

Кардиомиоциты выделяли из сердец неонатальных крыс. После культивирования и накопления достаточной клеточной массы миоциты были нанесены на силиконовые пленки, покрытые фибрином, и помещены в толщу мягких тканей в бассейне бедренных сосудов крыс-реципиентов.

Спустя три недели производили морфо-функциональную оценку графта. Макроскопически конструкция представляла собой мышечный пласт на силиконовой пленке. Сформированный сердечный мышечный пласт обладал электрической активностью и способностью сокращаться. При гистологическом исследовании в толще неомиокарда выявлена значительная сосудистая сеть. Ткань представляла собой схожую с естественным миокардом. Между кардиомиоцитами отчетливо определялись вставочные диски. Кроме того, миокард активно реагировал хронотропным эффектом на адреналин.

Таким образом, исследователям впервые удалось получить функциональную ткань миокарда *in vivo* методом префабрикации. При необходимости данная конструкция

может быть перемещена в зону постоянной имплантации на сосудистой ножке, что позволит сохранить кровоснабжение толщи мышцы.

Ряд научных работ рассматривает различные подходы к получению значительных по размеру, толщине и функциональности эквивалентов сердечной мышцы. Большинство исследований носят фундаментальный характер и пока трудно представить какую-либо отдельную технологию в клинике. Во всех работах было показано благоприятное влияние биоматрицы на формирование ткани миокарда и его интеграцию с тканью хозяина. Главной проблемой является выбор клеточного материала. Применение кардиомиоцитов из ЭСК позволяет получить неограниченное количество клеток, однако несёт в себе риск туморогенеза и иммунной реакции. Использование фетального материала ограничено этическими причинами. Определённые надежды возлагаются на мезенхимальные клетки костного мозга и подкожного жира, способные дифференцироваться в кардиомиоциты, а также стволовые клетки взрослого миокарда.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Alperin C., Zandstra P.W., Woodhouse K.A. Polyurethane films seeded with embryonic stem cell-derived cardiomyocytes for use in cardiac tissue engineering applications. *Biomaterials* 2005; 26: 7377–86.
2. Brown D.A., Beygui R.E., MacLellan W.R. et al. Modulation of gene expression in neonatal rat cardiomyocytes by surface modification of polylactide-co-glycolide substrates. *J. Biomed. Mater. Res.* 2005; 74: 419–29.
3. Leor J., Amsalem Y., Cohen S. Cells, scaffolds, and molecules for myocardial tissue engineering. *Pharmacol. Ther.* 2005; 105: 151–63.
4. Itabashi Y., Miyoshi S., Kawaguchi H. et al. A new method for manufacturing cardiac cell sheets using fibrin-coated dishes and its electrophysiological studies by optical mapping. *Artif. Organs* 2005; 29: 95–103.
5. Leor J., Aboulaiaf-Etzion S., Dar A. et al. Bioengineered cardiac grafts: A new approach to repair the infarcted myocardium? *Circ.* 2000; 102 (19 Suppl 3): III56–61.
6. Li R.K., Jia Z.Q., Weisel R.D. et al. Survival and function of bioengineered

cardiac grafts. *Circ.* 1999; 100 (19 Suppl): II63–69.

7. Radisic M., Park H., Shing H. et al. Functional assembly of engineered myocardium by electrical stimulation of cardiac myocytes cultured on scaffolds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 18129–34.

8. Kofidis T., de Bruin J.L., Hoyt G. et al. Injectable bioartificial myocardial tissue for large-scale intramural cell transfer and functional recovery of injured heart muscle. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2004; 128; 4: 571–8.

9. Hodgson D.M., Behfar A., Zingman L.V. et al. Stable benefit of embryonic stem cell therapy in myocardial infarction. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2004; 287; 2: H471–H479.

10. Kehat I., Khimovich L., Caspi O. et al. Electromechanical integration of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Nat. Biotechnol.* 2004; 22: 1282–9.

11. Zhao Y.S., Wang C.Y., Li D.X. et al. Construction of a unidirectionally beating 3-dimensional cardiac muscle construct. *J. Heart. Lung. Transplant.* 2005; 24: 1091–7.

Подготовил Волков АВ
по материалам *Tissue. Eng.* 2005; 11: 803–813.

