Стратегия развития Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова в области науки и образования предполагает дальнейшую интеграцию инновационной, лечебной и научно-образовательной деятельности для проведения крупных, многоцентровых исследований в области системной биологии и трансляционной медицины и подготовки кадров на международном уровне.

Таким образом, широкое внедрение в клиническую практику принципов, на которых базируется трансляционная медицина, обеспечит создание современной междисциплинарной клинической, научно-исследовательской, образовательной, экспериментальной и опытно-производственной базы, нацеленной на интеграцию и концентрацию интеллектуальных и материальных ресурсов для решения задач, поставленных в Концепции демографической политики Российской Федерации – повышения рождаемости, сокращения уровня смертности от заболеваний сердечно-сосудистой системы, увеличения доступности высокотехнологичной медицинской помощи, развития системы восстановительного лечения и реабилитации, повышения качества жизни и увеличения ожидаемой продолжительности жизни россиян.

TRANSLATIONAL MEDICINE AS A STRATEGIC DIRECTION OF PUBLIC HEALTH CARE

*Professor **E. Shlyakhto**, Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences*
V.A. Almazov Federal Center of the Heart, Blood, and Endocrinology, Ministry of Health and Social Development of Russia, Saint Petersburg

Due to the detection of markers for therapeutic exposure, translational medicine makes it possible to enhance the effectiveness of the markers and to reduce the duration and cost of treatment, by using personified approaches.

Key words: molecular diagnosis, gene therapy, personified approach, prevention of cardiovascular diseases.

Журнал «Фармация»

предлагает

руководителям фарминдустрии, сотрудникам аптек, преподавателям и студентам уникальную информацию о проектах фармакопейных статей, научных исследованиях в области контроля качества лекарственных средств.
С журналом «Фармация» вы всегда будете в курсе самых новейших достижений фармацевтической науки

Подписаться можно с любого месяца

Подписной индекс
по каталогу «Роспечать» – **71477**
по каталогу «Пресса России» – **44772**
по каталогу «Почта России» – **73175**

ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ «РУССКИЙ ВРАЧ»

Подписка на электронную версию журнала на сайте www.rusvrach.ru

ПЕРСПЕКТИВЫ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Т. Никонова, кандидат медицинских наук,
Е. Пекарева, Ю. Филиппов,
Эндокринологический научный центр, Москва
E-mail: tatiana_nikonova@mail.ru

Рассмотрены возможности клеточных технологий в лечении сахарного диабета типа 1 (СД1). На экспериментальных моделях показано, стволовые клетки обеспечивают теоретически неограниченный источник инсулинпродуцирующих клеток для трансплантации. Тем не менее иммунологические барьеры и рецидивы аутоиммунного процесса остаются основными проблемами при их использовании.

Ключевые слова: сахарный диабет, клеточные технологии, трансплантация.

В последние годы особое внимание уделяется поиску этиотропного и патогенетического лечения сахарного диабета типа 1 (СД1). Исследования направлены на поиски возможностей замещения утраченной функции островков поджелудочной железы (ПЖЖ), восстановления функции инсулярного аппарата, что может способствовать нормализации регуляции углеводного обмена [9, 11, 13]. Как наиболее перспективные подходы рассматриваются трансплантация островков ПЖЖ или ее фрагментов и клеточные технологии [1, 9, 10, 16]. Первая пересадка ПЖЖ была выполнена под руководством д-ра W. Kelly в 1967 г. пациенту с диабетической нефропатией. В последующие годы при проведении подобных операций выживаемость больных и функция пересаженного органа оставались крайне низкими. С внедрением современных иммуносупрессивных средств реакций отторжения стало значительно меньше. Между тем до 2000 г. удачных пересадок ПЖЖ было всего около 8%.

