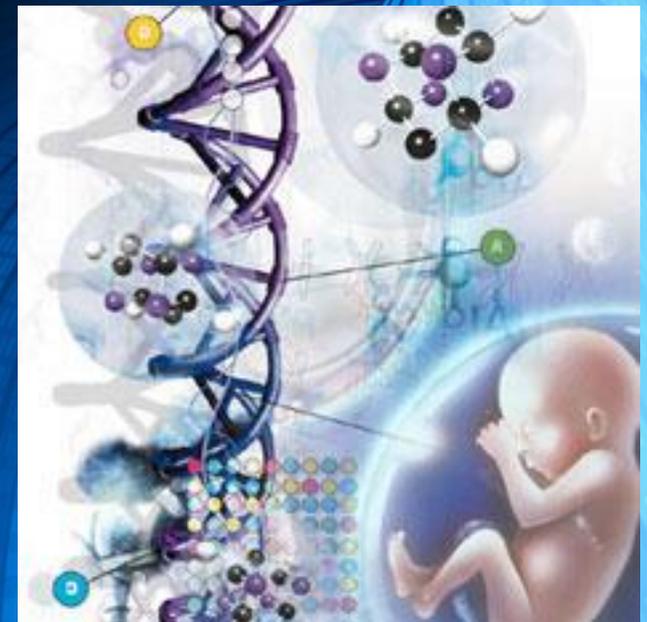


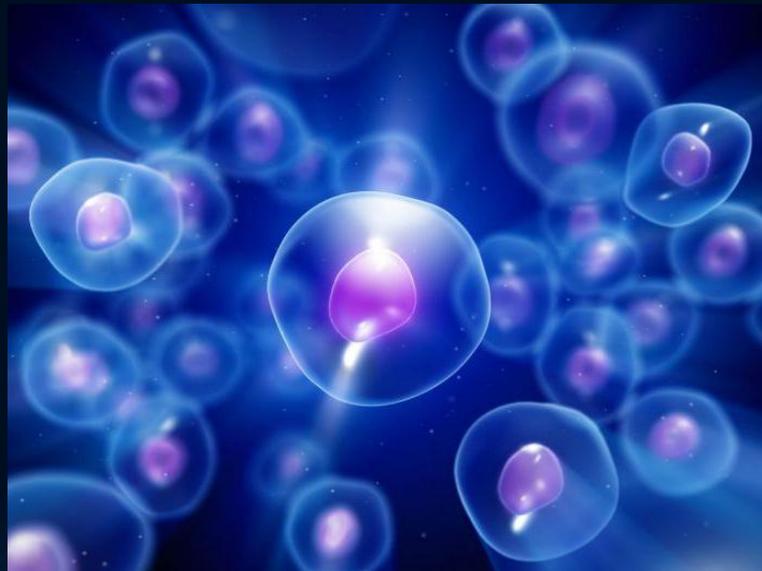
Современные подходы к использованию клеточных технологий в хирургии

ПОДГОТОВИЛИ:
КОЗЛОВА КРИСТИНА
КИМ КАРИНА



Клѣточная трансплантология, клѣточная терапия (*Cell therapy*)

— комплекс терапевтических подходов, основанных на трансплантации клеток в больной организм с целью его лечения.



Клеточная трансплантология



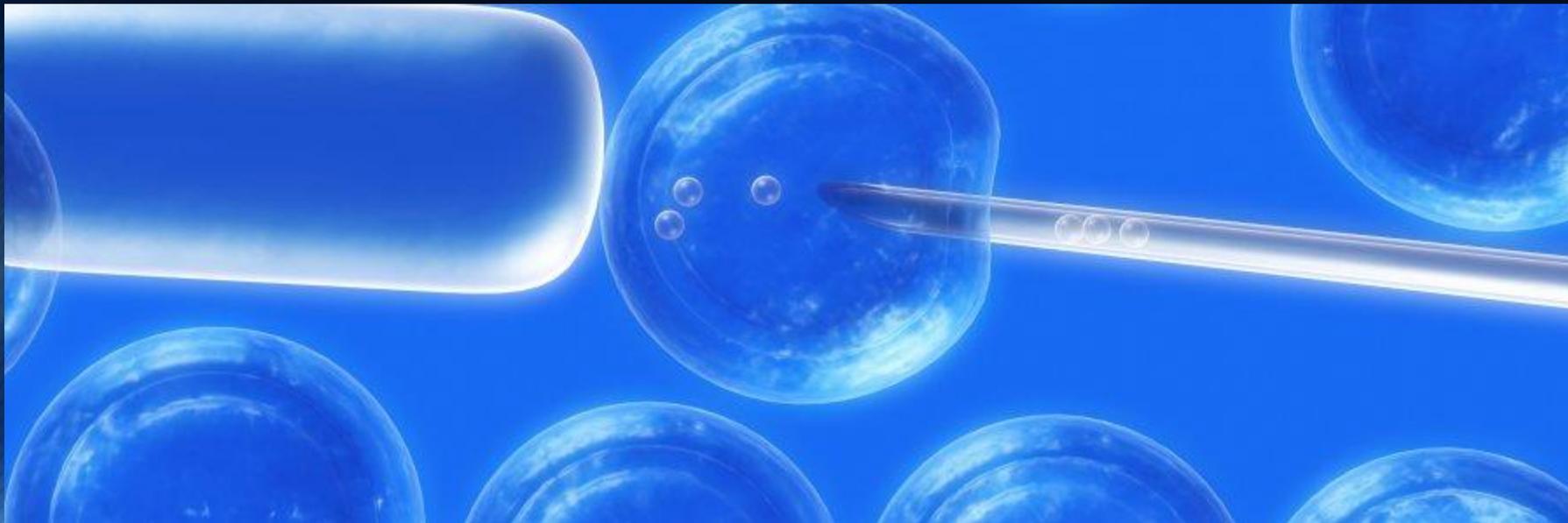
- Алогенная



- Аутогенная

Этапы

- выделение клеток из ткани
- манипуляции вне организма в искусственной среде (очистка, фракционирование, культивирование, ген-модификация и другие)
- введение в организм реципиента (при аллогенной и ксеногенной клеточной трансплантации) или самого донора (при аутогенной)



