66.
25. Jaing T-H., Tsai B-Y., Chen S-H. et al. Early transplantation of unrelated cord blood in a two-month-old infant with Wiskott-Aldrich syndrome. *Pediatr Transplantation* 2007; 11: 557-9.
26. Hayani A., Lampeter E., Viswanatha D. et al. First Report of Autologous Cord Blood Transplantation in the Treatment of a Child With Leukemia. *Pediatrics* 2007; 119: 296-300.
27. Kogler G., Sensken S., Airey J. A. et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med* 2004; 200: 123-135.
28. Hall J., Crapnell K.B., Staba S. et al. Isolation of oligodendrocyte precursors from umbilical cord blood. *Biol. Blood Marrow Transplant* 2004; 10: 67.
29. Crapnell K.B., Turner K., Hall J.G. et al. Umbilical cord blood cells engraft and differentiate in cardiac tissues after human transplantation. *Blood* 2003; 102: 153.
30. Moelker A.D., Baks T., Wever K.M. et al. Intracoronary delivery of umbilical cord blood derived unrestricted somatic stem cells is not suitable to improve LV function after myocardial infarction in swine. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2007; 42(4): 735-45.
31. Wu K.H., Zhou B., Yu C. Y. et al. Therapeutic Potential of Human Umbilical Cord Derived Stem Cells in a Rat Myocardial Infarction Model. *Ann. Thorac. Surg* 2007; 83 :1491-500.
32. Nishiyama N., Miyoshi S., Hida N. et al. The Significant Cardiomyogenic Potential of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells In Vitro. *Stem Cells* 2007; 25 (8).
33. Prat-Vidal C., Roura S., Farre J. et al. Umbilical cord blood-derived stem cells spontaneously express cardiomyogenic traits. *Transplant. Proc.* 2007; 39(7): 2434-7.
34. Leor J., Guetta E., Feinberg M.S. et al. Human Umbilical Cord Blood-Derived CD133+ Cells Enhance function and Repair of the Infarcted Myocardium. *Stem Cells* 2006; 24: 772-80.
35. Petropoulou A.D., Bellochine R., Norol F. et al. Coronary artery spasm after infusion of cryopreserved cord blood cells. *Bone Marrow Transplantation* 2007; 40: 397-8.
36. Moelker A. D., Baks T., Wever K. et al. Intracoronary delivery of umbilical cord blood derived unrestricted somatic stem cells is not suitable to improve LV function after myocardial infarction in swine. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2007; 42(4): 735-45.
37. Kim B.O., Tian H., Prasongsukarn K. et al. Cell transplantation improves ventricular function after a myocardial infarction: a preclinical study of human unrestricted somatic stem cells in a porcine model. *Circul.* 2005; 112(9 Suppl): I96-I104.
38. Finney M.R., Greco N.J., Haynesworth S.E. et al. Direct comparison of umbilical cord blood versus bone marrow-derived endothelial precursor cells in mediating neovascularization in response to vascular ischemia. *Biol. Blood Bone Marrow Transplant.* 2006;12(5): 585-93.
39. Nagano M., Yamashita T., Hamada H. et al. Identification of functional endothelial progenitor cells suitable for the treatment of ischemic tissue using human umbilical cord blood. *Blood* 2007; 110(1): 151-160.
40. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00518934?order=33>.
41. Sanberg P.R., Willing A.E., Garbuzova-Davis S. et al. Umbilical cord blood-derived stem cells and brain repair. *Ann. N Y Acad. Sci.* 2005; 1049: 67-83.
42. Enzmann G.U., Benton R.L., Talbot J.F. et al. Functional considerations of stem cell transplantation therapy for spinal cord repair. *J. Neurotrauma* 2006; 23: 479-95.
43. Dasari V. R., Spomar D.G., Gondi C. S. et al. Axonal Remyelination by Cord Blood Stem Cells after Spinal Cord Injury. *J. Neurotrauma* 2007; 24: 2.
44. Walczak P., Chen N., Eve D. et al. Long-term cultured human umbilical cord neural-like cells transplanted into the striatum of NOD SCID mice. *Brain Research Bulletin* 2007; 74(14): 155-163.
45. Nishio Y., Koda M., Kamada T. et al. The use of hemopoietic stem cells derived from human umbilical cord blood to promote restoration of spinal cord tissue and recovery of hindlimb function in adult rats. *J. Neurosurg. Spine* 2006; 5(5): 424-33.
46. Lim J.-H., Byeon Y.-N., Ryu H.-H. et al. Transplantation of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in experimentally induced spinal cord injured dogs. *J Vet. Sci* 2007; 8(3): 275-82.
47. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00305344?order=28>.
48. Pessina A., Eletti B., Croera C. et al. Pancreas developing markers expressed on human mononucleated umbilical cord blood cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004; 323: 315-22.
49. Sun B., Roh K.-H., Lee S.-R. et al. Induction of human umbilical cord blood-derived stem cells with embryonic stem cell phenotypes into insulin producing islet-like structure. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2007; 354: 919-23.
50. Yoshida S., Ishikawa F., Kawano N. et al. Human cord blood-derived cells generate insulin-producing cells in vivo. *Stem Cells* 2005; 23: 1409-16.
51. Naruse K., Hamada Y., Nakashima E. et al. Cord blood stem cells: Therapeutic neovascularization using cord blood-derived endothelial progenitor cells for diabetic neuropathy. *Diabetes* 2005; 54: 1823-28.
52. Koblas T., Harman S.M., Saudek F. The Application of Umbilical Cord Blood Cells in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Rev. Diabetic Stud.* 2005; 2: 228-34.
53. Kakinuma K., Asahina K., Okamura et al. Human Cord Blood Cells Transplanted Into Chronically Damaged Liver Exhibit Similar Characteristics to Functional Hepatocytes. *Transplantation Proceedings* 2007; 39: 240-43.
54. Fujino H., Hiramatsu H., Tsuchiya A. et al. Human cord blood CD34+ cells develop into hepatocytes in the livers of NOD/SCID/γcnull mice through cell fusion. *FASEB J.* 2007; 21: 3499-510.
55. Sharma A. D., Cantz T., Richter R. et al. Human Cord Blood Stem Cells Generate Human Cytokeratin 18-Negative Hepatocyte-Like Cells in Injured Mouse Liver. *Amer. J. of Pathol.* 2005; 167: 555-64.
56. Wang Y., Nan X., Li Y. et al. Induction of umbilical cord blood-derived beta2m-c-Met+ cells into hepatocyte-like cells by coculture with CFSC/HGF cells. *Liver Transplant.* 2005; 11(6): 635-43.
57. Szabolcs P., Park K.D., Reese M. et al. Coexistent naive phenotype and higher cycling rate of cord blood T cells as compared to adult peripheral blood. *Exp. Hematol.* 2003; 31: 708-14.
58. Bacchetta R., Bigler M., Touraine J.L. et al. High levels of interleukin 10 production in vivo are associated with tolerance in SCID patients transplanted with HLA mismatched hematopoietic stem cells. *J. Exp. Med.* 1994; 179: 493-502.