В 2000 г. был разработан Эдмонтонский протокол трансплантации островков ПЖЖ. Основными особенностями протокола были методика выделения островков из ПЖЖ донора и состав комбинированной иммуносупрессивной терапии. Д-р C. Ricordi, один из ведущих ученых в области клеточной трансплантации, первым в мире осуществил серии трансплантаций донорских островков в печень больных СД [14] и внедрил в клиническую практику метод, позволяющий изолировать большое количество клеток островков ПЖЖ человека. В соответствии с указанным протоколом для выделения островков из ПЖЖ донора использовали специальные энзимы [15]. Был ликвидирован этап приготовления культуры островков ПЖЖ. После получения очищенных островков с высоким выходом клеток и до момента трансплантации проходило не более 2 ч. Клетки вводили в воротную вену через катетер, установленный под контролем УЗ. Комбинация иммуносупрессивных препаратов в Эдмонтонском протоколе включала сиролимус, такролимус и даклизумаб (монокло-

нальные антитела к рецепторам ИЛ2). Каждый больной получил в среднем 10 000 островков на 1 кг массы тела. Такое количество островков ПЖЖ для каждого больного получали из 2–3 донорских трупных желез. Сиролимус считают наиболее современным иммуносупрессивным препаратом, играющим ключевую роль в приживлении трансплантированных клеток ПЖЖ. Его иммуносупрессивные свойства обусловлены прежде всего блокадой ИЛ2-индуцированной пролиферации Т-лимфоцитов. Сиролимус связывается (подобно такролимусу) с белком из семейства FK-связывающих. Затем этот комплекс связывается с протеинкиназой mTOR, в результате чего блокируются пути передачи сигнала, останавливающие клеточный цикл в фазе G-1. Главным преимуществом сиролимуса перед другими иммуносупрессивными препаратами является его способность сохранять функцию почек наряду с поддержанием лучшей (без отторжения) выживаемости трансплантата. Для профилактики отторжения трансплантата предпочтительно использовать инъекционные лекарственные формы, содержащие наночастицы такролимуса, сиролимуса или их комбинацию, для создания подкожного или внутримышечного депо.

Использование инкапсулированных островков, получаемых с помощью современных нанотехнологий, а также ингибиторов каспаз позволяет избежать массовой гибели имплантированных β-клеток и предотвращает аллосенсибилизацию при трансплантации.

В исследование по Эдмонтонскому протоколу [15] были включены больные в возрасте от 18 до 65 лет с длительностью СД более 5 лет, индексом массы тела (ИМТ) не более 26 кг/м^2 и неопределяемой концентрацией С-пептида в крови. Согласно предварительно опубликованным результатам исследования (9 центров из США, Канады, Европы), у 16 (44%) из 36 участников через год после трансплантации островков ПЖЖ отпала необходимость в экзогенно вводимом инсулине, у остальных 20 человек требовалось введение инсулина, но у половины из них при уменьшенной дозе отмечено улучшение контроля углеводного обмена.

Случаев смерти, развития злокачественных опухолей или посттрансплантационных лимфопролиферативных состояний не было. Побочные эффекты трансплантации, обусловленные иммуносупрессией, включали нейтропению (5 случаев), пневмонию, стоматит, пиелонефрит. В 7 из 77 случаев инфузии островков ПЖЖ возникло интраперитонеальное кровотечение, из них в 4 случаях потребовалось переливание крови и в 1 – лапаротомия.

Авторы проекта считают трансплантацию островковых клеток ПЖЖ альтернативным методом лечения пациентов с нестабильным течением СД, страдающих от частой тяжелой гипогликемии, у которых все попытки компенсировать СД с помощью инъекций инсулина потерпели неудачу.

Другое направление клеточных технологий, целью которых является восстановление массы β-клеток, – использование стволовых клеток. К стволовым относятся клетки, способные образовывать большое количество более дифференцированных клеток. Различают стволовые клетки эмбриональные (ЭСК), абортивные или фетальные, пуповинной крови и собственно аутологичные стволовые клетки – в основном из красного костного мозга (ККМ) самого пациента.

Альтернативным источником высокопролиферативных плюрипотентных клеток, заслуживающих внимания, являются ЭСК. Полученные из эмбриона на стадии бластоцисты, эти клетки in vitro обладают способностью к дифференциации во все 3 зародышевых листка [5].

