

Как мы уже сообщали (см. «МГ» № 42 от 07.06.2013), в Москве прошла XXVIII (91-я) сессия РАМН. Её темой стали клеточные технологии и регенеративная медицина. Клеточные технологии пронизывают все области медицины, отметил, открывая сессию, президент РАМН академик РАН и РАМН Иван Дедов. Это бурно развивающееся направление в биомедицине, способное решать самые сложные задачи. Развитие регенеративной медицины создаёт новые условия для влияния на организм на самых ранних стадиях формирования той или иной патологии. Регенеративные технологии открывают широкие перспективы внедрения методов клеточной трансплантологии в клиническую практику и смогут обеспечить победу над ранее неизлечимыми заболеваниями человека уже в обозримом будущем. Применение клеточных технологий может стать реальной альтернативой пересадке органов.

### Новая парадигма медицины

Исследования в области клеточных технологий активно проводятся в ведущих научных и медицинских учреждениях Москвы, С.-Петербурга, Новосибирска и других городов. Необходимо открыть несколько специализированных центров по развитию клеточных технологий, отметил академик И.Дедов. Это упростило бы проведение клинических испытаний клеточных продуктов и внедрение их в практическую медицину.

Российская академия медицинских наук – флагман отечественного здравоохранения, который идёт и будет идти во главе процессов по формированию современной персонализированной медицины, подчеркнула в своём выступлении на сессии министр здравоохранения РФ Вероника Скворцова. В последний год Минздрав России очень тесно работает с президиумом РАМН, её членами, совместно разработав Стратегию развития медицинской науки на период до 2025 г., которая была утверждена Правительством РФ. Закончена работа по формированию концепции Федеральной целевой программы по развитию медицинской науки, в ближайшее время она будет внесена в правительство на рассмотрение. Она предусматривает долгосрочное адресное финансирование медицинской науки.

Выделено 14 основных направлений развития биомедицинской науки, которые оформлены в виде технологических платформ. Это площадки для консолидации сил по каждому из этих направлений. Одно из них – регенеративная медицина, которая должна создать новую парадигму в развитии медицины так же, как в своё время это произошло с вакцинацией, антибиотиками, генными технологиями. В последние годы это направление активно развивается в нашей стране, проводится довольно много исследований. В то же время серьёзных международных публикаций пока недостаточно, а большинство работ носят имитационный характер, повторяя интересные исследования ведущих клиник и научных центров США, Японии, Израиля, европейских стран, отметила министр.

Чтобы достижения наших учёных были более весомыми, необходим ряд условий. Одно из ключевых для успешного проведения исследований – необходимость моделировать процессы, происходящие при применении клеточных технологий, на животных и клеточных линиях. Для этого нужна основа для переноса их применения в практическое здравоохранение. Нужны и производственные площадки, на которых

следования в этой области и предоставит для этого все имеющиеся материальные и организационные ресурсы.

### Направления фундаментальных исследований

Академик РАМН Владимир Чехонин в своём докладе «Инновационные клеточные технологии» рассказал о трёх направлениях их применения в будущем. Во-первых, это суспензионные культуры кле-

цесс внедрения фундаментальных разработок в клиническую практику.

В докладе академика РАН и РАМН Всеволода Ткачука и профессора Елены Парфёновой «Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки (МСК) как регуляторы регенеративных и репаративных процессов» были отмечены основные пути репарации и регенерации тканей с помощью мезенхимальных стволовых клеток – восстановление целостности ткани (дифферен-

экстремально низкой массой тела, гипоксических энцефалопатиях различного генеза, респираторном дистресс-синдроме, бронхолегочной дисплазии.

Г.Сухих назвал также основные задачи создаваемого сейчас общества регенеративной медицины. Это проведение ежегодных национальных конгрессов по регенеративной медицине и в перспективе международных; создание интернет-портала по данной теме (от регистрации научных исследований до правовых вопросов).