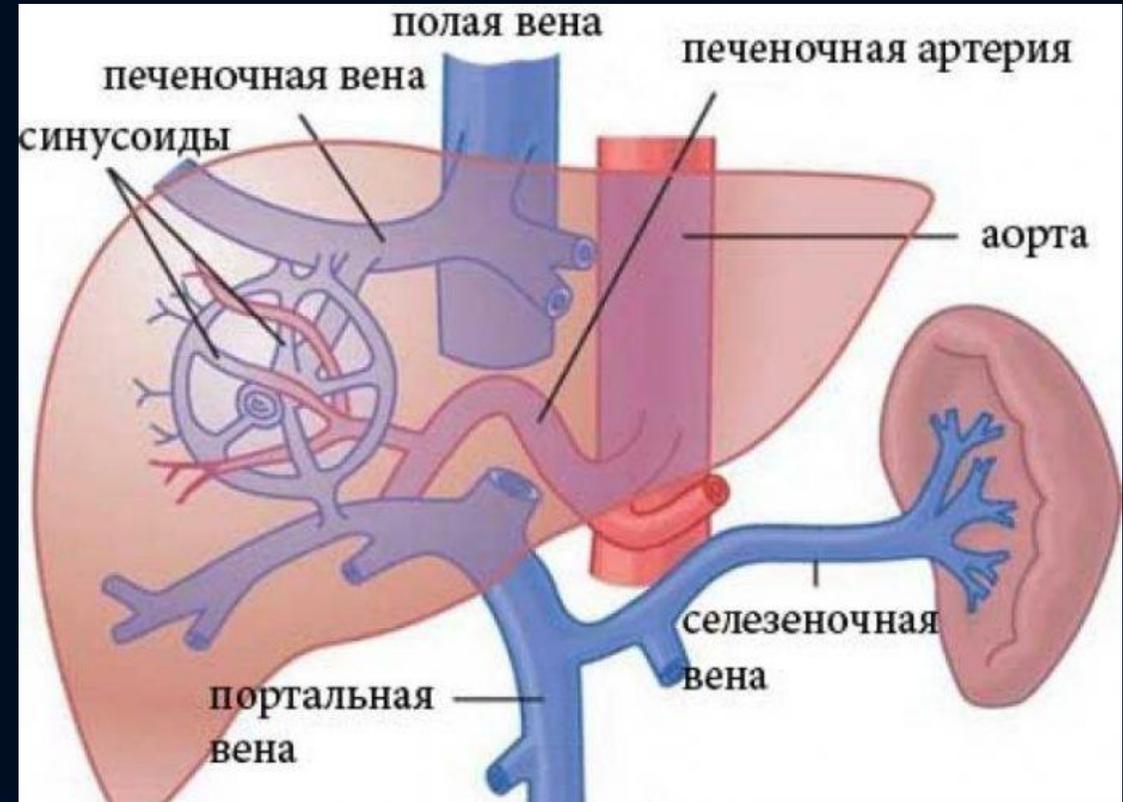
Подходы к лечению сахарного диабета

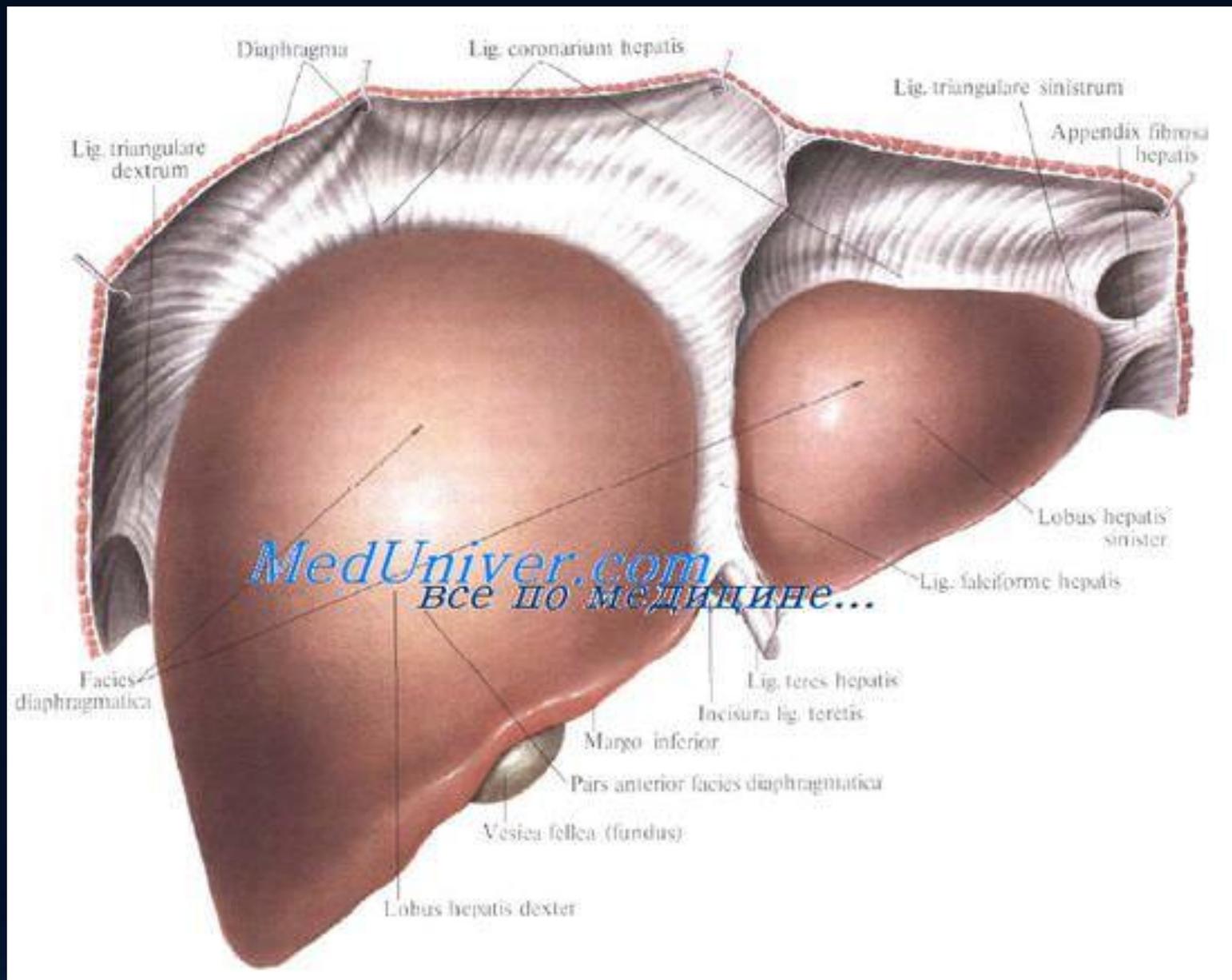
- Используются
- бета-клетки, взятые посмертно,
- эмбриональные клетки,
- Мезенхимальные и гемопоэтические стволовые клетки.
- Красный костный мозг
- Пуповинная кровь



