первичное использование децеллюлированной матрицы мочевого пузыря с нанесенными на них клетками без окутывания сальником не принесло удовлетворительных клинических результатов (3 пациента). Окутывание трансплантата сальником значительно улучшило приживление трансплантата (1 пациент), а применение комплекса децеллюлированной матрицы мочевого пузыря в сочетании с биополимером PGA и васкуляризацией сальником позволило значительно улучшить клинические результаты. Все пациенты перед лечением проходили полное уродинамическое обследование. Во время цистоскопии производилось взятие клеточного материала путем биопсии стенки мочевого пузыря с захватом слизистой и мышечной оболочек.

Полученный материал доставлялся в лабораторию, где из него получали два типа культуры клеток – мышечных и переходного эпителия мочевого пузыря. После получения достаточной клеточной массы культура наносилась на биоматериал (PGA) и аллогенную бесклеточную матрицу мочевого пузыря (подслизистая оболочка). Размер конструкции был достаточен для создания мочевого пузыря объемом до 150 см^3. Общее время от момента получения исходного материала до трансплантации составляло 6–7 недель. Через лапаротомический доступ конструкция была анастомозирована с шейкой нативного мочевого пузыря (без его удаления) и окутана со всех сторон сальником. Такой протокол был применен у 4 пациентов. В дальнейшем пациенты проходили контрольное урологическое обследование.

У всех пациентов удалось добиться увеличения объема мочевого пузыря, улучшения уродинамики и внутрипузырного давления. Лучшие результаты отмечены у пациентов, которым было произведено обертывание сальника матрицей из коллагена и PGA. При гистологическом исследовании образцов было отмечено, что во всех случаях стенка органа состояла из слизистой – типичного уротелия мочевого пузыря и мышечного слоя. Явлений метаплазии и неоплазии выявлено не было. Среднее время наблюдения составило 46 месяцев.

Этим исследованием группа Э. Аталы произвела революцию в мире детской и взрослой урологии, показав возможность помощи пациентам с пороками развития и заболеваниями мочевого пузыря, нуждающимся в цистопластике и обреченным на мучительную, социально неадаптированную жизнь. Хочется отметить, что началу применения данной технологии в клинике предшествовали длительные экспериментальные исследования [5–7], которые продемонстрировали возможность получения достаточного количества аутогенного клеточного материала, эффективность и безопасность методики на лабораторных животных. Безусловно, это величайшее событие в тканевой инженерии, служащей одним из эффективных инструментов современной регенеративной медицины.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Вишневский Е.Л. Диагностика и лечение нейрогенных дисфункций мочевого пузыря у детей. В кн: Игнатов С.И., Игнатова М.С. Лечение соматических заболеваний у детей. М.: СТАРКО; 1996: 165–76.
2. Джавад-Заде М.Д., Державин В.М., Вишневский Е.Л. и др. Нейрогенные дисфункции мочевого пузыря. М.: Медицина; 1989: 383.
3. Джавад-Заде М.Д., Абдуллаев К.И. Незаторможенный мочевой пузырь у детей. Клиника, диагностика и лечение. Метод. рекомендации. Баку; 1985: 26.
4. Джавад-Заде М.Д., Абдуллаев К.И., Акперов и др. Патогенез и лечение пузырно-мочеточникового рефлюкса при незаторможенном мочевом пузыре у детей. Урология и нефрология 1986; 3: 3–8.
5. Chung S.Y., Krivorov N.P., Rausei V. et al. Bladder reconstitution with bone marrow derived stem cells seeded on small intestinal submucosa improves morphological and molecular composition. J. Urol. 2005; 174(1): 353–9.
6. Falke G., Caffaratti J., Atala A. Tissue engineering of the bladder. World J. Urol. 2000; 18(1): 36–43.
7. Fraser M., Thomas D.F., Pitt E. et al. A surgical model of composite cystoplasty with cultured urothelial cells: a controlled study of gross outcome and urothelial phenotype. BJU Int. 2004; 93(4): 609–16.
8. Wein A.J. Diagnosis and treatment of the overactive bladder. Urology 2003; 62(5 Suppl 2): 20–7.

Подготовил А.В. Волков
по материалам Lancet 2006; 367: 1241–6

Трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для лечения реакции «трансплантат против хозяина»

В настоящее время основным и практически безальтернативным подходом к лечению лейкоза является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) [1, 2]. Однако высокая смертность в результате таких пересадок связана с развитием тяжелых форм реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). До сих пор не разработано достаточно эффективных протоколов лечения и профилактики острой РТПХ, резистентной к стероидным препаратам [3].

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК), полученные из костного мозга взрослого организма, в определенных *in vitro* и *in vivo* условиях способны дифференцироваться в различные мезенхимные производные [4, 5]. Известно, что аллогенные ММСК не обладают иммуностимулирующими свойствами *in vitro*: они не индуцируют пролиферацию лимфоцитов в реакции смешанной культуры и не являются мишенями для действия NK-клеток [6, 7]. Кроме того, *in vitro* исследования демонстрируют иммуносупрессивные свойства МСК, что делает их весьма привлекательным объектом с точки зрения иммунокорригирующей терапии аутоиммунных реакций и реакций отторжения трансплантата [8].

В журнале Transplantation опубликованы результаты I фазы клинических испытаний метода трансплантации ММСК в качестве терапии острой, резистентной к лекарственному воздействию РТПХ у больных лейкозом и солидным раком после трансплантаций ГСК или инфузий донорских лейкоцитов. Исследование проводилось группой Ringdén в

Karolinska University Hospital (Швеция) под руководством Le Blanc. 2 года назад этой же группой было описано клиническое наблюдение улучшения течения острой резистентной РТПХ с кишечными и печеночными проявлениями IV стадии при введении ММСК [9].