Ксенотрансплантация нейрональных клеток пациентам с ишемическим инсультом – результаты I фазы клинических испытаний

Успешные эксперименты по трансплантации нейронов (фетальных нервных клеток свиньи и человека, а также иммортализованных) и клеток костного мозга при различных моделях инсульта позволили перейти к первым клиническим испытаниям метода [1]. Первое сообщение о трансплантации нервных клеток в головной мозг человека появилось в 1998 году [2]. В University of Pittsburgh Medical Center пациентке 62-х лет, перенесшей инсульт, пересадили нейроны, полученные из тератокарциномы человека частной компанией Layton Bioscience [2, 3]. Было показано, что такие нейроны выживают в головном мозге пациентов более 2-х лет после трансплантации без признаков малигнизации [4]. В настоящее время продолжается II фаза испытаний [5, 8].

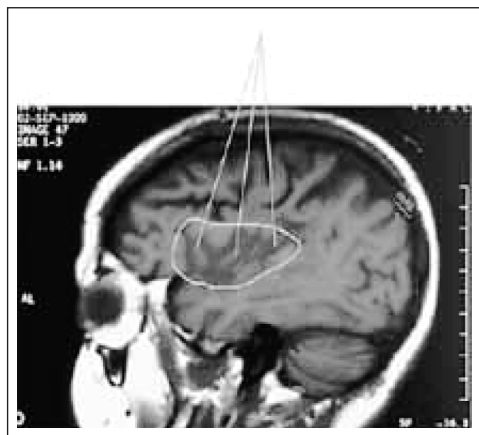
В журнале *Cerebrovascular Diseases* опубликованы результаты пилотного исследования по нейротрансплантации ксеноклеток пациентам с ишемическим инсультом. Выбор клеточного материала был обусловлен этическими и зако-

нодательными ограничениями использования фетальных клеток человека и успешными результатами экспериментальных работ по применению свиных нейронов в моделях болезни Хантингтона [6] и инсульта [7]. Кроме того, ещё 8 лет назад было проведено пилотное исследование по эффективности ксенотрансплантации свиных клеток пациентам с болезнью Паркинсона, показавшее безопасность метода [10].

Основные клинические критерии включения пациентов в исследование – ишемический инсульт от 3 месяцев до 10 лет, бассейн средней мозговой артерии с вовлечением области стриатума, размер инфаркта 20–300 куб. см, временный неврологический дефицит и невысокая степень инвалидности в анамнезе.

Клетки выделяли из стриатума фетусов свиней по протоколу Deacon T.W. [9]. Перед введением клетки обрабатывали антителами к МНС-I, поэтому классическую иммуносупрессию

(циклоспорин, такролимус) после трансплантации не проводили. Клетки пересаживали в головной мозг стереотаксически по нескольким траекториям в область стриатума. Всего вводили 50 млн клеток в 5 точек (по 10 млн в каждую). Пациентов выписывали под амбулаторное наблюдение на следующее утро.



MPT-схема стереотаксического введения клеток
В каждой траектории (канале) производили по 10 введений с параметрами: 1 введение = 1 мм канала = 1 млн клеток в 10 микролитрах физраствора.
Из *Cerebrovasc. Dis.* 2005; 20: 101–7 с

Трансплантации были выполнены 5-ти пациентам. Осложнений во время операций отмечено не было. У 3-х пациентов исследователи не выявили никаких эффектов от введения клеток в течение 4-х лет после трансплантации (всё время наблюдения). У одного пациента через 20 дней после трансплантации усилилась слабость в паретических конечностях. Биопсия увеличенного участка правой лобной доли выявила инфаркт-подобные изменения в виде очагов некроза с инфильтрацией макрофагами и Т-клетками, связанные с трансплант-независимой окклюзией корковой вены. Данное состояние разрешилось через несколько дней после стероидной терапии. Картина МРТ нормализовалась к 6-му месяцу. Ещё у одной пациентки через неделю после трансплантации наблюдали развитие диабетического кетоацидоза с «объёмными» изменениями на МРТ, однако эпизоды гипергликемии повторялись неоднократно до

трансплантации и все 4 года после (в связи с сахарным диабетом в анамнезе). Летальных исходов, связанных с процедурой, не было.