Места и способы введения

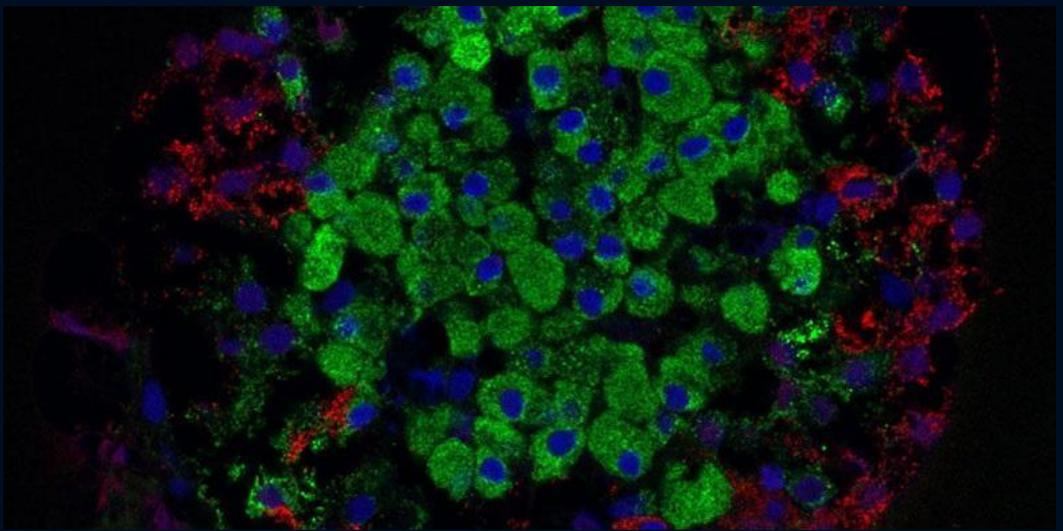
- Через разбужированную воротную вену. Недостатки: отсутствие визуального контроля, вероятность перфорации вены, ограничено количество трансплантированных клеточных культур (не более 5 мл суспензии клеток в питательной среде), тромбоз вены
- В серповидную связку: возможно введение большого количества материала (более 10 мл), возможность взятия трансплантата на морфологический анализ



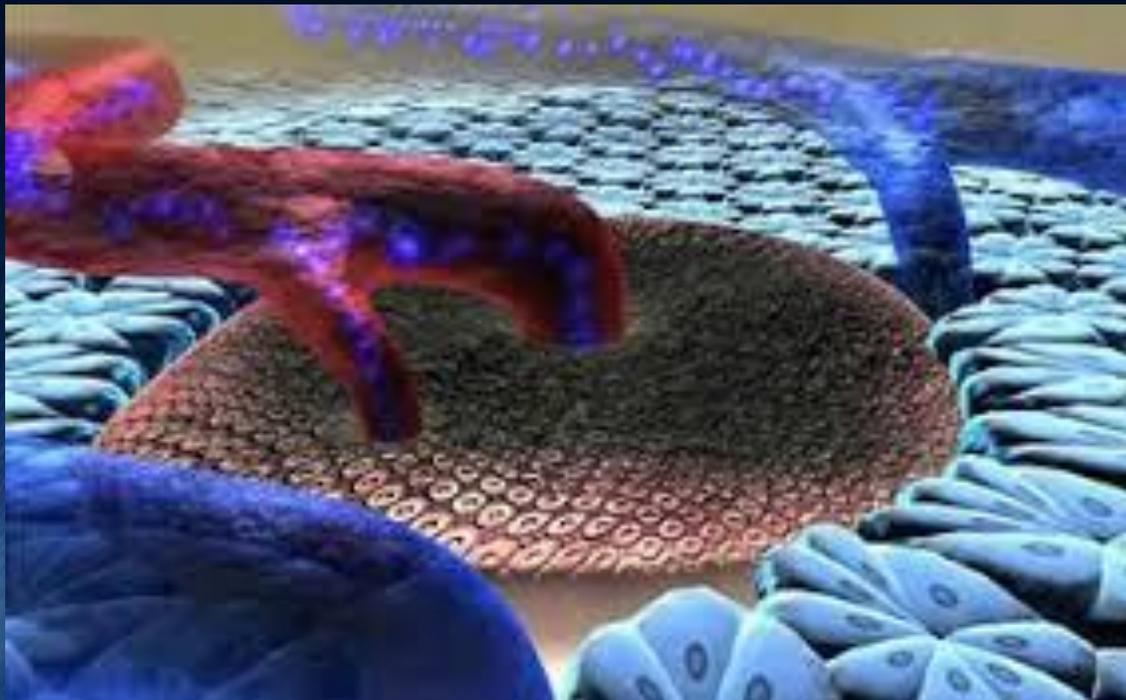


Пересадка бетта-клеток при лечении сахарного диабета

- В 2016 году Bernhard J произвел многоцентровое исследование (фаза 3) в котором приняло участие 48 пациентов со стабильным нарушением распознавания гликемии, впадающих в тяжелые гликемические состояния несмотря на качественное медицинское обслуживание.
- Использовался трупный материал
- Каждый из участников исследования перенес, по крайней мере, одну инъекцию островков в портальную вену – крупный кровеносный сосуд, соединяющий кишечник к печень. Для предотвращения отторжения трансплантированных клеток иммунной системой эти пациенты на протяжении всей жизни после трансплантации должны принимать иммуносупрессивные препараты.



- Через год после трансплантации у 88% участников больше не регистрировалось тяжелых гипогликемических состояний, при этом уровень регуляции уровня глюкозы в крови поднялся до практически нормальных значений, что сопровождалось восстановлением распознавания гипогликемии. Через 2 года после трансплантации 71% участников продолжали соответствовать критериям успеха трансплантации.
- Пациентам, нуждающимся в инсулинотерапии, через 75 дней после первого введения островков, проводили вторую инъекцию. В результате 25 пациентов перенесли 2, а 1 пациент – 3 трансплантации инсулинпродуцирующих островков. Спустя год 52% участников не нуждались в инъекциях инсулина.

