

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ В ВОССТАНОВЛЕНИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ОПЕРИРОВАННЫХ МАТОЧНЫХ ТРУБ

Проф. Н. И. КОЗУБ, доц. М. Н. КОЗУБ

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Представлен обзор литературы, посвященной проблеме лечения и послеоперационной реабилитации пациенток с внематочной беременностью. Подчеркнуто, что существующие способы лечения не позволяют в полной мере восстановить анатомо-функциональную целостность маточных труб и их реснитчатого секреторного эпителия. Одним из перспективных методов замещения погибших мышечных клеток маточных труб является терапия стволовыми клетками — самыми ранними в последовательной цепи строго отрегулированных процессов, обеспечивающих образование и поддержание большинства клеточных линий взрослого человека (пролиферацию, миграцию, дифференцировку, созревание и апоптоз).

Ключевые слова: внематочная беременность, стволовые клетки, терапия.

Трубную беременность диагностируют в среднем у 47,0% пациенток, госпитализированных в стационар. При хирургическом лечении у 61,3–69,3% таких больных выполняется сальпингэктомия, у 29,4% — сальпингостомия. После сальпингэктомии нормальный менструальный цикл восстанавливается в 68,0% случаев, беременность наступает у 42,5% пациенток, а после органосохраняющих операций на маточных трубах беременность наблюдается у 51,0–67,2% больных. Повторная трубная беременность наступает у 27,0% пациенток, которые имели в анамнезе первую трубную беременность [1].

Трубно-перитонеальное бесплодие после внематочной беременности развивается в 17,0–50,0% случаев и обусловлено тем, что перенесенные пациентками специфические и неспецифические хронические заболевания, продукты жизнедеятельности и распада тканей эктопического хориона приводят к развитию в организме женщины эндогенной интоксикации, накоплению продуктов свободнорадикального окисления и недостаточности антиоксидантов. Эндогенная интоксикация и операционная травма сопровождаются изменениями иммунной реактивности и функционирования моноцитарно-макрофагальной системы. Увеличение популяций активированных Т-лимфоцитов обуславливает гиперпродукцию ИЛ-1 β , ИЛ-10, ФНП- α , что, в свою очередь, ведет к активации N-ацетилтрансферазы и повышению синтеза фибронектина, компонентов соединительной ткани, т. е. возникают условия для развития спаечного процесса и трубно-перитонеального бесплодия [2–4]. Известно, что продвижение гамет и эмбриона достигается путем комплексного взаимодействия между мышечными сокращениями, цилиарной активностью и током трубного секрета. Реснитчатый секреторный эпителий слизистой оболочки, гладкомышечная

ткань стенки трубы и ее сосуды, а также эндотелий содержат эпидермальный фактор роста (ЭФР), трансформирующий фактор роста (ТФР- α), а также рецепторы ЭФР/ТФР- α . Соотношению ЭФР/ТФР- α отводится роль потенциального регулятора движения ресничек эпителия, его секреции, перистальтики, кровообращения яйцевода и пролиферации эпителиальных клеток. Стимуляция рецепторов ЭФР и ЭФР/ТФР- α в маточной трубе женщины осуществляется в результате воздействия эстрогенов и простагландинов, дисбаланс которых негативно влияет на функционирование маточных труб [5].

В настоящее время не существует эффективных способов лечения и послеоперационной реабилитации пациенток с внематочной беременностью, в полной мере способных восстановить анатомо-функциональную целостность маточных труб и их реснитчатого секреторного эпителия. Поэтому очень важен поиск новых методов лечения и послеоперационной реабилитации, направленных на нормализацию функционирования маточных труб и восстановление фертильности.

Один из методов замещения погибших мышечных клеток маточных труб — терапия стволовыми клетками (СК), которые являются самыми ранними типами клеток в последовательной цепи строго отрегулированных процессов, обеспечивающих образование и поддержание большинства клеточных линий взрослого человека, а именно: пролиферацию, миграцию, дифференцировку, созревание и апоптоз клеток.