59. Barker J.N., Weisdorf D.J., DeFor T.E. et al. Umbilical cord blood (UCB) transplantation after nonmyeloablative (NMA) conditioning for advanced follicular lymphoma, mantle cell lymphoma and chronic lymphocytic leukemia: low transplant-related mortality and high progression-free survival. *Blood* 2005; 106: 813.

60. Fernandes J., Rocha V., Robin M. et al. Second transplant with two unrelated cord blood units for early graft failure after haematopoietic stem cell transplantation. *Brit. J. of Haematol.* 2007; 137: 248–51.

61. Barker J.N., Krepski T.P., DeFor T.E. et al. Searching for unrelated donor hematopoietic stem cells: availability and speed of umbilical cord blood versus bone marrow. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2002; 8: 257–60.

62. Barker J.N., Weisdorf D.J., DeFor T.E. et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 2005; 105: 1343–47.

63. Verneris M.R., Brunstein C., DeFor T.E. et al. Risk of relapse (REL) after umbilical cord blood transplantation (UCBT) in patients with acute leukemia: marked reduction in recipients of two units. *Blood* 2005; 106: 93a.

64. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00469729?order=37>.

65. Wiktor-Jedrzejczak W., Rokicka M., Urbanowska E. et al. Simultaneous transplantation of three cord blood units in adults with high risk acute leukemia. *Blood* 2005; 106: 451b.

66. Brunstein C.G., Barker J.N., DeFor T. et al. Non-myeloablative (NMA) umbilical cord blood transplantation (UCBT): promising disease-free survival in 95 consecutive patients. *Blood* 2005; 106: 166a.

67. Morii T., Amano I., Tanaka H. et al. Reduced-intensity unrelated cord blood transplantation (RICBT) in adult patients with high-risk hematological malignancies. *Blood* 2005; 106: 444b.

68. Rio B., Belhocine R., Renaud M. et al. Reduced intensity conditioning regimen for unrelated cord blood transplantation in adults. A multicentric phase I-II trial. *Blood* 2005; 106: 1018a.

69. Jacobsohn D.A., Hewlett B., Ranalli M. et al. Outcomes of unrelated cord blood transplants and allogeneic-related hematopoietic stem cell transplants in children with high-risk acute lymphocytic leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 34: 901–07.

70. Godfrey W.R., Spoden D.J., Ge Y.G. et al. Cord blood CD4⁺CD25⁺-derived T regulatory cell lines express FoxP3 protein and manifest potent suppressor function. *Blood* 2005; 105: 750–58.

71. Fernandez M.N., Regidor C., Cabrera R. et al. Unrelated umbilical cord blood transplants in adults: early recovery of neutrophils by supportive cotransplantation of a low number of highly purified peripheral blood CD34⁺ cells from an HLA-haploidentical donor. *Exp. Hematol.* 2003; 31: 535–44.