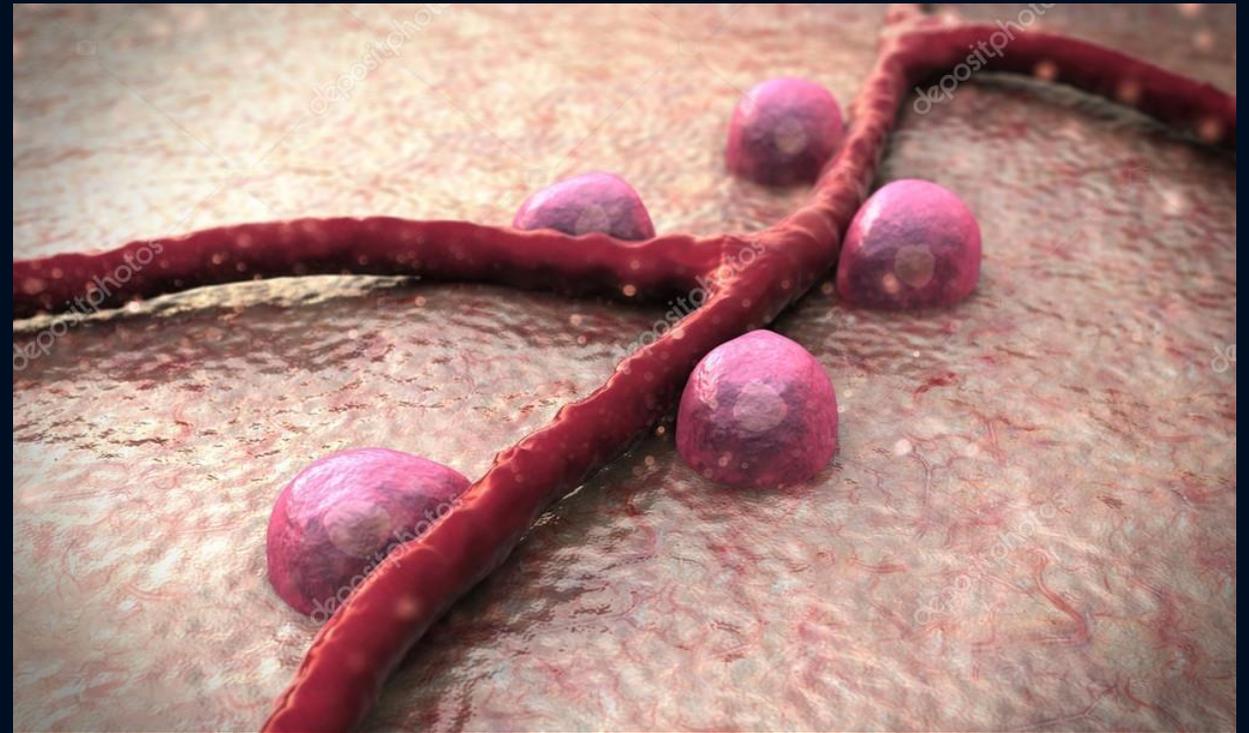


- Заведующий 2-й кафедрой хирургических болезней Белорусского государственного медицинского университета профессор Станислав Третьяк и доцент кафедры Александр Прохоров произвели пересадку клеток в капсулах в аорту и бедренную артерию, что позволило уменьшить количество вводимого инсулина

Пересадка стволовых клеток

- В Новосибирском научно-исследовательском институте клинической иммунологии СО РАМН был разработан и внедрён уникальный способ трансплантации стволовых клеток при сахарном диабете второго типа.
- было пролечено 34 пациента
- Одной группе пациентов вводились собственные стволовые клетки, другой – стволовые клетки плода.
- После трансплантации стволовых клеток уже на вторые сутки улучшалось качество жизни пациентов. Уровень сахара в крови снижался на 20%, что позволило снизить или отменить дозу инсулина. Улучшалась чувствительность в нижних конечностях, исчезало чувство онемения и боли в мышцах, улучшилась переносимость физических нагрузок.
- В процессе комплексного лечения на 10-15 сутки у больных восстанавливался иммунный статус.

- Учёным из Бостонской детской больницы (Boston Children's Hospital), США, удалось вылечить диабет 1 типа у мышей с помощью инъекции стволовых клеток, продуцировавших большие объёмы белка PD-L1, дефицитного у людей и животных с диабетом 1 типа.
- Исследователи также показали, что PD-L1 обладает мощным противовоспалительным эффектом при диабете 1 типа.
- PD-L1 играет важную роль в отрицательной регуляции иммунной системы посредством предотвращения активации Т-лимфоцитов, что снижает аутоиммунность и повышает ауто толерантность
- Также исследователи обнаружили, что того же эффекта можно достичь, обрабатывая стволовые клетки «коктейлем» из трёх малых молекул: интерферона бета, интерферона гамма и полирибоинозиновой-полирибоцитидиловой кислоты (PIC)