### Нельзя экспериментировать на больном

Если первый день работы сессии РАМН был преимущественно посвящён фундаментальным аспектам клеточной и регенеративной медицины, то вопросы её практического применения рассматривались на второй день. Он открылся лекцией директора Института регенеративной медицины Уэйк Форест профессора Энтони Аталы (A.Atala, Северная Каролина, США) «Стволовые клетки в трансляционной медицине (опыт США)». В качестве отправной точки Атала выбрал монографию Алексиса Карреля и Чарльза Линдберга «Культура органов», изданную в 1938 г. Первый опыт клинического применения клеточной терапии датируется 1981 г., когда у больного с обширными ожогами *in vitro* вырастили популяцию клеток кожи, которые были затем реимплантированы. Новой кожи не появилось, но процесс заживления раны ускорился. К сожалению, за последние десятилетия успехи клеточной терапии оказались весьма скромными. Тремя основными препятствиями Атала называет неспособность выращивать нужные клеточные популяции *in vitro*, плохие биоматериалы и недостаточное кровоснабжение трансплантата. Ключом к их преодолению он считает изучение ростовых факторов. «За 60 дней из маленького кусочка ткани, взятого с помощью биопсии, мы можем вырастить достаточное количество клеток, чтобы покрыть ими футбольное поле», – утверждает Атала. Однако гепатоциты, панкреоциты и нейроны невозможно амплифицировать *in vitro*.

Поскольку Атала заведует урологическим отделением, вполне объясним выбор в качестве реконструируемых объектов уретры, мочевого пузыря, влагалища, полового члена. Стратегия исследований такова: сначала выращивается популяция человеческих клеток, затем ими засеивается полимерный каркас или матрикс (scaffolds), который имплантируется мышам или кроликам, и, в случае успеха, методика испытывается на людях.

Тут возникает масса вопросов. Например, что представляет собой имплантируемый биоматериал – регенерированную ткань или стент? Созданы биоматериалы, где клетки заполняют матрикс по мере его разложения. В конструировании трансплантируемых органов можно выделить четыре уровня сложности. Проще всего воспроизвести плоскую ткань (например, кожу). Сложнее – трубчатые структуры, такие как кровеносные сосуды. Ещё сложнее – полые органы неправильной формы, такие как мочевой пузырь. Самыми

### Итоги и прогнозы

# Клетка в законе

## На сессии Общего собрания РАМН обсуждались клеточные технологии и регенеративная медицина



можно было бы воспроизводить стандартизованные клеточные продукты. Необходимы инвестиции, в том числе частные. Они придут тогда, когда станет привлекательной медицинская наука, когда у инвесторов появится вера в то, что клеточные технологии найдут своего потребителя.

Как сообщила В.Скворцова, закончено формирование проектно-сметной документации по четырём центрам доклинических трансляционных исследований и биомедицинских кластеров вокруг 13 ведущих медицинских вузов. А в РАМН принято решение о создании института, где будет развиваться это направление и сконцентрируются наши лучшие силы в области регенеративной медицины.

Базу для исследований в этом направлении создаёт подготовленный Минздравом России совместно с РАМН законопроект об обращении биомедицинских клеточных продуктов, работа над которым продолжалась 3 года. Прошло беспрецедентно широкое его обсуждение. Документ согласован и в ближайшее время будет внесён в правительство.

Предстоит серьёзная работа в течение ближайших 3-5 лет в этом направлении. Это инвестиционные проекты, создание инфраструктуры, принятие закона и разработка огромного количества подзаконных актов, внедрение в клинику первых уже подготовленных клеточных продуктов российского производства, а в перспективе – создание их линий, отметила министр. Она поблагодарила президента РАМН за внимание, которое он уделяет клеточным технологиям и регенеративной медицине, заверив, что министерство поддержит ис-

ток (эмбриональные стволовые клетки, стволовые клетки взрослого организма, нейральные прогениторные клетки), которые могут помочь в лечении инсультов, атеросклероза (ангиогенная терапия), спинальной травмы, гематологических заболеваний. Второе направление – тканевая инженерия (применение 3D-культур для создания искусственных органов, лечение ожоговой болезни, создание биосовместимых протезов с клеточным покрытием). И наконец, клеточные технологии могут оказать неоценимую пользу в научных исследованиях при моделировании органов и систем *ex vivo* (3D-моделирование сосудов, мочевого пузыря, кишечника с помощью клеточного принтера, модель гематоэнцефалического барьера, а также нейронных сетей для кибернетических исследований).