В настоящее исследование вошли 8 пациентов с III–IV стадиями острой РТПХ и один пациент с хронической формой РТПХ. Контролем служили 16 пациентов с острой РТПХ II–IV стадий, резистентной к терапии стероидами. Четырнадцать из них не получали инфузий ММСК по причине ограниченности ресурсов лаборатории, двое отказались от лечения. ММСК выделялись в культуре из аспиратов костного мозга здоровых доноров и пересаживались на 1–4 пассажах. Фенотипическая характеристика клеток $CD166^+/CD105^+/CD73^+/CD44^+/CD29^+/HLA\text{–}I^+/CD34^-/CD45^-/CD14^-$.

В результате лечения 4 пациента продемонстрировали полное выздоровление, 1 – улучшение в течении заболевания, у одного развился гастроэнтерит. Два пациента умерли после введения ММСК от полиорганной недостаточности и инфекции, однако при вскрытии не было обнаружено признаков РТПХ. Выживаемость в группе, получавшей инфузии ММСК, была значительно выше, чем в контрольной. У пациента, получавшего терапию ММСК в связи с хронической РТПХ, значительного улучшения выявлено не было.

Первые пациенты получали гаплоидентичные ММСК от доноров-родственников. Однако для получения необходимого для трансплантации количества клеток, по расчетам авторов, требуется не менее четырех недель, поэтому при развитии острой реакции время для получения трансплантата может быть лимитировано. В настоящее время пациентам производятся инфузии ММСК, полученных от неродственных несовместимых доноров. Пока общее число пациентов ограничено, однако предварительные данные позволяют предположить, что полное излечение от РТПХ может быть достигнуто также и введением HLA-несовместимых ММСК. Авторы отмечают, что ответ на лечение не зависел от возраста донора или от числа пассажей клеток в культуре. Большая часть пациентов получила ММСК, культивировавшиеся *in vitro* менее 30 дней. Некоторые пациенты получали повторные трансплантации ММСК. Авторы пересаживали разное количество клеток и выяснили, что наиболее эффективным является количество ММСК 2–9 млн клеток на кг массы пациента. У двух пациентов, получавших дозу ММСК ниже 2 млн/кг, наблюдались рецидивы заболевания. Тем не менее, у одного из них после повторного введения ММСК началась ремиссия.

Испытания новых методов клеточной трансплантации обычно проводятся в группах пациентов с тяжелым, не поддающимся стандартному лечению, течением заболевания с плохим прогнозом. Аналогично, в настоящее исследование были включены пациенты, страдающие тяжелыми формами острой РТПХ, тем не менее, большая их часть выжила. Более того, были отмечены случаи практически полного выздоровления, а медиана выживаемости была намного выше, чем в контрольной группе, подвергавшейся лечению без применения ММСК. Авторы отмечают и ряд недостатков в проведении исследования. В него было включено всего лишь несколько пациентов, оно не было рандомизировано и, следовательно, еще не получены неоспоримые доказательства того, что именно трансплантация ММСК приводит к позитивной иммуномодуляции *in vivo*, хотя иное объяснение предложить сложно. Однако, можно сделать вывод о том, что метод выполним в такой тяжелой группе пациентов и безопасен, поскольку не было отмечено побочных эффектов. Необходимы дальнейшие исследования с более жестким контролем (попытки терапии острой РТПХ с помощью ММСК и плацебо недавно были начаты в Европе).

Данное исследование может послужить основой для использования ММСК в терапии стероид-резистентной острой РТПХ. Аллогенные ММСК, полученные от родственных, от гапло-идентичных или даже от HLA-несовместимых доноров могут использоваться в качестве иммуносупрессоров при РТПХ, а также для восстановления поврежденного в результате аутоиммунных реакций кишечного эпителия.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Thomas E.D., Buckner C.D., Banaji M. et al. One hundred patients with acute leukaemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. Blood 1977; 49: 511–33.
2. Appelbaum F. The current status of hematopoietic cell transplantation. Annu. Rev. Med. 2003; 54: 491–512.
3. Aschan J. Treatment of moderate to severe acute graft-versus-host disease: a retrospective analysis. Bone Marrow Transplant. 1994; 14: 601–7.
4. Angeloupoulou M., Novelli E., Grove J.E. et al. Cotransplantation of human mesenchymal stem cells enhances human myelopoiesis and megakaryocytopoiesis in NOD/SCID mice. Exp. Hematol. 2003; 31: 413–20.
5. Maitra B., Szekely E., Gjini K. et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation. Bone Marrow Transplant. 2004; 33: 597–604.
6. Tse W.T., Pendleton J.D., Beyer W.M. et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. Transplantation 2003; 75: 389–97.
7. Klyushnenkova E., Mosca J.D., Zernetkina V. et al. T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells: immunogenicity, tolerance and suppression. Biomed. Science 2005; 12: 47–57.
8. Rasmusson I., Ringde´n O., Sundberg B. et al. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells. Transplantation 2003; 76: 1208.
9. Le Blanc K., Rasmusson I., Sundberg B. et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haplo-identical mesenchymal stem cells. Lancet 2004; 363: 1439–41.

Подготовила А.С. Григорян
по материалам Transplantation 2006; 81(10): 1390–7