Дифференцировочный потенциал — критерий, позволяющий сравнивать СК, полученные из разных источников и в разные периоды развития организма. Различают тито-, плюри-, мульти-, олиго- и унипотентные СК. Титопотентные клетки способны образовывать все эмбриональные и вне-

эмбриональные типы клеток; плюрипотентные — все типы клеток организма; мультипотентные образуют несколько клеточных линий; олигопотентные способны образовывать ограниченное количество клеточных линий; унипотентные образуют только один тип клеток [6, 7].

Типотентными называют клетки, которые формируются после первых делений дробления. Через 4 сут после первого деления яйцеклетка образует бластоцисту. Клетки бластоцисты, в частности клетки ее внутренней массы, не типотентны, а плюрипотентны.

По мере развития зародыша плюрипотентные клетки теряют универсальность и превращаются в дифференцированные СК с более ограниченными возможностями. Такие специализированные СК получили название мультипотентных, т. е. способных образовывать несколько типов клеток в пределах одного органа. Однако это правило имеет и исключения: так эндодермальные СК эмбриональной печени дают начало не только тканям этого органа, но и клеткам поджелудочной железы и кишечника [8].

Из всего разнообразия СК выделяют эмбриональные СК (ЭСК), происходящие из единичных бластомеров, внутренней клеточной массы бластоцисты (ВМБ), эпибласта, морулы, а также из зародышевых клеток, т. е. из популяций, которые возникают еще до появления специализированных тканей. В отличие от дифференцированных клеток, ЭСК имеют ряд особенностей, которые позволяют использовать их в фундаментальных исследованиях, а также в клинической и экспериментальной медицине. Во-первых, СК эмбрионального происхождения образуют самоподдерживающуюся клеточную популяцию, они способны сохранять свойства «стволовости» на протяжении многих клеточных поколений. Во-вторых, в соответствующих условиях ЭСК могут дифференцироваться в определенные типы клеток, что особенно важно в заместительной клеточной терапии [9]. Остальные виды СК не имеют общепринятого названия, и их называют региональными, резервными, соматическими или взрослыми. Преимущество использования эмбриональных трансплантатов заключается в том, что они содержат клетки с низкой антигенностью и состоят в основном из blastных и стволовых клеток, которым присущ высокий пролиферативный потенциал. Кроме того, они стимулируют репарацию и регенерацию тканей [10]. Вместе с эмбриональными клетками в организм пациента привносится уникальный комплекс цитокинов и ростовых факторов [11].

Среди регионарных стволовых клеток особое место занимают мезенхимальные стволовые клетки (МСК), производные которых составляют стромальную матрицу всех органов и тканей организма человека. Эти клетки относятся к классу соматических полипотентных клеток-предшественников, которые обладают способностью к самоподдержанию

и дифференцировке в разные типы клеток. Основным источником МСК является костный мозг, гемопоэтические стволовые клетки которого в организме млекопитающих постоянно дифференцируются в клетки крови и иммунной системы. Однако в настоящее время показано, что они могут быть выделены из других источников (жировая ткань, кровь, плацента, амниотическая жидкость). В определенных условиях МСК дифференцируются в клетки хрящевой и костной тканей. МСК, выделенные из костного мозга и не подвергшиеся культивированию, лишены адгезивных молекул. МСК обладают уникальной способностью оказывать иммуносупрессивное действие через модуляцию функции дендритных клеток и индукцию регуляторных Т-лимфоцитов. Это их свойство позволяет решить проблему HLA-несовместимости донора и реципиента. При системном введении в циркуляцию МСК избирательно репопулируют очаги тканевого повреждения независимо от типа ткани. Пересаженные МСК формируют между собой и миоцитами щелевые контакты — каналы белки, переносящие электрический импульс между сопряженными клетками. Однако для использования МСК в целях аутотрансплантации необходима предварительная оценка их дифференцировочного потенциала. Очевидно, что эффективность такого лечения во многом определяется сохранностью их дифференцировочных потенциалов, которые, в свою очередь, зависят от многих факторов (возраст, генетические особенности больного, характер и распространенность патологического процесса, медикаментозное предлечение, источник получения и особенности выделения и экспансии МСК *in vitro* и т. д.) [12, 13].