В.Чехонин назвал также основные проблемы развития клеточных технологий в России – отсутствие адекватной системы подготовки кадров в области клеточных технологий и регенеративной медицины, отсутствие производственной базы биотехнологического оборудования (производство, стандартизация и сертификация культуральных сред, ростовых факторов, лабораторного пластика), отсутствие в структуре РАМН специализированного центра по клеточным технологиям и регенеративной медицине, отсутствие профессиональной ассоциации по регенеративной медицине и клеточным технологиям. Существует разрыв между фундаментальными научно-исследовательскими лабораториями и центрами и клиническими подразделениями, недостаточно налажен трансляционный про-

цировка тканеспецифичных стволовых клеток, деление дифференцированных клеток; хоуминг циркулирующих стволовых клеток и их паракринные эффекты; паракринные эффекты тканевых МСК; замещение фиброзом при недостаточной регенерации; восстановление васкуляризации (деление, миграция ЭК, ГМК; хоуминг и дифференцировка циркулирующих эндотелиальных предшественников; паракринные эффекты тканевых МСК и МСК костного мозга); восстановление иннервации (хоуминг циркулирующих стволовых клеток и их паракринные эффекты; паракринные эффекты тканевых МСК).

Как отмечалось в докладе, МСК живой ткани человека восстанавливают кровоток и стимулируют ангиогенез в задней конечности мыши. МСК живой ткани улучшают функцию сердца крысы после инфаркта миокарда. Гипоксия вызывает координированные изменения в МСК живой ткани экспрессии генов, регулирующих ангиогенез. Повышение паракринной активности МСК путём генетической модификации увеличивает их терапевтическую эффективность. МСК при сокультивировании с эндотелиальными клетками стимулируют ангиогенез и стабилизируют сосудодобные структуры через щелевые контакты. МСК обладают видовой специфичностью при встраивании в сосуды, стимулируют рост нервных окончаний посредством продукции нейротрофических факторов, а также стимулируют восстановление двигательных нервных волокон.

В докладе академика РАМН Геннадия Сухих «Клеточные технологии: через научный поиск к практике» были представлены основные направления использования стволовых клеток в репродуктивной сфере – восстановление и сохранение овариального резерва, восстановление функционального эндометрия, регенеративная медицина в урологии и андрологии, использование потенциала стволовых клеток в перинатологии. Среди возможностей использования стволовых клеток в гинекологии – восстановление функционального эндометрия (синехии, атрофия, гипоплазия), восстановление функции яичников, исследование эндометриоза. В неонатологии СК перспективны как клеточная протекция при стимуляции роста у плодов с

сложными являются плотные органы (например, почка или печень), поскольку они нуждаются в хорошем кровоснабжении. Первые три уровня уже достигнуты в эксперименте и проходят клинические испытания. На лекции были показаны рентгенограммы кролика, у которого удалялась уретра, а вместо неё пересаживалась искусственная. Пересаженный орган созрел внутри тела и полгода спустя напоминал удалённый орган, причём восстанавливались его васкуляризация и иннервация. Каким образом это происходит? К сожалению, возможности задавать вопросы у аудитории не было. Затем начался этап клинических испытаний. У 5 больных с регенерацией уретры с помощью подобной методики катамнез превысил 8 лет. На лекции было показано короткое видео про пациента-студента, которому был пересажен рукотворный мочевого пузыря, он ведёт обычный образ жизни и даже занимается спортом.

Сейчас осуществляются проекты по созданию искусственной матки, полового члена, сердечных клапанов и т.д. Что касается выращивания плотных органов, то существует три стратегии их выращивания. Это использование децеллюлированной стромы в качестве матрикса (scaffold), 3D-печать, клеточная терапия. В Институте регенеративной медицины над этими проблемами работают сотни специалистов: молекулярные и клеточные биологи, материаловеды, биоинженеры, физиологи, биохимики, ветеринары, врачи, эпидемиологи, статистики и т.д.

