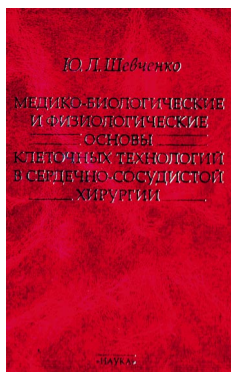


## ОБЗОР БИБЛИОГРАФИИ

### МОНОГРАФИЯ



**Шевченко Ю.Л. Медико-биологические и физиологические основы клеточных технологий в сердечно-сосудистой хирургии. СПб., Наука. 2006: 287.**

Монография посвящена фундаментальным основам коррекции нарушенных функций сердечно-сосудистой системы. На основе собственного экспериментального опыта и анализа литературы автором представлены основные направления этого раздела клеточных технологий: клеточная

терапия инфаркта миокарда, стимуляция неоангиогенеза, клеточные технологии в ангиохирургии.

Несомненным достоинством монографии стало включение основных организационных и правовых норм, распространяющихся на лаборатории, работающие с клеточным материалом (на основе GTP, GMP, OCT 42-510-98).

### СПЕЦВЫПУСКИ

**Transplant. Immunology 2005; 15(2).**

Тема номера: «Stem Cells in Transplantation Medicine».

**Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med. 2006; 3 (Suppl 1).**

Этот номер включает результаты экспериментальных и клинических исследований последних лет в области проблем регенерации сердечно-сосудистой системы с использованием трансплантации «взрослых» или эмбриональных стволовых клеток, стимуляции собственных прогениторных клеток и генотерапии. В основном представлены работы Second International Symposium on Gene and Stem Cell Therapy for Heart Failure and Other Cardiovascular Diseases (апрель 2006, Valladolid, Испания).

### БИОЛОГИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

**Uezumi A., Ojima K., Fukada S. Functional heterogeneity of side population cells in skeletal muscle. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2006; 341: 864-73.**

В скелетной мускулатуре мышей исследователями подробно описаны клетки сторонней (боковой) популяции (side-population cells). Клетки отличны от сателлитных клеток и по поверхностным маркерам могут быть разделены на несколько субпопуляций. CD31<sup>-</sup>CD45<sup>-</sup> клетки обладают максимальной способностью к пролиферации и дифференцировке *in vitro* в остео-, адипо- и миогенном направлениях, а также активно участвуют в репаративной регенерации скелетных мышц. Таким образом, эта работа пополнила ряд исследований, в которых «взрослые» стволовые клетки были обнаружены в различных тканях, например, в тканях стенки магистральных артерий.

**Brambrink T., Hochedlinger K., Bell G., Jaenisch R. ES cells derived from cloned and fertilized blastocysts are**

**transcriptionally and functionally indistinguishable. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2006; 103(4): 933-8.**

Генетические поломки в клетках клонированных животных могут ограничить развитие некоторых технологий терапевтического клонирования. Ученые сравнили транскрипционные профили 10 линий ЭСК, одни из которых были получены из оплодотворенной зиготы, а другие – из зигот после переноса ядра. Оказалось, что эти клетки идентичны по сравниваемым параметрам. Таким образом, в отличие от клонированных организмов, у которых обнаруживаются генетические отклонения, у линий ЭСК вне зависимости от способа получения таковая патология отсутствует. Таким образом, получение линий ЭСК для целей терапевтического клонирования с этой точки зрения является более предпочтительным, нежели клонирование целого организма.

**Han S.K., Chun K.W., Gye M.S., Kim W.K. The effect of human bone marrow stromal cells and dermal fibroblasts on angiogenesis. Plast. Reconstr. Surg. 2006; 117(3): 829-35.**

Произведено сравнение ангиогенной активности человеческих стромальных клеток костного мозга и фибробластов кожи. Показано, что в культуре стромальные клетки активнее, чем фибробласты секретируют основной фактор роста фибробластов и фактор роста эндотелия сосудов, а после пересадки под кожу экспериментальным животным обладают более выраженной способностью стимулировать рост новых сосудов. Интересен тот факт, что взрослые фибробласты все же обладают определенными способностями стимулировать ангиогенез.