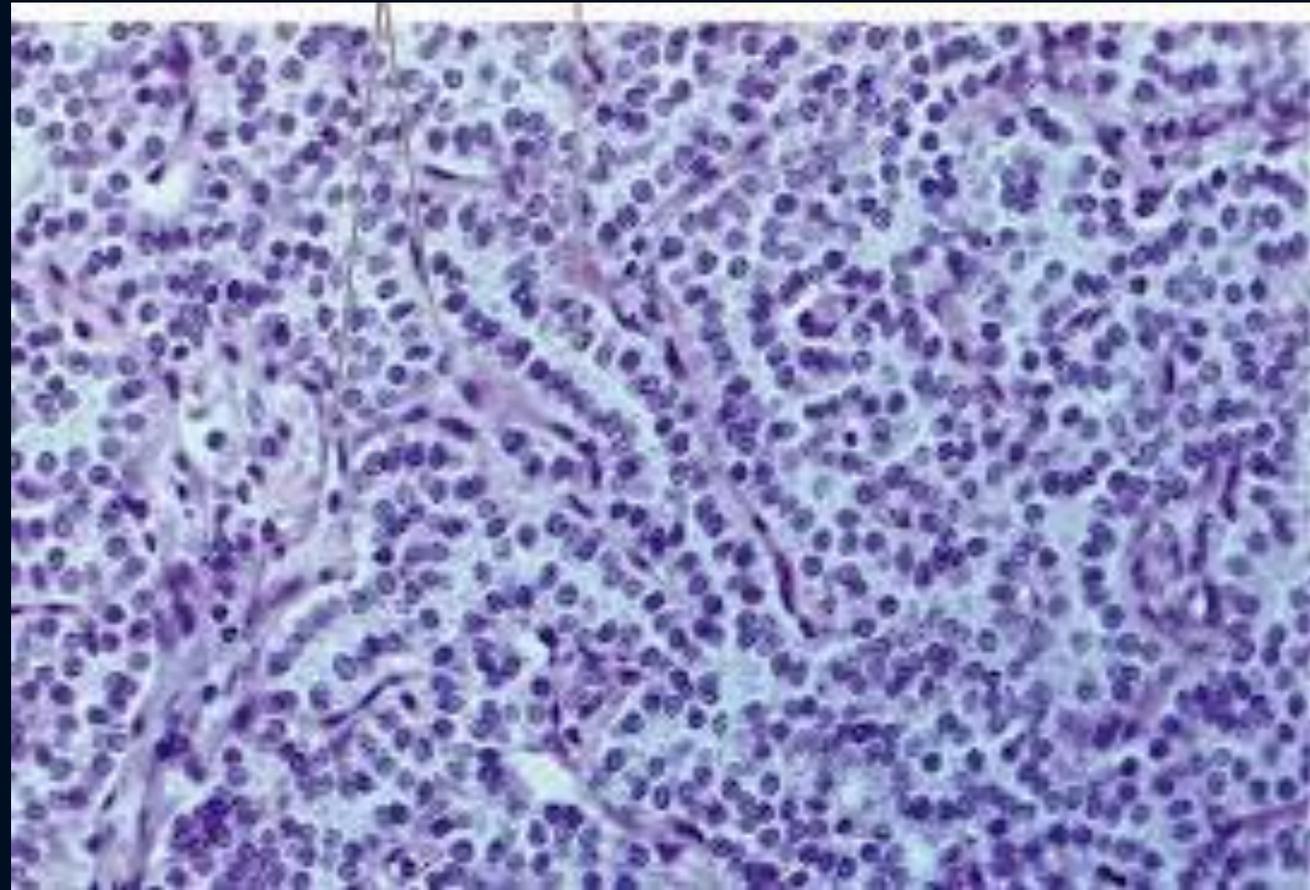


Пересадка клеток паращитовидных желез

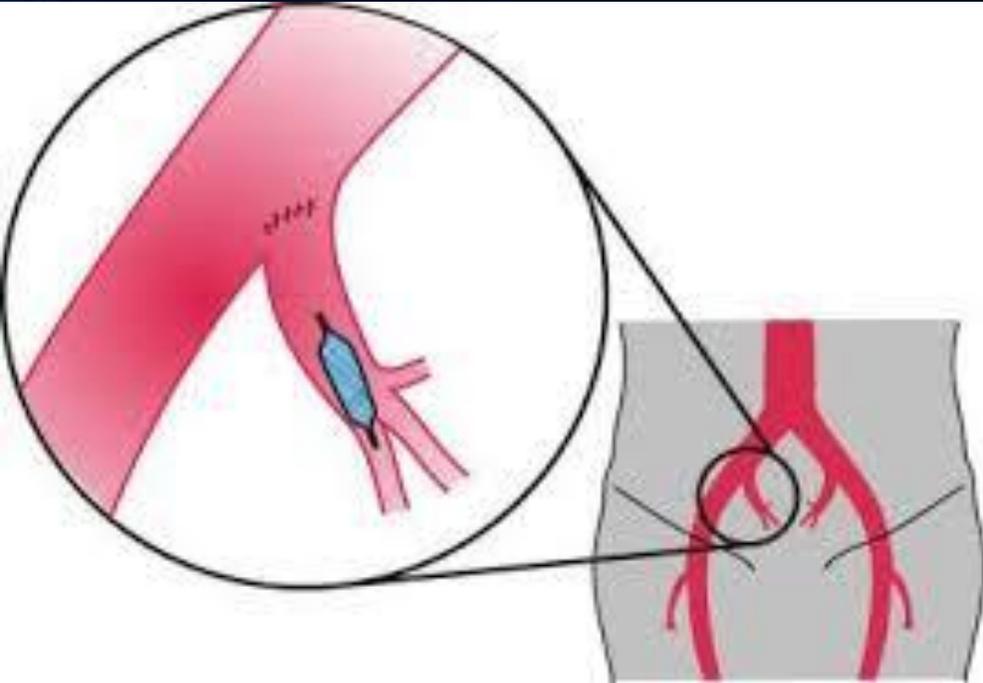


- T. Tolloczko et al. было выполнено 28 аллотрансплантаций культуры клеток паращитовидной железы под фасцию недоминирующего предплечья иммуносупрессированным пациентам с послеоперационным гипопаратиреозом. Ткань паращитовидной железы для трансплантации получали у доноров, которым производилось удаление паращитовидных желез по поводу гиперпаратиреоза. Положительный клинический эффект наблюдался в течение 18 мес, после чего проведенный иммунологический мониторинг выявил повышение в крови реципиентов реактивности неспецифических донорспецифических Т-лимфоцитов, который коррелировал с постепенным снижением функции аллотрансплантата.

- S. Wells et al. производили аллотрансплантацию микроинкапсулированной в гидрогель культуры клеток паращитовидной железы в мышцы предплечья больным с послеоперационным гипопаратиреозом и почечной остеодистрофией, которые перед трансплантацией получали иммуносупрессивную терапию. Положительный клинический эффект имел место в течение 30 мес, после чего наблюдалось отторжение аллотрансплантата. Подобные клинические наблюдения описаны также В. Duarte et al. , при этом функционирование аллотрансплантата паращитовидной железы отмечено на протяжении 10 мес без использования заместительной терапии.

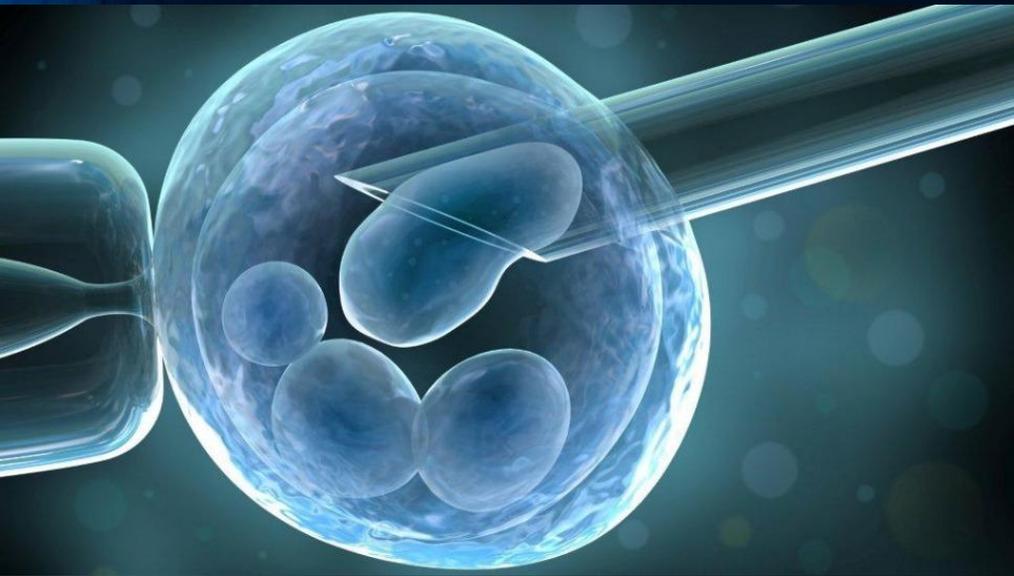


- Новый метод трансплантации клеток паращитовидной железы применили белорусские ученый-хирург Владимир Хрыщанович.