Первый отчет об успешном получении инсулинпродуцирующих клеток из ЭСК мыши был опубликован в 2000 г. [17]. Используя систему клеточных ловушек, B. Soria и соавт. получили клоны инсулинпродуцирующих клеток из недифференцированных ЭСК. Кластеры клеток из этих клонов были имплантированы в селезенку мышей со стрептозотоцининдуцированным СД. У этих животных снизились показатели гликемии и нормализовалась масса тела. Тем не менее число инсулинпозитивных клеток было чрезвычайно мало.

Технология применения ЭСК активно развивается в последние годы в результате разработки более специфических режимов инкубации, позволяющих достичь их координированной дифференциации.

Исследования на человеческих ЭСК находятся в начальной стадии. При этом очевидно, что многие принципы, выявленные на ЭСК мышей, не могут быть прямо применимы к человеческим. Более того, в физиологических условиях β-клетки находятся в сложной структуре островка, что позволяет контролировать инкрецию инсулина с помощью различных механизмов: нервного (например, симпатических нервных волокон), эндокринного (например, глюкагона) и паракринного (например, соматостатина). Кроме того, этические проблемы, связанные с получением инсулинпродуцирующих клеток из эмбрионов человека, осложняют дальнейшее развитие этого направления.

Не только ЭСК, но и дифференцированные клетки разного происхождения, включая гепатоциты, клетки селезенки, ККМ и экзокринной части ПЖЖ, способны образовывать инсулин [3, 13]. Однако у дифференцированных клеток эта способность гораздо ниже, чем у ЭСК человека. Кроме того, такие клетки в типичных случаях не содержат других важных компонентов β-клеток, необходимых для координированной инкреции инсулина, а именно глюкокиназы и GLUT-2.

В ходе развития эмбриона как печень, так и вентральная закладка ПЖЖ формируются из одной популяции клеток внутри эндодермы эмбриона, отсюда правомерно предположить, что эпителиальные клетки ПЖЖ и печени могут происходить из единой клеточной популяции. Таким образом, стволовые клетки печени могут быть другим привлекательным источником β-клеток.

L. Yang и соавт. описывают способность высокоочищенных овальных стволовых клеток взрослых крыс дифференцироваться в эндокринные клетки ПЖЖ при выращивании в среде с высоким содержанием глюкозы [20]. Такие дифференцированные клетки способны самостоятельно объединяться в трехмерные островковоподобные кластеры клеток и снижать гликемию у NOD-мышей с комбинированным иммунодефицитом. Многообещающими оказались результаты, полученные при исследовании с использованием взрослых печеночных клеток человека. При применении гена PDX-1 и растворимых факторов был достигнут существенный успех по преобразованию таких клеток в функциональные инсулинпродуцирующие. Трансплантация этих клеток под почечную капсулу иммунодефицитных NOD-мышей обусловливала длительную

нормализацию гликемии [13, 16]. Недавнее исследование под руководством D. Tang и соавт. продемонстрировало возможность репрограммирования стволовых WB-клеток печени в предшественники эндокринных клеток ПЖЖ с помощью постоянной экспрессии генов Pdx-1 и Pdx-1-VP 16 [18]. При трансплантации диабетическим мышам эти клетки становятся функциональными инсулинпродуцирующими и восстанавливают эугликемию.

Важным источником стволовых клеток у взрослых людей служат ККМ. В дополнение к способности поддерживать систему гемопоэза эти клетки могут дифференцироваться как в экто-, так и в эндодермальном направлении.