По окончании выступления профессор Э.Атала любезно согласился ответить на наши вопросы.

– Я являюсь детским урологом, причём три четверти моего рабочего времени тратится на научную работу, а четверть – на клиническую, – говорит Э.Атала. – Четверть века назад я начал исследования в области регенеративной медицины. Тогда такого термина не существовало.

– **А кто этот термин предложил?**

– Билл Газельтин – американский биолог, предприниматель и филантроп. Это случилось в 1995 г., и с тех пор термин «регенеративная медицина» широко используется, хотя для обозначения данной деятельности, которая заключается в трансплантации стволовых клеток с терапевтической целью, есть и другие термины.

– **В вашей презентации поражает число соавторов...**

– У нас действительно прекрасная команда.

– **Как вам удаётся совмещать хирургическую деятельность с исследовательской?**

– Эти два направления интегрированы, потому что вся наша научная работа нацелена на клиническое применение полученных результатов. Мы изучаем только то, что имеет терапевтический потенциал. Начали мы с воссоздания органов мочевой системы, а затем занялись хрящами, печенью и т.д.

– **Каких результатов удалось достичь за прошедшие 25 лет?**

– Как я говорил в своей лекции, мы разделили органы и ткани на четыре уровня сложности. Мы освоили воссоздание органов первых трёх

уровней, включая трубчатые структуры (такие, как уретра) и полые органы (например, мочевого пузыря). Твёрдые органы нам пока ещё не удалось имплантировать в клинике, но мы работаем в этом направлении.

– **Вы привели в своей лекции яркие примеры восстановления утраченных функций, но хотелось бы знать не только казуистику, но и статистику. Насколько часто вам сопутствует успех?**

– Каждый приведённый случай представляет серию аналогичных больных. Прежде чем опубликовать результаты, мы выжидаем не менее 5 лет. Нам важно продемонстрировать, что наш метод работает, поэтому мы не торопимся обнародовать их. Пока мы не убедимся, что отдалённые результаты благоприятны, мы не приступаем ко второй фазе клинических испытаний. Пятилетний катамнез серии больных, публикация полученных результатов, затем вторая фаза испытаний – таков наш алгоритм. В настоящее время мы проводим более 10 клинических испытаний, причём половина из них находится во второй фазе.

– **Насколько практичны будут предлагаемые вами методики?**

– Мы знаем, что наши технологии могут помочь нашим больным. Вопрос в том, как их тиражировать? Сейчас мы практически всё делаем вручную, конструируя в данный промежуток времени один орган или одну ткань. Вот почему мы возлагаем большие надежды на трёхмерную печать (3D-printing) органов. Мы начали эту работу около 10 лет назад. Наша задача – производить много разных органов одновременно.

– **С какими вызовами вы сталкиваетесь?**

– Вызовы можно разделить на три категории: во-первых, регуляторные (regulatory), во-вторых, связанные с тиражированием (scale up) наших методик, и, в-третьих, финансовые (cost). Все эти препятствия необходимо преодолеть: получаемый продукт должен быть одобрен властями (FDA), быть воспроизводимым и недорогим. Процесс одобрения очень сложен. Если возьмём таблетку для снижения артериального давления, то процесс её одобрения (от назначения первому больному до появления в аптеке) в США в среднем составляет 15,1 года. В нашем случае речь идёт о гораздо более сложных технологиях, одобрение которых займёт не меньше времени, чем обычной таблеткой.

– **Собираетесь ли вы в будущем также «напечатать» человеческий мозг?**

– Нет, это слишком сложный орган. Но, безусловно, существуют методики клеточной терапии его заболеваний. Стратегия воссоздания любого органа одинакова. Необходимы знания клеточной биологии, биоматериалов, и мы должны достичь функционирования тканей на всех уровнях, не только архитектурном, но и молекулярном, биохимическом, физиологическом, генетическом. Проблема очень сложна. Прежде чем имплантировать больному искусственно созданные ткани, мы должны в эксперименте на животных убедиться в том, что всё работает правильно, что они полностью функциональны. Ведь нельзя экспериментировать на больном.