В организме СК локализованы и функционируют в определенном окружении — «нише», состоящей из тканевых клеток, и внеклеточного матрикса (ВМК), которые могут неограниченно долго поддерживать самовоспроизведение СК и продукцию дочерних дифференцированных клеток *in vivo*. «Ниша» СК является частью структурно-функциональных единиц (СФЕ) органов и тканей. Находясь в составе СФЕ, СК принимают участие в гистогенетических и морфологических процессах. В «нише» создается микроокружение, необходимое для ограничения процессов пролиферации и дифференциации СК, но при этом они сохраняют способность реагировать на внешние стимулы. При определенных условиях СК могут быть мобилизованы из «ниши», а затем снова найти свою «нишу» — «хомминг» — хорошо координированный многоэтапный процесс, в котором участвуют сигналы, посылаемые «нишей», — интегрин СК и другие факторы. При этом обеспечивается миграция СК в новые «ниши» в процессе онтогенеза. Поведение СК контролируется сигналами, поступающими от клеток «ниши». Таким образом, СК и их «ниши» существуют как единая система и вместе обеспечивают клеточную основу гомеостаза тканей в организме [14].

В регуляции пролиферации и дифференцировки СК участвует сложная система ростовых факторов и цитокинов, вырабатываемых как самими клетками, так и клетками микроокружения, стромы и ВМК [11].

Нарушение регуляции СК в «нише» часто приводит к неопластическому росту [15].

СК — предшественники мышц.

Миогенные клетки-предшественники, содержащиеся в ВМК, являются более ранними миогенными предшественниками, чем сателлитные клетки [16]. Они способны к миграции и по сосудистому руслу достигают поврежденной соединительной ткани [17].

При систематическом введении МСК в кровоток животным-реципиентам незрелые клетки имплантируются в разных органах и тканях, дифференцируясь в клетки крови, адипоциты, хрящевые клетки, фибробласты, миоциты [18]. Одной из проблем, возникающих при оперативном методе трансплантации культивированных стромальных (мезенхимальных) стволовых клеток (ССК), является выбор оптимального носителя клеточного материала. При сравнении разных видов носителей: спрессованных фрагментов гидроксиапатита (ГА), многокомпонентного КМ (МКМ), губчато-кортикальной чипсы (ГКЧ) «Тутопласт» кортикального деминерализованного костного матрикса (гДМК и кДМК) мы пришли к выводу, что вышеуказанные процессы адгезии и пролиферации культивированных клеточных линий более активно протекают на деминерализованном матриксе кортикальной и губчатой костей [19]. При культивировании СК с увеличением их массы для целей трансплантации возможно появление клонов с хромосомными и геномными мутациями [20].

Основными претендентами на роль СК скелетных мышц являются сателлитные клетки. Сателлитные клетки и их онтогенетические предшественники, происходящие из сомитов, — прямые источники мышечных клеток. В исследованиях Vour'h et al. (2004) было доказано, что мышечные клетки, экспрессирующие CD90, проявляют способность к образованию нейрональных предшественников и зрелых нейронов. Другие авторы (Aleessandri et al., 2004) выделили из плечелучевой мышцы взрослого человека СК, которые при активации дифференцировки образовывали не только миоциты, но и астроциты, нейроны.

ГСК с фенотипом $Scal+CD45+$ и $Scal+CD34+$, локализованные в мышцах, могут вовлекаться в миогенную дифференцировку после мышечного повреждения [21].

Сосудистые гладкомышечные клетки (перicyты) являются производными недифференцированных периваскулярных мультипотентных мезенхимальных клеток-предшественников, способных дифференцироваться в гладкомышечные клетки [22].