В исследовании A. Ianus и соавт. сообщается, что 1,7–3,0% всех β-клеток у мышей-реципиентов были донорского происхождения и обнаруживались в течение 4–6 нед после трансплантации ККМ [7]. C. Moriscot и соавт. также сообщают, что стволовые клетки ККМ человека способны in vitro дифференцироваться в инсулинсекретирующие клетки путем активации некоторых факторов транскрипции [12]. D. Hess и соавт. описали эндогенную регенерацию ПЖЖ после трансплантации стволовых клеток ККМ [6]. Обнаружено, что встраивание и приживление этих клеток к протокам и островкам ПЖЖ сопровождается быстрой пролиферацией клеток ПЖЖ реципиента и неогенезом инсулинпозитивных клеток. Считают, что трансплантированные стволовые клетки ККМ преобразуются в сосудистые эндотелиальные клетки, стимулирующие регенерацию β-клеток в ПЖЖ из клеток реципиента путем выработки пока еще неизвестных факторов роста и дифференциации.

Можно добавить, что гемопоэтические стволовые клетки взрослых людей способны вызывать повторную устойчивость к аутоантигенам. Хотя гемопоэтические стволовые клетки потенциально можно использовать для лечения аутоиммунных заболеваний, клиническое применение данного подхода ограничивают риски, связанные с аллогенной трансплантацией.

M. Haller и соавт. проводили клинические испытания эффективности применения пуповинной крови для лечения пациентов с СД 1 [4]. Подбор больных с сохраненной пуповинной кровью начали в 2005 г. В исследовании принимают участие 15 детей в возрасте от 3,5 до 7 лет, каждому из них внутривенно вводили клетки пуповинной крови в объеме не более 100 мл. Предтрансплантационная подготовка не проводилась. Результаты оценивали каждые 3 мес в течение 1-го года и 1 раз в 6 мес в течение 2-го года. Исследование было направлено на коррекцию функциональных нарушений иммунной системы, увеличение пула регуляторных Т-лимфоцитов, супрессию Т-эффекторов для предотвращения дальнейшей деструкции β-клеток.

Окончательные статистические данные исследователи пока не приводят, но отмечают улучшение оцениваемых параметров (HbA1c, С-пептид, результаты теста со смешанной пищей, суточная потребность в инсулине, а также количество лимфоцитов $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD25^+$).

Подчеркнута также безопасность введения аутологичной пуповинной крови.

Альтернативная восстановлению массы β-клеток у пациентов с СД стратегия состоит в индукции регенерации их из эндогенных источников. Доказано, что масса β-клеток динамична и способна адаптивно изменяться в соответствии с различными потребностями организма в инсулине. У людей масса β-клеток увеличивается примерно на 50% при ожирении; секреция инсулина и масса β-клеток возрастают также у беременных женщин. Аналогичным образом масса β-клеток увеличивается примерно в 2,5 раза к концу беременности у грызунов и быстро снижается в послеродовом периоде. Это происходит вследствие ускорения апоптоза и замедления митоза β-клеток в послеродовый период [8].

Продолжаются дебаты о механизмах поддержания массы β-клеток и численности их популяции у взрослых [2, 19]. Обсуждаются два возможных основных пути. С одной стороны, убедительно доказана возможность митотического деления предсуществующих β-клеток в ПЖЖ взрослых мышей, крыс и людей, доказано также образование у постнатальных мышей новых β-клеток исключительно путем митотического деления существующих. С другой стороны, тесную связь между экзокринными протоками и β-клетками считают доказательством того, что β-клетки могут возникать также из стволовых клеток эпителия протоков ПЖЖ. Однако надежный маркер существования предшественников β-клеток отсутствует, и в качестве суррогатного маркера часто используют процентное содержание образующих инсулин клеток протока. Обнаружено значительное увеличение числа таких клеток у грызунов после частичной резекции ПЖЖ, а также после длительной гипергликемии или лечения глюкагоноподобным пептидом-1 (GLP1). Обнаружена совместная локализация β-клеток и экзокринных протоков в эмбриональной ткани человека и в препаратах ПЖЖ взрослых людей с СД и без такового. Несмотря на очевидную связь между протоковым эпителием и β-клетками, остается вероятность того, что этот феномен связан только с эмбриональным развитием ПЖЖ и что наблюдаемое увеличение числа инсулинпозитивных клеток в экзокринных протоках или вблизи них связано больше с увеличением массы β-клеток (без причинной связи с эпителием протока).