– **Мой последний вопрос касается вашего сотрудничества с российскими коллегами. Какие тут перспективы?**

– Мы сейчас обсуждаем варианты такого сотрудничества, но никаких официальных договорённостей пока нет.

Интервью было очень кратким, поскольку Атала торопился на встречу с ректором Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, членом-корреспондентом РАМН Петром Глыбочко. По итогам этой встречи было подписано соглашение о сотрудничестве между Первым МГМУ и Институтом регенеративной медицины Уэйк Форест.

## А у нас полечат БАС

Из российских докладов следует отметить выступление профессора **Марии Захаровой** и соавт. (Научный центр неврологии РАМН), посвящённое генной терапии бокового амиотрофического склероза (БАС). Как известно, БАС – прогрессирующее неизлечимое нейродегенеративное заболевание, обусловленное избирательным поражением периферических мотонейронов передних рогов спинного мозга и двигательных ядер мозгового ствола, а также центральных мотонейронов, которое проявляется неуклонно нарастающими парезами, мышечными атрофиями, фасцикуляциями и пирамидным синдромом. Для замедления прогрессирования БАС применяются те же препараты, что и при других нейродегенеративных заболеваниях (болезни Паркинсона, Альцгеймера, хорея Гентингтона, прионные болезни). Определённые надежды связаны с применением нейротрофических факторов (НТФ), регулирующих выживание мотонейронов. Совместно с Институтом молекулярной генетики РАН и НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи Минздрава России было изучено влияние фактора роста эндотелия кровеносных сосудов (ФРЭС) (vascular endothelial growth factor – VEGF). В экспериментах на мышах было показано, что уменьшение уровня ФРЭС приводит к снижению нейрональной перфузии, а делеция промоторного участка в гене ФРЭС, определяющего реакцию на гипоксию (HRE), вызывает поражение двигательных нейронов. Полиморфизмы в гене ФРЭС, приводящие к снижению его экспрессии, повышают риск заболевания БАС в 1,8 раза. Другим ростовым фактором ангиогенеза является ангиогенин (АНГ). Однако клиническое применение НТФ выявило их кратковременный эффект, низкую проникаемость через гематоэнцефалический барьер, выраженность периферических побочных эффектов, токсичность при введении больших доз, образование аутоантител. Поэтому для доставки генов НТФ решено было применить рекомбинантные аденовирусы, показавшие свою безопасность и эффективность.

Был разработан отечественный препарат, представляющий собой смесь (1 : 1) рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц, экспрессирующих гены ФРЭС и АНГ в суммарной концентрации (7,0 ± 1,4) × 10<sup>8</sup> частиц в 3 мл буферного раствора. Вначале он был испытан на трансгенных мышах, у

которых была воспроизведена экспериментальная модель БАС, и показал свою безопасность и эффективность. Затем данный препарат был назначен 25 больным со спорадической формой БАС в рамках рандомизированного плацебоконтролируемого клинического испытания. Препарат вводился внутримышечно в дозе 1,2 мл каждые 3 недели на протяжении 1,5 года. Выяснилось, что лечение препаратом не вызывает серьёзных побочных реакций, замедляет нарастание неврологического дефицита и снижение жизненной ёмкости лёгких у больных БАС.

Ряд докладов был посвящён вопросам клеточной терапии в кардиохирургической, кардиологической и гематологической практике, клеточным и геномным технологиям изучения молекулярных механизмов нейрогенерации и нейропротекции, микро-РНК при острых нарушениях мозгового кровообращения и черепно-мозговой травме у детей, генно-инженерным технологиям стимуляции ангиогенеза в комплексном лечении хронической ишемии ног.

## Лёгкое раздражение

«Мы присутствуем на уникальном заседании, где впервые с такой силой и полнотой представлена необходимость комплексирования в решении наиболее сложных вопросов», – отметила, выступая в прениях, член-корреспондент РАМН **Ангелина Гуськова** (Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И.Бурназяна (Москва)).