Мезодермальные СК (ГСК, МСК, мезангиобласты) в норме не ориентированы на превращение в миоциты, но в процессе развития или регенера-

ции мышц могут попадать в кровоток в специфическую «нишу» или «миогенное поле» и приобретать свойства и функции мышечных волокон [6, 23].

Генетическая модификация СК придает новый импульс развитию клеточных технологий и их внедрению в клиническую практику. Благодаря возможности преодоления генетического дефекта *ex vivo* и встраиванию полноценного гена в СК пациента возможно решение ряда проблем, в том числе и преодоления барьера HLA-гистосовместимости при аллогенных трансплантациях. Одна из основных задач на пути развития клеточной терапии — гарантированное обеспечение условий для выживаемости трансплантируемых клеток. Путем генетической модификации возможно добиться не только повышения жизнеспособности, но и скорректировать метаболические процессы, усилить пролиферативный и дифференцировочный потенциал СК, направить их дифференцировку в нужное русло. Способность некоторых типов СК к направленной миграции (хоумингу) в очаге тканевой деструкции и опухолевого роста позволит использовать их для доставки продуктов терапевтических и суицидальных генов [12].

Альтернативный механизм действия СК. В фундаментальных исследованиях речь идет об альтернативных механизмах действия клеточной терапии: иммуномодулирующем и стимулирующем действии продуктов клеточного распада [24, 25], паракрином [26, 27].

Осложнения при введении стволовых клеток. Аллогенная трансплантация СК представляет собой введение чужеродного белка, который может вызвать иммунные реакции [28].

Что касается «аутоотрансплантации» СК, то эта процедура часто представляет собой не что иное, как аутогемотрансфузию или аутоотрансплантацию с внутривенным (или иным) введением клеток собственного костного мозга или фракций крови типа лейкоконцентрата.

Введенные извне СК выделяют TNF, TGF- β , TGF- α , LIF, GM-CSF, VEGF и др. в количестве, превышающем их продукцию клетками здорового взрослого организма, что является причиной развития у реципиентов эмбриональных клеток различных изменений в органах и тканях [29]. Имплантация СК может привести к образованию тератомы [30]. В некоторых обзорах литературы указывается, что у человека трудно доказать дифференцировку СК в функционирующие клетки, например кардиоциты [31] или нейроны [32].

Одним из перспективных способов получения СК является их выделение из эндометрия пациенток путем гистероскопии или выскабливания полости матки [33].

Таким образом, можно сделать вывод, что только аллогенная трансплантация СК, полученных, в том числе, и из эндометрия, может решить проблему полного восстановления анатомического строения и функционального состояния маточных труб.

