

HUMAN STUDY

Улучшение функции печени у пациентов с циррозом после трансфузии аутогенных клеток костного мозга

Цирроз печени (ЦП) – полиэтиологическое хроническое прогрессирующее диффузное заболевание с поражением гепатоцитов, развитием фиброза и перестройкой архитектоники органа, приводящей к образованию структурно-аномальных регенераторных узлов, портальной гипертензии и развитию печеночной недостаточности [1, 2]. До сих пор ни один из существующих способов лечения пациентов с такой тяжелой патологией, в том числе пересадка органа, не может решить проблему цирроза печени в полной мере [2, 3]. Поэтому любые новые разработки в лечении ЦП могут стать перспективными и востребованными.

Многочисленные работы по трансплантации гепатоцитов подтверждают эффективность этого метода для лечения ЦП различного генеза в клинике [4]. Однако трансплантация гепатоцитов ограничена дефицитом донорских клеток, иммунологическими проблемами и необходимостью иммуносупрессии [4]. Недавние экспериментальные [5] и клинические исследования [6] также демонстрируют возможность успешного применения трансплантации различных фракций клеток костного мозга с целью нормализации восстановительных процессов в тканях печени.

В журнале *Stem Cells* сообщается о завершении пилотного клинического исследования по трансплантации клеток костного мозга пациентам с ЦП. Клинической работе японской группы предшествовало экспериментальное исследование на мышах с хроническим поражением печени, вызванным длительным введением четыреххлористого углерода. Трансплантация аутогенных мононуклеарных клеток костного мозга продемонстрировала способность таких клеток заселять пораженный орган и дифференцироваться в гепатоциты, синтезирующие альбумин, а также снижать степень фиброза печени и повышать выживаемость экспериментальных животных [7].

Для пилотного клинического исследования были отобраны 9 кандидатов с тяжестью ЦП по шкале Child–Pugh 7–10, общим уровнем билирубина не превышающим 30 мг/л и количеством тромбоцитов более 50 млрд/л, при отсутствии каких-либо признаков печеночно-клеточной карциномы. Цирроз во всех случаях имел вирусную этиологию. Для лечения таких пациентов на фоне продолжающейся стандартной терапии была предложена трансфузия свежееделенной мононуклеарной фракции клеток аутогенного костного мозга в периферический кровоток. Из 400 мл аспирата костного мозга подвздошной кости для дальнейшей трансфузии было получено в среднем 5 млрд мононуклеарных клеток, около 1% из которых экспрессировали маркеры CD34, CD45, CD117 (c-kit).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Махов В.М. Цирроз печени. Из: Маколкин В.И., Овчаренко С.И. Внутренние болезни. 2005; М.: Медицина: 352–65.
2. Heidelbaugh J.J., Bruderly M. Cirrhosis and chronic liver failure: part I. Diagnosis and evaluation. *Am. Fam. Physician.* 2006; 74(5): 756–62.
3. Heidelbaugh J.J., Sherbondy M. Cirrhosis and chronic liver failure: part II. Complications and treatment. *Am. Fam. Physician.* 2006; 74(5): 767–76.
4. Strom S., Fisher R. Hepatocyte transplantation: new possibilities for therapy.

После трансплантации клеток костного мозга у всех пациентов был отмечен суточный подъем температуры до 38°C. К концу 24-недельного срока исследования было выявлено значительное улучшение биохимических показателей крови – маркеров интенсивности ЦП и недостаточности органа. В контрольных точках наблюдения (4 и 24 недели от начала исследования) достоверно улучшилось общее состояние пациентов, оцениваемое по шкале Child–Pugh (альбумин, общий билирубин, протромбиновый индекс, асцит, энцефалопатия [2]). Авторы не отмечают каких-либо отрицательных последствий такого лечения.

Это первое сообщение о применении трансфузии аутогенных клеток костного мозга для лечения пациентов с циррозом печени. Авторы разработали оригинальный метод клеточной терапии ЦП в клинике и показывают, что метод выполним и безопасен.

Следует отметить, что, несмотря на начало клинических испытаний методов трансплантации клеток костного мозга больным с ЦП, экспериментальные данные о целесообразности и безопасности такого подхода остаются противоречивыми. Так, недавно группа британских ученых из Imperial College, проведя похожее экспериментальное исследование на мышах, получила противоположные результаты [8]. Летально облученные самки мышей с той же моделью поражения печени получали трансплантат костного мозга от доноров-самцов. В дальнейшем гибридизация *in situ* на выявление Y-хромосомы показала, что вклад клеток костного мозга в регенерацию паренхиматозных элементов печени был минимален – 0,6% всей популяции гепатоцитов, при этом 68% звездчатых клеток Ито (в активированном состоянии участвующих в фиброгенезе [9]) и 70% популяции миофибробластов регенерирующей печени содержали Y-хромосому. Такие клетки активно синтезировали коллаген I типа. Руководствуясь полученными результатами, британские авторы предостерегают от активного использования клеток костного мозга с целью ускорения регенерации печени, указывая на возможные осложнения в виде усиления фиброза печеночной паренхимы.

Несмотря на противоречивые экспериментальные данные, можно сказать, что результаты упомянутого пилотного клинического исследования являются перспективными, особенно в случае лечения пациентов с тяжелыми декомпенсированными формами заболевания. Однако, долгосрочная безопасность и эффективность такой клеточной терапии требуют изучения в последующих стадиях испытаний.

Gastroenterol. 2003; 124(2): 568–71.

5. Fang B., Shi M., Liao L. et al. Systemic infusion of FLK1(+) mesenchymal stem cells ameliorate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice. *Transplant.* 2004; 78(1): 83–8.