**Zhang C.C., Kaba M., Ge G. et al. Angiopoietin-like proteins stimulate ex vivo expansion of hematopoietic stem cells. Nat. Med. 2006; 12(2): 240-5.**

Группой исследователей из Massachusetts Institute of Technology и Harvard Medical School была описана группа ангиопоэтин-подобных белков (Angptl), синтезируемых CD3<sup>+</sup> клетками эмбриональной печени мыши и способных повысить количество высокоочищенных гемопоэтических стволовых клеток в культуре в 20-30 раз. Предполагается, что Angptl действуют через сигнальные пути, которые не могут быть активизированы такими известными факторами роста для гемопоэтических клеток, как SCF, TPO, а также другими – IGF-2 или FGF-1. Исследователи предполагают, что Angptl также будут вызывать экспансию *in vivo* и взрослых гемопоэтических стволовых клеток. Наличие и действие на гемопоэтические клетки аналогичных факторов у человека пока не известно.

### КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В КАРДИОЛОГИИ

**Lee M., Aoki M., Kondo T. et al. Therapeutic angiogenesis with intramuscular injection of low-dose recombinant granulocyte-colony stimulating factor. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005; 25(12): 2535-41.**

Японские исследователи выяснили, что локальное введение Г-КСФ в ишемизированную скелетную мышцу улучшает ее кровоснабжение и не приводит к значительному системному

лейкоцитозу, в отличие от системного введения фактора. Эффект Г-КСФ связан с непосредственной стимуляцией пролиферации эндотелиальных клеток и новообразованием микрососудов, как показали исследования *in vitro* на культуре эндотелиальных клеток пуповинной вены.

**Iwasaki H., Kawamoto A., Ishikawa M. et al. Dose-dependent contribution of CD34-positive cell transplantation to concurrent vasculogenesis and cardiomyogenesis for functional regenerative recovery after myocardial infarction. *Circulation* 2006; 113(10): 1311–25.**

На модели инфаркта миокарда исследователи показали дозозависимый эффект человеческих CD34<sup>+</sup> клеток при их интрамиокардиальной трансплантации иммунодефицитным мышам. Выяснилось, что при пересадке большего количества клеток более интенсивно проявляются процессы васкулогенеза и кардиомиогенеза, и при этом менее выражены фибропластические процессы.

### КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ

**Fuchs S., Kornowski R., Weisz G. et al. Safety and feasibility of transendocardial autologous bone marrow cell transplantation in patients with advanced heart disease. *Am. J. Cardiol.* 2006; 97(6): 823–9.**

**Briguori C., Reimers B., Sarais C. et al. Direct intramyocardial percutaneous delivery of autologous bone marrow in patients with refractory myocardial angina. *Am. Heart J.* 2006; 151(3): 674–80.**

Представлены результаты I фазы клинических исследований эффективности и безопасности трансэндокардиального изолированного введения свежeweделенных нефракционированных аутогенных мононуклеарных клеток костного мозга пациентам с рефрактерной ишемией миокарда. В целом, показана безопасность метода. Эффективность проверяли функциональными тестами и рядом инструментальных диагностических методик. Однако, в связи с отсутствием контрольной группы невозможно полностью доказать эффективность применения трансплантированных клеток – налицо может быть эффект плацебо. Кроме того, по результатам первого исследования почти у трети пациентов в течение года продолжала прогрессировать ИБС, и им были сделаны реваскуляризирующие операции.

**Zohnhofer D., Ott I., Mehili J. et al. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006; 295(9): 1003–10. *ClinicalTrials.gov* ID: NCT00126100.**

Продолжаются клинические испытания метода мобилизации прогениторных клеток костного мозга у пациентов, перенесших острый инфаркт миокарда. Наиболее широко используемым пептидом для этого является гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF). Немецкие кардиологи сообщают о результатах рандомизированного двойного-слепого плацебо-контролируемого испытания G-CSF у «инфарктных пациентов», прошедшего в Deutsches Herzzentrum и First Medizinische Klinik, Technische Universität München (Munich) в рамках программы REVIVAL-2 (Vigorous Activation of Bone Marrow Stem Cells). 56 пациентов с повышенным ST-сегментом подверглись терапии после успешной реперфузии миокарда методом чрескожной баллонной ангиопластики. В группу плацебо вошли 58 пациентов. Оказалось, что при хорошем эффекте мобилизации терапия никак не влияла на размер инфаркта, функцию левого желудочка и частоту

рестенозов в период 4–6 месяцев от начала рандомизации. Таким образом, после успешной I фазы испытаний метод продемонстрировал свою клиническую неэффективность.