В то время как скорость образования новых β-клеток из экзокринных протоков и само их присутствие должны быть еще доказаны, сомнений в том, что деление β-клеток продолжается в течение всей жизни, нет. Однако частота репликации β-клеток в ПЖЖ взрослых людей очень низкая, что затрудняет ее определение. Низкая при нормальных условиях скорость деления β-клеток в случае значительной потребности в инсулине возрастает. У грызунов скорость деления β-клеток увеличивается в 5–10 раз после частичной резекции ПЖЖ, во время беременности, при хронической инфузии глюкозы и после лечения аналогами GLP-1. Это свидетельствует о значительной пластичности эндокринной части ПЖЖ у грызунов (в обычных условиях у взрослых крыс в сутки делится только 0,07% β-клеток).

У людей способность к репликации β-клеток значительно ниже, чем у грызунов, и в ПЖЖ взрослого человека можно обнаружить очень мало делящихся β-клеток (1 клетка примерно в 50 островках из примерно 100 β-клеток на каждом поперечном срезе). Однако эта способность увеличивается больше чем в 10 раз при наличии соседних с ПЖЖ опухолей, образующих гастрин, а также в ПЖЖ пациентов с начальной стадией СД 1.

В ряде недавних исследований высказано предположение, что β-клетки человека сохраняют способность к регенерации даже на очень поздних этапах жизни [19].

Инсулинпродуцирующие клетки, полученные из стволовых клеток, и островковые клетки, полученные из ПЖЖ донора, имеют некоторое сходство при трансплантации в рамках терапии СД 1. При этом появляется надежда на адекватный контроль глюкозы крови, вследствие чего удается предотвратить развитие поздних осложнений СД, избежать которых при применяемой в настоящее время лекарственной терапии практически невозможно. Эти клетки могут быть трансплантированы аналогичным способом, т.е. введены в воротную вену, а возникающие при их использовании проблемы – одни и те же: иммунологические барьеры и рецидивы аутоиммунного процесса.

Литература

1. Дедов И.И., Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. Современные аспекты трансплантации островков поджелудочной железы при сахарном диабете // Сахарный диабет. – 2004; № 2; 34–42.
2. Bonner-Weir S., Baxter L., Schuppin G. et al. A second pathway for regeneration of adult exocrine and endocrine pancreas. A possible recapitulation of embryonic development // Diabetes. – 1993; 42: 1715–1720.
3. Bouwens L., Pipeleers D. Extra-insular beta-cells associated with ductules are frequent in adult human pancreas // Diabetologia. – 1998; 41: 629–633.
4. Haller M.J., Viener H.L., Wasserfall C. et al. Autologous umbilical cord blood infusion for type 1 diabetes // Exp. Hematol. – 2008; 36: 710–715.
5. Hellerstrom C., Swenne I. Functional maturation and proliferation of fetal pancreatic beta-cells // Diabetes. – 1991; 40 (Suppl 2): 89–93.
6. Hess D., Li L., Martin M. et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration // Nat Biotechnol. – 2003; 21: 763–770.
7. Ianus A., Holz G., Theise N. et al. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion // J. Clin Invest. – 2003; 111: 843–850.
8. Kjos S., BuchananT. Gestational diabetes: risk or myth? // J. Clin Endocrinol. Metab. – 1999; 84: 1854–1857.
9. Lee D., Grossman E., Chang A. Cellular therapies for type 1 diabetes // Horm. Metab. Res. – 2008; 40: 147–154.
10. Lü P., Liu F., Yan L. et al. Stem cell therapy for type 1 diabetes // Diabetes Res Clin Pract. – 2007; 78; 1–7.
11. Meier J., Bhushan A., Butler P. The potential for stem cell therapy in diabetes // Pediatr Res. – 2006; 59: 65R–73R.
12. Moriscot C., de Fraipont F., Richard M. et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells can express insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas developmental pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation in vitro // Stem Cells. – 2005. 23: 594–603.
13. Noguchi H. Stem cells for the treatment of diabetes // Endocr. J. – 2007; 54: 7–16.
14. Ricordi C., Tzakis A., Caroll P. et al. Human islet isolation and allotransplantation in 22 consecutive cases // Transplantation. – 1992; 53: 407–414.
15. Shapiro A., Ricordi C., Hering B. et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation // N. Eng. J. Med. – 2006; 355: 1318–1330.
16. Soria B., Bedoya F., Tejedo J. et al. Cell therapy for diabetes mellitus: an opportunity for stem cells? // Cells Tissues Organs. – 2008; 188: 70–77.
17. Soria B., Roche E., Berná G. et al. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice // Diabetes. – 2000; 49: 157–162.
18. Tang D., Cao L., Burkhardt B. et al. In vivo and in vitro characterization of insulin-producing cells obtained from murine bone marrow // Diabetes. – 2004; 53: 1721–1732.
19. Trucco M. Regeneration of the pancreatic beta-cell // J. Clin. Invest. –2005; 115: 5–12.
20. Yang L., Li S., Hatch H. et al. In vitro trans-differentiation of adult hepatic stem cells into pancreatic endocrine hormone-producing cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002; 99: 8078–8083.