6. Am Esche II J.S., Knoefel W.T., Klein M. et al. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: A novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells* 2005; 23: 463–70.

7. Terai S., Sakaida I., Yamamoto N. et al. An in vivo model for monitoring

trans-differentiation of bone marrow cells into functional hepatocytes. *J. Biochem. (Tokyo)* 2003; 134: 551–8.

8. Russo F.P., Alison M.R., Bigger B.W. et al. The bone marrow functionally

contributes to liver fibrosis. *Gastroenterol.* 2006; 130(6): 1807–21.

9. Iredale J.P. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin. Liver Dis.* 2001; 21(3): 427–36.

Подготовил С.Р. Богатырёв

По материалам *Stem Cells* 2006; 24(10): 2292–8

Трансплантация тканеинженерных клапанов сердца – результаты долговременного клинического исследования у детей

Одной из основных проблем современной детской сердечно-сосудистой хирургии является необходимость замены синтетических сердечных клапанов в связи с ростом ребенка. Данную процедуру необходимо выполнять каждые 5–7 лет, чтобы обеспечить их нормальное функционирование. Попытки использования ксеногенных и аллогенных клапанов терпят значительное количество неудач, в связи с лизисом имплантата, замещением его соединительной тканью и присоединением тромботических осложнений [1].

Для решения проблем, связанных с использованием бесклеточных имплантатов, были предложены и прошли доклинические исследования технологии получения тканеинженерных конструкций клапанов сердца с использованием эндотелиальных и миогенных предшественников [2, 4–6]. Экспериментальные исследования показали, что покрытие аллогенных или ксеногенных клапанов сердца аутогенными эндотелиальными клетками снижает риск появления тромботических осложнений, поскольку отсутствует контакт крови с матричными белками [3]. Использование дополнительно в толще конструкции миобластов способствует снижению риска лизиса и деформации трансплантата. Кроме того, подобная тканеинженерная конструкция может обеспечить рост за счет наличия активных жизнеспособных клеточных элементов.

Острая необходимость клиницистов иметь в своем распоряжении подобный трансплантат обеспечила быстрый выход данной технологии в клиническую практику. В журнале *Circulation* опубликован отчет немецкой группы исследователей о более чем трехлетнем клиническом наблюдении 2 пациентов – детей, перенесших трансплантацию аллогенных, децеллюлированных клапанов сердца, с аутоклетками.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Gunal N., Baysal K., Haciomeroglu P. et al. Rheumatic heart disease and coronary vasculitis in children. *Acta Paediatr.* 2006; 95(1): 118–20.
2. Kim S.S., Lim S.H., Hong Y.S. et al. Tissue engineering of heart valves in vivo using bone marrow-derived cells. *Artif. Organs* 2006; 30(7): 554–7.
3. Knight R.L., Booth C., Wilcox H.E. et al. Tissue engineering of cardiac valves: re-seeding of acellular porcine aortic valve matrices with human mesenchymal progenitor cells. *J. Heart. Valve Dis.* 2005; 14(6): 806–13.
4. Rieder E., Seebacher G., Kasimir M.-T. et al. Tissue engineering of heart valves decellularized porcine and human valve scaffolds differ importantly in residual

Этой же группой авторов 4 года назад был разработан протокол создания тканеинженерных клапанов *in vitro* [7]. До трансплантации у пациентов получали 30–50 мл периферической крови, из которой выделялась мононуклеарная фракция и помещалась на поверхность клапана. Для обогащения конструкции эндотелиальными прогениторными клетками и прочности их адгезии клапан помещался в роторно-перфузионный биореактор на 21 день. Иммуногистохимическое и гистологическое исследования показали, что клапан покрыт монослоем эндотелиальных клеток, экспрессирующих характерные для них маркеры – CD31, VWF, Flk-1.

Данная конструкция была трансплантирована двум детям с тетрадой Фалло. Наблюдение за пациентами в течение 3,5 лет не показало грубых нарушений гемодинамики в области трансплантированных клапанов, признаков стеноза или деструкции обнаружено не было. Все дети росли и развивались нормально, в соответствии с возрастом. Наблюдалось увеличение диаметра клапанов по мере роста детей. Функция сердца восстановилась с III–IV класса по шкале NYHA – до I класса через год после пересадки и оставалась стабильной всё время наблюдения.

Таким образом, данное клиническое наблюдение показало, что трансплантация тканеинженерной конструкции клапанов сердца, содержащей аутогенные эндотелиальные клетки может обеспечить нормальную работу и рост клапанов в течение как минимум 3,5 лет. Безусловно, на основании полученных первичных данных будут проведены рандомизированные клинические испытания метода. На данном этапе можно говорить о безопасности и выполнимости процедуры и её больших клинических перспективах.

potential to attract monocytic cells valve. *Circulation* 2005; 111(21): 2792–7.

5. Takagi K., Fukunaga S., Nishi A. et al. In vivo recellularization of plain decellularized xenografts with specific cell characterization in the systemic circulation: histological and immunohistochemical study. *Artif. Organs* 2006; 30(4): 233–41.

6. Visconti R., Mironov V., Kasyanov V.A. et al. Cardiovascular tissue engineering I. Perfusion bioreactors: a review. *J. Long Term. Eff. Med. Implants* 2006; 16(2): 111–30.

7. Ebotari S., Mertsching H., Kallenbach K. et al. Construction of autologous human heart valves based on an acellular allograft matrix. *Circulation* 2002; 106: 163–8.

Подготовил А.В. Волков

По материалам *Circulation* 2006; 114: 1–132