Субъективно, сразу после трансплантации все пациенты отметили улучшение состояния, связанное с временным уменьшением степени парезов. Пациентка с эпизодами кетоацидозов через какое-то время впервые стала опираться на паретическую конечность и ходить (в том числе подниматься по лестнице). У другого пациента произошло значительное улучшение речи после длительной афазии. Однако объективная оценка неврологического статуса по функциональной шкале (NIHSS) выявила значительное улучшение только у 1 пациента (с 11 баллов до 7) из 5-ти.

Это первое сообщение о клинических результатах испытаний метода трансплантации неиммортизированных клеток при ишемическом инсульте. Исследователи делают вывод о безопасности метода ксенотрансплантации. Не было отмечено осложнений, связанных с трансплантацией, инфицирования (включая свиные провирусы), малигнизации и каких-либо патологических сдвигов в лабораторных показателях и тестах. Однако, после развития ряда неблагоприятных симптомов у 2-х вышеописанных пациентов FDA приостановила испытания.

Следует отметить, что сам по себе факт стереотаксической трансплантации клеток несёт риск кровотечения с развитием гематом [8]. Поскольку такой вид нейротрансплантации на сегодняшний день считается оптимальным, ведутся работы по усовершенствованию хирургической техники (канюль) и самой методики введения [5]. В отличие от клинического исследования Deacon [10], авторы впервые избежали применения иммуносупрессивной терапии. При этом не отмечали никаких иммунологических реакций и признаков ксеноинфицирования.

Поскольку исследование в США было приостановлено FDA, единственным видом клинической нейротрансплантации при инсульте остаётся применение иммортизированных нейронов человека (выделенных из линии NT2N), испытания которого продолжаются [8]. Однако, совсем недавно ученые из Южной Кореи опубликовали результаты пилотного исследования эффективности внутривенной трансплантации аутологических мезенхимальных клеток костного мозга пациентам с ишемическим инсультом [11]. Тем не менее, чтобы сделать вывод о перспективности того или иного метода нейротрансплантации при инсульте, все опубликованные работы должны быть подвергнуты тщательному анализу, а исследования продолжены.

Исследование выполнено в медицинских центрах Harvard Medical School (Boston, MA, USA) и Cornell University (New York, NY, USA) при участии компании Genvec Inc (Charlestown, MA, USA).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Savitz S.I., Rosenbaum D.M., Dinsmore J.H., Wechsler L.R., Caplan L.R. Cell transplantation for stroke. *Ann. Neurol.* 2002; 52: 266–75.
2. Bonn D. First cell transplant aimed to reverse stroke damage. *Lancet* 1998; 352: 9122: 119.
3. Kondziolka D., Wechsler L., Goldstein S. et al. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 2000; 55: 565–9.
4. Nelson P.T., Kondziolka D., Wechsler L. et al. Clonal human (hNT) neuron grafts for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation. *Am. J. Pathol.* 2002; 160: 1201–6.
5. Kondziolka D., Steinberg G.K., Cullen S.B., McGrogan M. Evaluation of surgical techniques for neuronal cell transplantation used in patients with stroke. *Cell Transplant.* 2004; 13:749–54.
6. Isacson O., Deacon T.W., Pakzaban P. et al. Transplanted xenogeneic neural cells in neurodegenerative disease models exhibit remarkable axonal target specificity

and distinct growth patterns of glial and axonal fibres. *Nat. Med.* 1995; 1: 1189–94.

7. Dinsmore J.H. M.J., Siegan J., Morrison J.P. et al. CNS grafts for treatment of neurologic disorders. *Methods of Tissue Engineering*, San Diego, Academic Press, 2002.

8. Kondziolka D., Steinberg G.K., Wechsler L. et al. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: A phase 2 randomized trial. *J. Neurosurg.* 2005; 103(1):38–45.

9. Deacon T.W., Pakzaban P., Burns L.H. et al. Cytoarchitectonic development, axon-glia relationships, and long distance axon growth of porcine striatal xenografts in rats. *Exp. Neurol.* 1994; 130: 151–67.

10. Deacon T., Schumacher J., Dinsmore J. et al. Histological evidence of fetal pig neural cell survival after transplantation into a patient with Parkinson's disease. *Nat. Med.* 1997; 3: 350–3.

11. Bang O.Y., Lee J.S., Lee P.H., Lee G. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann. Neurol.* 2005; 57: 874–82.

Подготовил А.В. Берсенев
по материалам *Cerebrovasc. Dis.* 2005; 20: 101–7