PERSPECTIVES OF CELL TECHNOLOGIES IN THE TREATMENT OF DIABETES MELLITUS

T. Nikonova, *Candidate of Medical Sciences;* ***E. Pekareva, Yu. Filippov***
Endocrinology Research Center, Moscow

The paper considers the possibilities of cell technologies in the treatment of type 1 diabetes mellitus. Stem cells provide a theoretically unlimited source of insulin-producing cells for transplantation in experimental models. Nevertheless immunological barriers and relapses of autoimmune process remain the major problems in its usage.

Key words: diabetes mellitus, cell technologies, transplantation.

ДИАГНОСТИКА НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ НЕИНВАЗИВНОГО СКРИНИНГА НАСЕЛЕНИЯ

Ч. Павлов, доктор медицинских наук, профессор, **Д. Глушенков, А. Воробьёв, Е. Никонов,** доктор медицинских наук, **В. Ивашкин,** академик РАМН, профессор,
I МГМУ им. И.М. Сеченова
E-mail: chpavlov@mail.ru

Приведены результаты первого скринингового исследования заболеваемости неалкогольной жировой болезнью печени жителей Москвы с использованием метода эластометрии. Рассматриваются вопросы неинвазивной диагностики, а также лечения данной патологии.

Ключевые слова: скрининг неалкогольной жировой болезни печени, неалкогольный стеатогепатит, биопсия при жировой болезни печени, неинвазивная диагностика, лечение неалкогольного стеатогепатита, эссенциальные фосфолипиды.

В последние годы особый интерес гепатологов, эндокринологов и кардиологов всего мира привлекает неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), включающая хронические клинико-морфологические изменения паренхимы печени, проявляющиеся стеатозом (жировая дистрофия), неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) и циррозом печени (ЦП).

НАЖБП – одна из наиболее важных медико-социальных проблем, поскольку она приводит к ухудшению качества жизни, к инвалидизации и росту смертности этой категории пациентов. Так, если стеатоз печени в большинстве случаев протекает доброкачественно и бессимптомно, то НАСГ характеризуется повреждением гепатоцитов, воспалением и развитием соединительной ткани, что может привести к формированию ЦП, печеночно-клеточной недостаточности и раку печени.

В настоящее время НАЖБП рассматривают как печеночный компонент метаболического синдрома (МС); она ассоциирована с абдоминально-висцеральным ожирением, периферической инсулинорезистентностью, артериальной гипертензией и дислипидемией.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Истинная распространенность НАЖБП неизвестна. В Северной Америке, Европе и Японии частота НАЖБП достигает 10–40%, при этом НАСГ верифицируют в 1,2–4,8% случаев. В США на долю НАЖБП приходится 69% хронических диффузных заболеваний печени [1].

Частота выявления НАСГ среди пациентов с длительно повышенным уровнем сывороточных аминотрансфераз неуточненного генеза составляет 20–32%.