**Ripa R.S., Jorgensen E., Wang Y. et al. Stem Cell Mobilization Induced by Subcutaneous Granulocyte-Colony Stimulating Factor to Improve Cardiac Regeneration After Acute ST-Elevation Myocardial Infarction. Result of the Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Stem Cells in Myocardial Infarction (STEMMI) Trial. *Circulation* 2006. [Epub ahead of print]**

Опубликованы результаты двух рандомизированных исследований, проведенных в Дании (I фаза клинических испытаний), в которых пациентам с острым инфарктом миокарда наряду со стандартным лечением подкожно вводился гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, который мобилизует прогениторные клетки костного мозга в периферический кровоток. Показана неэффективность такого подхода.

**Manno C.S., Arruda V.R., Pierce G.F. et al. Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response. *Nat. Med.* 2006; 12(3): 342–7.**

В журнале *Nature Medicine* опубликованы результаты I/II фаз клинических испытаний метода генотерапии гемофилии В, связанной с дефицитом фактора IX. Испытания проходили в 3 центрах CHLA – Children’s Hospital of Philadelphia, Stanford University Medical Center и University of Pittsburgh Medical Center. Введение аденовирусного вектора, несущего ген фактора IX, подтвердило свою эффективность и безопасность в преclinicalеских испытаниях. Вирусную генетическую конструкцию вводили в печеночную артерию семи пациентам с тяжелой гемофилией В. В результате исследования были сделаны следующие выводы:

- 1) терапия в выбранной дозе вируса нетоксична, осложнений, связанных с процедурой не наблюдали;
- 2) уровень IX фактора был значительно повышен у 2 пациентов в течение нескольких недель, что указывает на трансдукцию гепатоцитов *in vivo* и на терапевтическую эффективность метода;
- 3) эффективность метода в последующем была ассоциирована с появлением нейтрализующих антител, повышением уровня печеночных аминотрансфераз, иммунным ответом на собственные трансдуцированные гепатоциты и постепенно нивелировалась. Будущие исследования будут направлены на предотвращение иммунного ответа к терапевтической конструкции.

### КЛЕТЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В КОСТНОЙ ХИРУРГИИ

**Strietzel F.P. Tissue-engineered bone for lateral alveolar ridge augmentation: a case report. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.* 2006; 21(1): 131–5.**

В статье описывается клинический случай применения аутогенных клеток периоста нижней челюсти для восполнения недостатка костной ткани нижней челюсти. 32-летней пациентке в качестве подготовки к имплантации зубных протезов выполнена трансплантация тканеинженерной конструкции в область альвеолярных отростков. Через 2 месяца биопсия из места трансплантации показала зрелую костную ткань. Исследователи продемонстрировали возможность использования тканевой инженерии для восполнения дефицита костной ткани в области альвеолярных отростков в качестве предимплантационной подготовки с использованием собственных клеток периоста.

### КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИАБЕТА

**Djordjevic P.B., Lalic N., Bumbasirevic V. et al. Human fetal islet transplantation in type 1 diabetics: comparison of immunological effects between multiple implantation regimens. *Transplant. Proc.* 2005; 37(10): 4440–5.**

В Сербии и Черногории группа ученых использует фетальные человеческие островки Лангерганса для лечения диабета I типа. В данном исследовании изучалась иммуногенность трансплантированного материала. При этом пациенты не меняли инсулинотерапию. Однако следовые уровни С-пептида (до лечения) достоверно повышались максимально к 3 месяцам (0,35 pmol/l) и сохранялись до 5 месяцев (0,15 pmol/l), норма – 0,3–1,3 pmol/l. Иммунологические феномены в виде увеличения CD4/CD8 наблюдали также на 3 месяце. Антитела к инсулину не повышались, не менялся и уровень антител к островкам. Таким образом, данная методика не лечит диабет, но дополняет традиционную инсулинотерапию: повышение уровня С-пептида теоретически должно уменьшить количество и выраженность осложнений сахарного диабета.

**Taneera J., Rosengren A., Renstrom E. et al. Failure of Transplanted Bone Marrow Cells to Adopt a Pancreatic beta-Cell Fate. *Diabetes* 2006; 55(2): 290–6.**

Опровергая некоторые предшествующие данные, исследователи не обнаружили трансдифференцировки трансплантированных клеток костного мозга мышей в бета-клетки. Нормальным мышам и мышам-диабетикам осуществляли трансплантацию костного мозга, клетки которого были ассоциированы с GFP. Показано, что обнаруженные в поджелудочной железе клетки донорского происхождения имеют маркеры гемопоэтической дифференцировки.

### КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В УРОЛОГИИ

**Brehmer B., Rohrmann D., Rau G., Jakse G. Bladder wall replacement by tissue engineering and autologous keratinocytes in minipigs. *BJU Int.* 2006; 97(4): 829–36.**

В статье описывается экспериментальное исследование создания полнослойной заплаты стенки мочевого пузыря с использованием аутогенных кератиноцитов и подслизистой основы мочевого пузыря. Контрольная цистография не показала дивертикулов или деформации стенки мочевого пузыря, а при гистологическом исследовании были обнаружены жизнеспособные кератиноциты. Это первое подобное исследование на крупных лабораторных животных, которое может быть расценено как преклиническое.

**Matsunuma H., Kagami H., Narita Y. et al. Constructing a Tissue-Engineered Ureter Using a Decellularized Matrix with Cultured Uroepithelial Cells and Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells. *Tissue Eng.* 2006; 12(3): 509–18.**

В статье описывается методика создания искусственного мочеточника с использованием бесклеточной матрицы аллогенных мочеточника, уротелия мочевого пузыря и мононуклеарной фракции костного мозга. Исследование было выполнено на собаках. После трансплантации которым эквивалента мочеточника уже через 14 дней было отмечено сохранение клеточных элементов и активная васкуляризация трансплантата. Данное исследование имеет важное клиническое значение, особенно в детской урологии.

### КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

**Li Y., Reza R., Atmaca-Sonmez P. et al. Retinal Pigment Epithelium Damage Enhances Expression of Chemoattractants and Migration of Bone Marrow-Derived Stem Cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006, 47(4): 1646–52.**

Исследовательская группа Li Y. (University of Louisville, KY, USA) изучила возможную роль стволовых/прогениторных клеток костного мозга в репарации повреждения пигментного эпителия сетчатки у мышей. Установлено, что при повреждении в клетках пигментного эпителия многократно возрастают экспрессия мРНК для факторов хоуминга стволовых/прогениторных клеток (C3, hepatocyte growth factor, leukemia inhibitory factor) и секреция C3, stromal-derived factor-1 (SDF-1). В результате в очаг повреждения мигрируют позитивные по антигену Sca-1 мононуклеарные клетки костного мозга. Мигрирующие клетки характеризовались высокой степенью экспрессии мРНК ранних маркеров – MITF, Pax-6, Six-3, Otx. На основании полученных данных сделан вывод, что костный мозг может служить источником коммитированных в направлении пигментного эпителия стволовых/прогениторных клеток.

### КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В НЕВРОЛОГИИ И НЕЙРОХИРУРГИИ

**Xiao J., Nan Z., Motooka Y., Low W.C. Transplantation of a novel cell line population of umbilical cord blood stem cells ameliorates neurological deficits associated with ischemic brain injury. *Stem Cells Dev.* 2005; 14(6): 722–33.**

Из пуповинной крови человека удалось выделить популяцию стволовых негемопоэтических клеток (экспрессирующих Oct-4, Rex-1, Sox-2), которые способны положительно влиять на течение экспериментальной ишемии мозга у крыс. Механизм их действия – регуляторный, проявляется как при локальной трансплантации в ишемизированную зону, так и при внутривенном введении.

**Jesús Vaquero, Zurita M., Oya S., Santos M. Cell therapy using bone marrow stromal cells in chronic paraplegic rats: Systemic or local administration? *Neurosci. Lett.* 2006; 394 (1): 1–6.**

Группа из Испании выполнила сравнительное исследование эффективности 2 способов введения клеток костного мозга при травме спинного мозга. В эксперименте у крыс моделировали параплегию задних лап, сохраняющуюся без признаков регресса в течение 3 месяцев, до момента системного или локального введения клеток. Для трансплантации использовали только пластик-адгезивные (стромальные) клетки костного мозга. Одной группе животных вводили 3 млн клеток в хвостовую вену, другой группе – локально в посттравматическую кисту. Животные наблюдались в течение 6 месяцев, проводились функциональные и поведенческие тесты. После вывода животных из эксперимента была проведена морфологическая и иммуногистохимическая оценка спинного мозга в области травмы. В результате было показано, что локальное введение клеток оказывало значительно лучший эффект, чем системное по всем проводимым тестам – шкала BBB, поведенческие тесты, данные морфологии спинного мозга.