Поступила 01.02.2008

Система для проведения экстракорпорального фотофереза – UVAR XTS («Therakos», США)

Экстракорпоральный фотоферез представляет собой метод, основанный на сочетании лейкофереза и облучения лейкоцитов, предварительно обработанных фотосенсибилизатором (8-метоксипсораленом), ультрафиолетовым светом диапазона А (320 – 400 нм).

Область применения:

Лечение онкологических, аутоиммунных, дерматологических и пролиферативных заболеваний:

- Т-клеточная злокачественная лимфома кожи,
- атопический дерматит,
- склеродермия,
- псориаз,
- ревматоидный артрит,
- отторжение органов после
- уменьшение реакции трансплантат против хозяина (РТПХ).

Особенности системы:

Безопасность для пациента:

- одноразовая система расходных материалов,
- исключение риска воздушной эмболии,
- исключение риска заражения,
- осуществление контроля поступления антикоагулянта,
- контроль давления в системе,
- контроль скорости забора и возвращения крови пациенту,
- возможность изменения параметров процесса в течение процедуры,
- при необходимости автоматическая блокировка системы магистралей.

Простота в работе и обслуживании:

- удобное использование для оператора,
- конструкция аппарата и расходных материалов исключают возможность ошибки при загрузке,
- однократная венопункция,
- полная автоматизация процедуры,
- быстрое и безопасное извлечение компонентов процедурного набора после завершения процедуры.
- наличие ключа данных, на котором фиксируется вся информация о протекании процесса.



Система для выделения стволовых клеток – Serax («BioSafe», Швейцария)

Самая современная, компактная система, позволяющая выделять стволовые клетки из пуповинной и периферической крови, а также из костного мозга.

- Идеальная система для быстрой автоматической обработки крови с высоким уровнем жизнеспособности клеток после процедуры.
- Serax позволяет проводить обработку крови в рамках 8 протоколов.
- Принцип действия Serax основан на сепарации центрифугированием, позволяющем разделять компоненты крови в соответствии с их плотностью и размерами.
- Система предназначена для применения в клеточной терапии, где необходимо получение определенных компонентов крови.
- Обработка крови или ее компонентов происходит в закрытой стерильной системе.
- Компоненты крови собираются в стандартные мешки и готовы для дальнейшего использования (криоконсервация, наращивание in vitro, переливание пациенту и др.).

Эксклюзивный представитель ООО «Инновационные Медицинские Технологии»

Москва, ул. Ивана Франко, д. 4, корп. 15, тел/факс: +7(495)380-36-62

E-mail:

dr_fedorov@haemoline.ru, gerasimenkov@haemoline.ru, neunylomamv@delrus.org



Therakos
Immune Cell Therapy

Автоматизированная система для хранения стволовых клеток в жидком азоте – BioArchive («Thermogenesis», США).

Система рассчитана на 3626 образцов стволовых клеток

- Низкая стоимость операционного процесса
- Низкий расход жидкого азота на один образец во время хранения и программного замораживания
- Полностью автоматизированный процесс сокращает время работы персонала
- Снижение затрат на оборудование
- Не требуется большого количества дьюаров для хранения (одна система BioArchive заменяет 6-7 дьюаров)
- Наличие двух встроенных программных замораживателей
- Безопасность и защита
- Полузакрытая система сокращает воздействие азота на оператора
- Источник бесперебойного питания позволяет разместить/извлечь образец в случае отключения электричества
- Параметры 24-х часового контроля и управления доступом включают в себя:
 - Мониторинг уровня жидкого азота
 - Пароль для доступа

Интегрированный программный замораживатель

- Минимизирует температурные колебания
- Отсутствует этап ручного переноса образца из программного замораживателя в дьюар для хранения

Криоконтейнер на 25 мл

- Постоянный геометрический размер образца
- Воспроизводимый процесс заморозки для каждой единицы
- Возможность роботизированной закладки на хранение и извлечение образцов
- Снижается вероятность ошибки, связанной с человеческим фактором

Система управления образцом

- Использование штрих-кода исключает ошибки при перемещении образца
- Отчет по образцу:
- История образца
- Инвентаризация
- График замораживания

www.thermogenesis.ru

Расходные материалы для культивирования стволовых клеток «CellGenix» (Германия):

Комплекты CellGro для культивирования клеток в закрытых системах.

- CellGro HPC для культивирования гемопоэтических клеток, NK-клеток, Т-клеток
- CellGro DC для культивирования дендритных клеток
- Бессывороточные среды CellGro:
- SCGM для культивирования: гемопоэтических прогениторных клеток, NK-клеток, Т-клеток
- DC для культивирования дендритных клеток

Культуральные мешки YueLife

(сделаны из FEP Teflon)

CellGro цитокины

Для увеличения гемопоэтических прогениторных клеток, NK-клеток, Т-клеток и дендритных клеток.



thermogenesis



Вся продукция зарегистрирована и сертифицирована в России