различных фракций клеток костного мозга. Основная на сегодняшний день концепция заключается в мобилизации из костного мозга под действием этого цитокина так называемых эндотелиальных предшественников [6]. Имеются данные и о способности ГСК к дифференцировке в ангиобласты [7]. Г–КСФ способен непосредственно активировать пролиферацию и миграцию зрелых эндотелиоцитов, а также опосредованно через мобилизованные из костного мозга моноцитарные клетки, выделяющие ангиогенные факторы, стимулировать развитие сосудов [8]. Наряду с ангиогенным эффектом Г–КСФ описано его активирующее влияние на пролиферацию гепатоцитов, а также семикратное повышение сывороточного уровня фактора роста гепатоцитов (HGF) при мобилизации клеток костного мозга [9].

Остаётся дискуссионным и оптимальный путь введения клеточного материала в организм пациента. На сегодняшний день известно о положительных результатах не только трансфузии суспензии различных типов клеток [2], но и внутрипортального введения [1], что, скорее всего, увеличивает вероятность хоминга имплантируемых клеток в печеночной ткани.

Таким образом, данное наблюдение показывает выполнимость и безопасность процедуры мобилизации, лейкафереза и реинфузии клеток костного мозга с использованием Г–КСФ у пациентов с тяжелыми стадиями алкогольного цирроза. Кроме того, результаты работы показывают клиническую эффективность такого подхода у двух пациентов и позволяют надеяться на перспективность метода и расширение испытаний. В условиях дефицита донорского материала такой способ лечения пациентов с декомпенсированными формами хронических заболеваний печени может стать реальной альтернативой или служить «мостом» к трансплантации органа.

ЛИТЕРАТУРА:

1. 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.

2. Terai S., Ishikawa T., Omori K. et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. Stem Cells. 2006; 24(10): 2292–8.

3. Yannaki E., Athanasiou E., Xagorari A. et al. G–CSF–primed hematopoietic stem cells or G–CSF per se accelerate recovery and improve survival after liver injury, predominantly by promoting endogenous repair programs. Exp. Hematol. 2005; 33(1): 108–19.

4. Becker P.S., Wagle M., Matous S. et al. Spontaneous splenic rupture following administration of granulocyte colony–stimulating factor (G–CSF): occurrence in an allogeneic donor of peripheral blood stem cells. Biol. Blood Marrow Transplant. 1997; 3(1): 45–9.

5. Falzetti F., Aversa F., Minelli O., Tabilio A. Spontaneous rupture of spleen during peripheral blood stem–cell mobilisation in a healthy donor. Lancet 1999; 353(9152): 555.

6. Parissis J., Filippatos G., Adamopoulos S. et al. Hematopoietic colony stimulating factors in cardiovascular and pulmonary remodeling: promoters or inhibitors? Curr. Pharm. Des. 2006; 12(21): 2689–99.

7. Grant M.B., May W.S., Caballero S. et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. Nat. Med. 2002; 8: 607–12.

8. Capoccia B.J., Shepherd R.M., Link D.C. G–CSF and AMD3100 mobilize monocytes into the blood that stimulate angiogenesis in vivo through a paracrine mechanism. Blood 2006; 108(7): 2438–45.

9. Liu F., Pan X., Chen G. et al. Hematopoietic stem cells mobilized by granulocyte colony–stimulating factor partly contribute to liver graft regeneration after partial orthotopic liver transplantation. Liver Transpl. 2006; 12(7): 1129–37.

Подготовил: С.Р. Богатырёв
По материалам: Exp. Hematol. 2006; 34(11): 1583–7

Трансплантация аутогенных хондробластов для профилактики и лечения дегенеративных заболеваний межпозвонковых дисков – результаты клинического исследования в рамках программы EuroDisc

Одной из нерешенных проблем современной вертебрологии и неврологии остается комплекс заболеваний, связанных с дегенеративными изменениями в межпозвонковых дисках. Традиционно использующиеся методы могут лишь снять отдельные симптомы заболевания, тогда как практически нет возможности прервать патологическую цепочку, приводящую к последовательному поражению большей части межпозвонковых дисков.

Экспериментальные исследования показали, что трансплантация клеточной культуры мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга [2, 6] и хондробластов [1, 2, 4, 5] приводит к регенерации тканей межпозвонкового диска, проявляющейся в увеличении высоты диска и повышении его гидрофильности, а также формированием трехмерной хрящевой ткани, заменяющей пульпозное ядро и выполняющее ее функцию.

В настоящее время в Евросоюзе полным ходом идет научно–исследовательская программа поиска новых технологий для лечения дегенеративных заболеваний позвоночника – EuroDisc. Особое внимание уделяется применению клеточных технологий. В журнале Biomolecular Engineering опубликованы результаты I фазы клинического исследования в рамках программы EuroDisc, проведённого в Германии. 12 пациентам в возрасте от 18 до 60 лет производилась иньекционная трансплантация аутогенных хондробластов в межпозвонковые диски поясничного отдела позвоночника. После малоинвазивной секвестрэктомии хондроциты выделяли из биоптатов по методике Antoniou J. et al. [3] и культивировали в течение 12 недель. Пациенты в трёх медицинских центрах были отобраны и рандомизированы по требованиям программы EuroDisc. Клеточный трансплантат (запатентованный коммерческий продукт chondrotransplant® DISC подготавливался компанией CO.DON AG в GMP–условиях. Контрольную группу составили пациенты (n=16), оперированные по той же малоинвазивной методике (дискэктомия), но без трансплантации клеток. Общие срок наблюдения составил до двух лет.

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 Т2). 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, внутрипортально, внутрикостно и внутривенно на фоне иммуносупрессии по разработанным ранее протоколам [1–3]. ЭСК получали методом переноса ядра кумулюсной клетки этого же донора в энуклеированный 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 маркёры ЭСК – слабопозитивны по SSEA–1, сильнопозитивны по SSEA–4, Oct–3/4, TRA–1/60. Кариотипическая картина клеток перед трансплантацией