- Производится забор паращитовидной железы у человека с повышенной функцией этого органа. (Оперативное вмешательство заключается в пересадке паратиреоцитов, помещенных в микропористый контейнер–капсулу, в просвет глубокой бедренной артерии (Гетеротопическая внутрисосудистая аллотрансплантация), что позволяет исключить или существенно снизить риск отторжения и гибели клеток без применения иммуносупрессивных препаратов
- Год — именно столько могут прожить пересаженные клетки. В среднем длительность функционального эффекта шесть-девять месяцев. За это время дифференцированные эпителиальные клетки делятся до трех-пяти раз и завершают свой жизненный цикл.

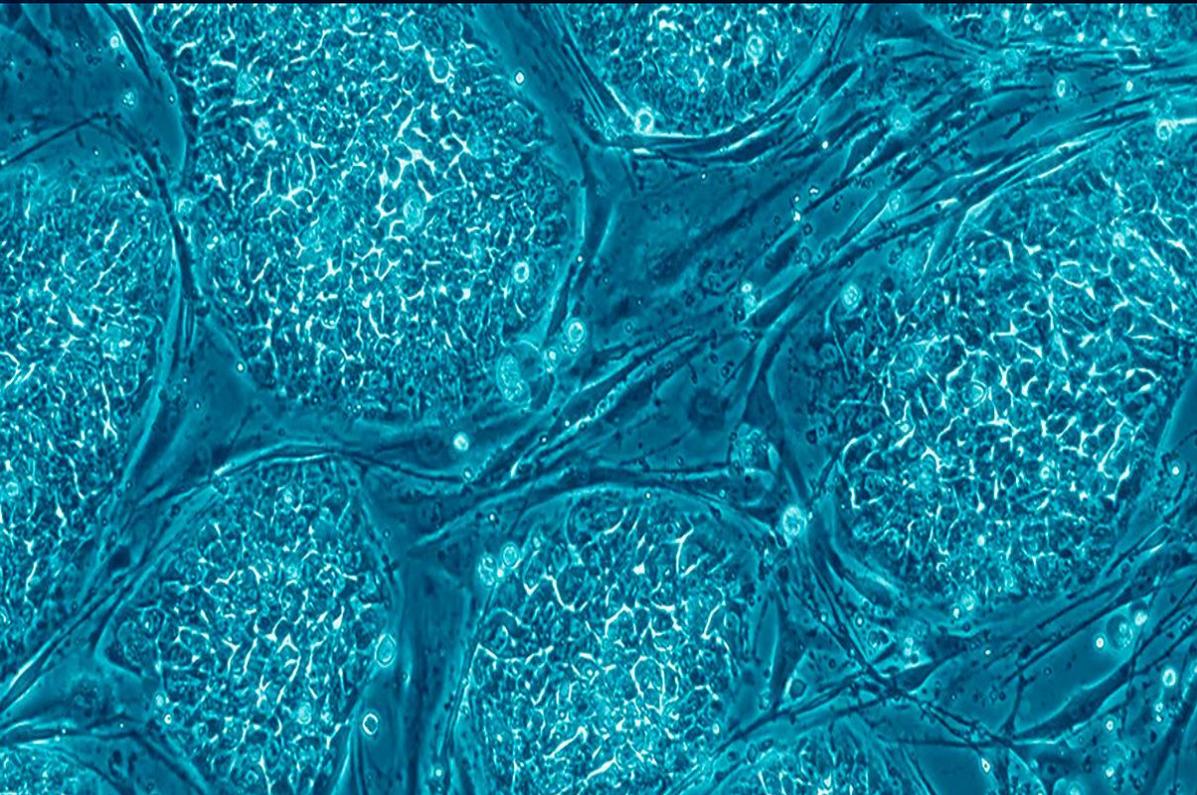
Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток



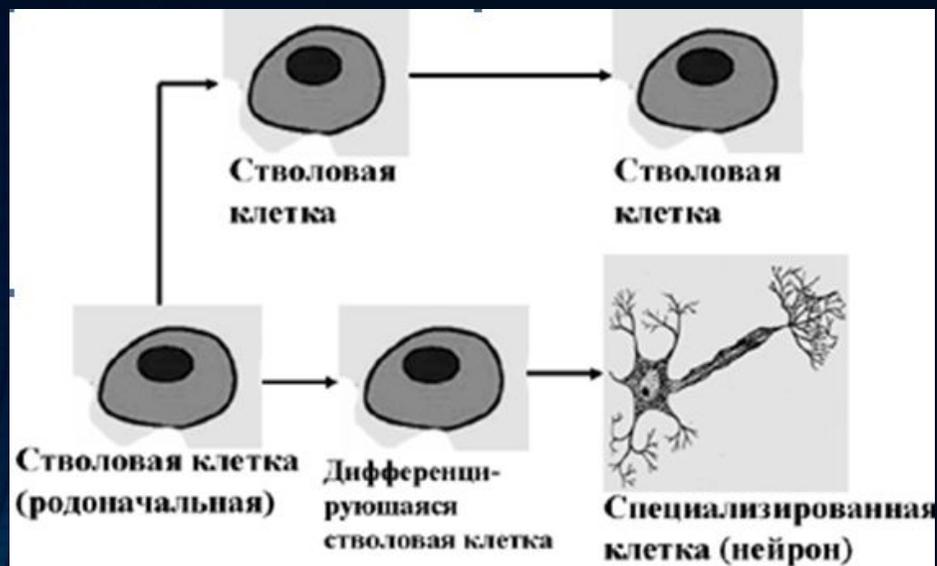
- Остановимся кратко на основных свойствах стволовых клеток.
- Стволовые клетки неспециализированы, то есть не могут выполнять функции клеток соответствующих тканей без дифференцировки в эти клетки.
- Стволовые клетки способны к пролиферации, то есть к длительному (возможно, больше продолжительности жизни человека) размножению и продукции большого количества себе подобных клеток. С этой точки зрения стволовые клетки, хранящиеся и размножающиеся в культуре ткани можно условно называть «бессмертными».