Директор Института генетической и регенеративной медицины АМН Украины член-корреспондент РАМН **Геннадий Бутенко** (Киев) поделился с аудиторией информацией о своём учреждении, созданном 6 лет назад и насчитывающем около 120 сотрудников. Основными направлениями научной работы института являются диагностика генетической предрасположенности к наиболее распространённым заболеваниям (таким, как артериальная гипертензия, рак молочной железы, лекарственная устойчивость и т.д.), создание генно-инженерных препаратов и рекомбинантных технологий (например, одноцепочечных моноклональных антител) и изучение генных и тканевых технологий (в основном работа со стволовыми клетками). Остаётся надеяться, что скоро подобные институты возникнут и в России.

Директор НИИ биохимии Сибирского отделения РАМН академик РАМН **Лев Панин** (Новосибирск) удивился, что такая важная проблема обсуждается в полупустом зале. Первый и второй день работы сессии, отметил Л.Панин, существенно отличаются друг от друга по направленности докладов. В первый день обсуждались биомедицинские проблемы клеточных технологий, а во второй – прикладные вопросы. «Прозвучавшие сообщения наглядно продемонстрировали, что направленность исследований в нашей стране и за рубежом существенно отличаются», – подчеркнул он. Как отмечают американские учёные, репрограммирование клеток in vivo не происходит, поэтому необходимо работать с клеточными культурами in vitro. Словосочетание «репрограммирование клеток» звучало на сессии неоднократно, но ни один из выступавших не поставил вопрос о механизмах

такого репрограммирования, которые напрямую связаны с процессами метилирования и деметилирования ДНК, или ацетилированием или деацетилированием гистонов. В этой связи Л.Панин упомянул доклад члена-корреспондента РАМН В.Репина о клеточных механизмах репрограммирования в эмбриогенезе: «Сначала это вызывает удивление, а потом – лёгкое раздражение».

Клеточные технологии необходимо сочетать с работой с клеточными культурами. «Я до сих пор нахожусь под впечатлением доклада профессора Э.Аталы, показавшего возможности реконструктивной хирургии, опираясь на использование моделей из биоматериала, чему предшествует наработка клеток в культуре in vitro», – сказал Панин. – В отечественных работах используется прямая пересадка клетки из одного места в организм в другое в надежде на её трансформацию. Никогда клетка, перенесённая из костного мозга в очаг инфаркта миокарда, не превратится в миоцит. В лучшем случае трансплантированные клетки продуцируют большое количество цитокинов или факторов роста. В таком случае лучше вводить не сами клетки, а среду их инкубации», – продолжил он, очевидно, имея в виду доклад академика РАН и РАМН Лео Бокерии о клеточной терапии аномалии Эбштейна аутологичными клетками-предшественниками. Создаваемое Общество регенеративной медицины должно заниматься текущей работой, заслуживать предлагаемые проекты и отбирать из них те, которые достойны финансирования, считает Л.Панин.

В прениях также выступил член Международного общества исследования стволовых клеток профессор **Анатолий Конопляников** (Медицинский радиологический научный центр Минздрава России, Обнинск), отметивший, что радиационные методы лежали в основе первоначальных исследований стволовых клеток. «Сейчас основной лошадкой, ведущей клеточную терапию, являются мезенхимальные стволовые клетки. У них особые свойства. Во-первых, они постоянно циркулируют в организме (около 30 тыс. клеток ежедневно). Во-вторых, они обладают специфическими репаративными свойствами в местах повреждения. В-третьих, они не являются иммуногенными», – сказал А.Конопляников и привёл примеры использования МСК при лечении хронической сердечной недостаточности, диабета и радиационной болезни. К сожалению, на сессии не обсуждалась проблема раковых стволовых клеток.

Подводя итоги сессии, президент РАМН академик РАН и РАМН Иван Дедов отметил необходимость доработки и принятия закона о стволовых клетках. Во главу угла должны быть поставлены вопросы безопасности и эффективности клеточной терапии. Введение стволовых клеток повышает риск развития онкологических заболеваний. С другой стороны, это очень перспективное направление, позволяющее выращивать искусственные органы.

**Болеслав ЛИХТЕРМАН,  
Фёдор СМИРНОВ,  
корреспонденты «МГ».**

**НА СНИМКЕ: (слева направо)  
Г.Сухих, В.Чехонин, Э.Атала.**