- Стволовые клетки способны к дифференцировке, то есть к процессу специализации клеток. Процесс дифференцировки запускается с прикрепления стволовых клеток друг к другу или к подложке (если речь идет о выращивании стволовых клеток в культуре ткани), так как рецепторы адгезии и цитоскелет клеток играет большую роль в передаче сигнала к началу дифференцировки из внеклеточной среды в клеточное ядро. В настоящее время изучено ограниченное число факторов, обеспечивающих направленную селективную дифференцировку эмбриональных стволовых клеток. Так, например, ретиновая кислота индуцирует нейрогенез, β -TGF (трансформирующий фактор роста) стимулирует образование мышечных клеток, IL-6 (интерлейкин-6) и IL-3 (интерлейкин-3) – образование элементов крови, BMP-2 (морфогенетический протеин кости – Bone Morphogenetic Protein) – образование эпителиальных клеток. Ведутся эксперименты по применению комбинаций ростовых факторов для направленной селективной дифференцировки стволовых клеток.





- Предполагается, что стволовые клетки взрослого организма из мест своего постоянного нахождения (костный мозг, нервная система, печень, жировая ткань, мышцы) могут выходить в периферическую кровь и, циркулируя по организму, участвовать в регенерации соответствующих тканей. Это предположение пока не подкреплено достаточным количеством фактов и, скорее всего, справедливо только по отношению к гемопоэтическим и мезенхимальным стволовым клеткам костного мозга. Сомнительно, в частности, чтобы стволовые клетки могли бы, например, покидать центральную нервную систему и выходить в кровоток, минуя гематоэнцефалический барьер.



- Одной из важных особенностей эмбриональных стволовых клеток является их способность к так называемому «асимметричному делению». В случае такого типа клеточного деления одна стволовая клетка, делясь, превращается в две, а из них одна продолжает делиться и производить аналогичные стволовые клетки, а другая вступает на путь дифференцировки. Если бы дело обстояло иначе, организм достаточно быстро израсходовал бы весь запас стволовых клеток, и обновление тканей стало бы невозможным (в данном случае речь идет о стволовых клетках взрослого организма).

- *Трансплантация стволовых клеток с целью лечения лейкозов*



- В ходе осуществления этого лечебного мероприятия проводятся следующие операции:- выделение стволовых клеток из костного мозга больного лейкозом; - размножение стволовых клеток в культуре ткани; - консервация стволовых клеток в жидком азоте; - уничтожение опухолевых (лейкозных) клеток костного мозга облучением или цитостатиками - трансплантация сохраненных стволовых клеток в костный мозг пациента.



- Положительный исход трансплантации зависит от того, насколько успешно будут выделены именно стволовые клетки, а не бластомные клетки костного мозга. С целью очищения пунктата костного мозга от бластомных клеток применяются метод индукции апоптоза в бластомных клетках, киллинг этих клеток моноклональными антителами и некоторые другие методы.

- Следует иметь в виду, что таким же способом пробуют бороться и со злокачественными опухолями других локализаций путем введения в пораженный опухолью орган, подвергшийся облучению и (или) лечению цитостатиками, культуры стволовых клеток больного, полученных из его костного мозга.

Трансплантация препаратов стволовых клеток при массивных ожогах.



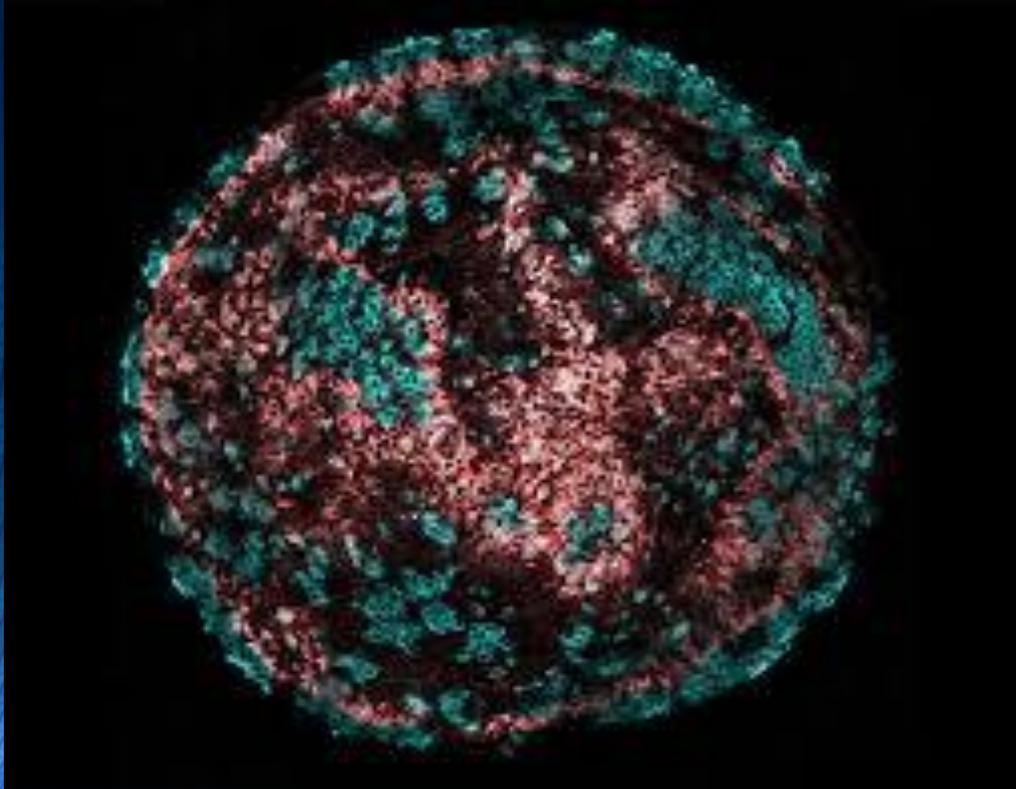
- Суспензия или пласты кожи человека, состоящие из фибробластов, получают в лабораторных условиях из абортивного материала (фетальные фибробласты) или из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга пациента. Помимо закрытия ожоговых кожных дефектов, данная методика может применяться при лечении трофических язв, в косметологии, а также для тестирования медицинских и косметических препаратов при проведении испытаний внешних воздействий на кожу. Следует иметь в виду, что в России (Институт хирургии им. А.В.Вишневского РАМН) лечение ожогов при помощи культивированных фибробластных трансплантатов ведется с 1989 года.

Трансплантация препаратов стволовых клеток при ожогах и травмах роговицы

- В последнее время в научной литературе появились сообщения о возможности восстановления поврежденной роговицы глаза ожогом или травмой за счет применения стволовых клеток пациента, полученных из слизистой ротовой полости. Отдаленные результаты таких операции пока не ясны.
- В последние годы появился альтернативный метод трансплантации стволовых клеток эпителия роговицы, который заключается в извлечении маленького образца здоровой лимбы у самого пациента или у донора для выращивания ее в лабораторных условиях и последующей пересадки.

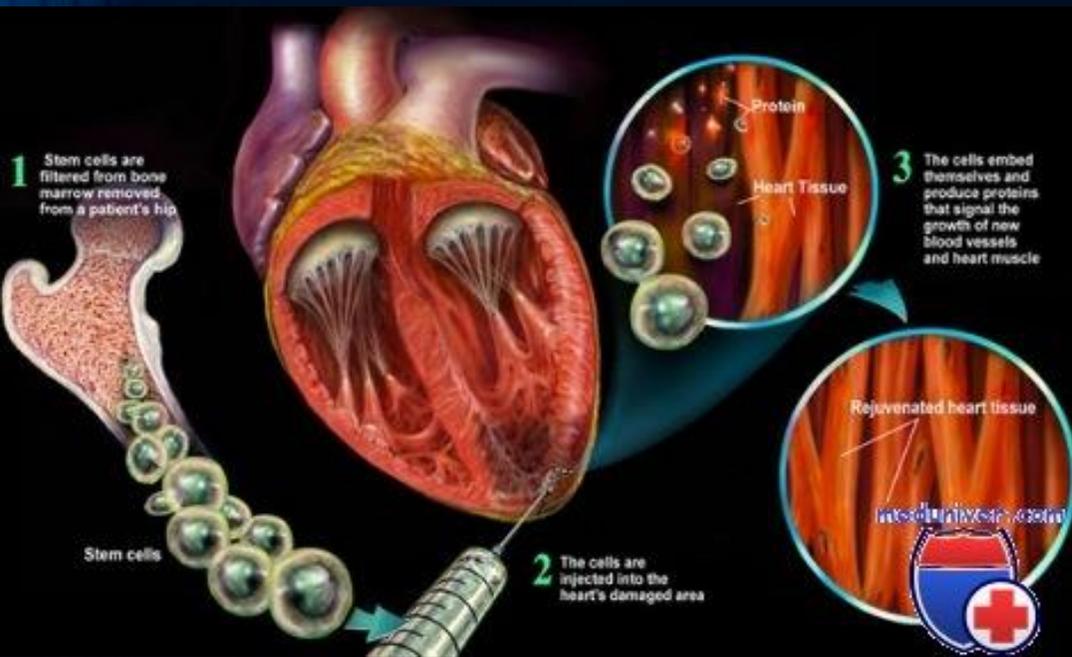


Трансплантация клеток фетальной печени при циррозах печени



- Имеются данные экспериментальных исследований, посвященных возможности лечения цирроза печени при помощи трансплантации в печень мезенхимальных стволовых клеток костного мозга. Результаты экспериментов противоречивы: с одной стороны, якобы, зарегистрированы случаи трансформации стволовых клеток в гепатоциты, а с другой – трансплантация стволовых клеток приводила к развитию аутоиммунного гепатита или к их трансформации в фибробласты и прогрессированию цирроза.

Трансплантация стволовых клеток (эмбриональных, фетальных, собственных стволовых клеток пациента) при инфаркте миокарда



Результаты применения стволовых клеток или их производных для лечения последствий инфаркта миокарда и хронической сердечной недостаточности, полученные в результате экспериментальных исследований и клинических испытаний, в последнее время неоднократно публиковались в научной печати. С целью регенерации кардиомиоцитов, а также для стимуляции ангиогенеза в миокарде больных применялись эмбриональные стволовые клетки и мезенхимальные клетки костного мозга пациента. Результаты экспериментов и клинических испытаний весьма противоречивы.

Результаты этого рандомизированного контролируемого исследования показали, что у больных, перенесших инфаркт миокарда, внутрикоронарная трансплантация аутологичных ККМ, выполненная после успешного чрескожного коронарного вмешательства, безопасна и сопровождается усилением (улучшением) функции левого желудочка

Трансплантация стволовых клеток при заболеваниях головного мозга (инсульты, травмы, болезнь Альцгеймера)



- В экспериментах и, в редких случаях, при клинических испытаниях, предпринимались попытки трансплантации стволовых клеток или их производных в головной мозг для лечения последствий инсультов, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона. Результаты экспериментов и клинических испытаний крайне противоречивы и требуют проведения дальнейших исследований и клинических наблюдений.
- Отмечалось восстановление двигательных функций 30-37% (контрольная группа 13,6%), уменьшение количества образованных кист.
- В Беларуси производятся клинические испытания по доставке СК через обонятельный нерв в очаг поражения в ЦНС.

Трансплантация остеобластов, полученных из стволовых клеток, в зону перелома кости



- В последние годы разработано несколько экспериментальных методик по применению стромальных стволовых клеток костного мозга для лечения переломов костей с замедленной консолидацией. Стволовые клетки применяют в комбинациях с органическими и минеральными матрицами, а также с использованием факторов роста в качестве стимуляторов остеорепарации.

Трансплантация стволовых клеток с целью «ревитализации» (омоложения) организма

- Попытки применить стволовые клетки (эмбриональные и фетальные) для оздоровления организма, а также в гериатрии предпринимаются уже достаточно давно в большом количестве клиник во многих странах мира. Однако, кроме рекламы этих клиник, обещающих «сказочные» результаты омоложения и оздоровления организма, серьезных научных разработок в этой области практически не имеется. В некоторых клиниках, например, в Швейцарии (клиника ревитализации Лемана) в целях омоложения организма пациентов применяют эмбриональные клетки животных (овец). Стоимость одной операции по ревитализации (трехдневный курс, 4 инъекции стволовых клеток) обходится пациенту в 8 – 10 тыс. долларов.



Спасибо за внимание!