Список литературы

1. *Адамян Л. В.* Репродуктивная функция женщин после эктопической беременности различной локализации / Л. В. Адамян, И. С. Чернова, А. В. Козаченко // Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний.— М., 2012.— С. 172–173.
2. *Чайка В. К.* Патогенез репродуктивных нарушений у пациенток с позаматочной вагітністю / В. К. Чайка, О. М. Носенко, Р. Л. Гарсаллі // Проблемы, достижения, перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения.— 2009.— Т. 145, ч. 3.— С. 256–259.
3. *Козуб М. Н.* Трубная беременность: этиология, патогенез, психофизиологические и хирургические аспекты ее лечения / М. Н. Козуб, Н. И. Козуб, М. Ю. Климова // Зб. наук. пр. Асоціації акушерів-гінекологів України.— К.: Интермед, 2011.— С. 449–458.
4. Проблема спайкообразования в гинекологической практике / З. М. Дубоссарская, Л. И. Падалко, Ю. А. Дубоссарская, А. Н. Пузий // Зб. наук. пр. Асоціації акушерів-гінекологів України.— К.: Интермед, 2012.— С. 167–169.
5. *Баранов А. Н.* Эктопическая беременность: метод. рек. / А. Н. Баранов, Н. Г. Истомина.— СПб.: Изд-во Н-Л1, 2010.— 29 с.
6. *Петренко А. Ю.* Стволовые клетки. Свойства и перспективы клинического применения / А. Ю. Петренко, Ю. А. Хунов, Э. Н. Иванов.— Луганск: Пресс-экспресс, 2011.— 368 с.
7. Постоянные линии эмбриональных стволовых клеток / Т. А. Крылова, В. В. Зенин, Н. А. Михайлова [и др.] // Цитология.— 2005.— Т. 47, № 2.— С. 121.
8. *Грищенко В. И.* Проблема стволовых клеток: фундаментальные и прикладные аспекты / В. И. Грищенко // Журн. АМН Украины.— 2004.— Т. 10, № 2.— С. 253.
9. Стволовые клетки, участвующие в образовании внезародышевых тканей / Е. В. Григорьева, А. И. Шевченко, А. И. Железова [и др.] // Клеточные технологии.— 2010.— № 4.— С. 183–194.
10. *Мазур О. Є.* Дослідження активності гліколізу в ембріональних трансплантатах після алотрансплантації зрілому пацієнту / О. Є. Мазур // Медична хімія.— 2005.— Т. 7, № 3.— С. 81–84.
11. *Лукаш Л. Л.* Стволовые клетки млекопитающих in vitro как основа для создания современных биотехнологий / Л. Л. Лукаш, С. В. Васильовская // Биополімери і клітина.— 2001.— Т. 17, № 3.— С. 203–211.
12. Генно-инженерные технологии и стволовые клетки / И. В. Спивак, Г. Т. Сухих, И. М. Богданова [и др.] // Физиолог. журн.— 2008.— Т. 54, № 3.— С. 99–100.
13. Новый подход к оценке остеогенного потенциала мезенхимальных стромальных клеток / А. А. Остаин, Я. Л. Петровский, Е. Я. Шевелева [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине.— 2008.— № 47.— С. 219–225.
14. *Терских В. В.* Ниши стволовых клеток / В. В. Терских, А. В. Васильев, Е. А. Воротеяк // Известия РАН. Серия биологическая.— 2007.— № 3.— С. 261.
15. *Wright N. A.* Epithelial stem cell repertoire in the gut: clues to the origin of cell lineages, proliferative units and cancer / N. A. Wright // Int. J. Exper. Pathol.— 2000.— Vol. 81.— P. 117–260.
16. *Сухих Г. Т.* Трансплантация фетальных клеток в медицине. Настоящее и будущее / Г. Т. Сухих // Бюл. экспер. биол. мед.— 1998.— Т. 126, № 1.— С. 3–13.
17. Recruitment of bone-marrow-derived cells by skeletal and cardiac muscle in adult dystrophic mdx mice / R. E. Bittner, C. Schofer, K. Weipoltshammer [et al.] // Anat. Embryol. (Berl.).— 1999.— Vol. 199.— P. 391–396.
18. *Репин В. С.* Эмбриональные стволовые клетки / В. С. Репин // Успехи физиологических наук.— 2001.— Т. 32, № 1.— С. 14.
19. Носители культивированных стромальных (мезенхимальных) стволовых клеток / В. Г. Климовицкий, В. К. Гринь, И. В. Василенко [и др.] // Укр. морфолог. альманах.— 2007.— Т. 5, № 2.— С. 42–44.
20. Статистический анализ клонообразования в культурах стволовых клеток человека / Н. П. Бочков, М. С. Виноградова, И. К. Волков [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине.— 2011.— № 2.— С. 63–66.
21. *Grineir G.* The potential use of myogenic stem cells in regenerative medicine / G. Grineir, M. A. Rudnicki // Stem cells. Handbook of experimental Pharmacology; eds.: A. M. Wobus, K. R. Boheler — Springer-Verlag.— 2006.— Vol. 174.— P. 299–317.
22. *Кухарчук А. Л.* Стволовые клетки: эксперимент, теория, клиника. Эмбриональные, мезенхимальные, нейральные и гемопоэтические стволовые клетки / А. Л. Кухарчук, В. В. Радченко, В. М. Сирман.— Черновцы: Золоті литаври, 2004.— 505 с.
23. *Янченко В. В.* Стволовые клетки и их клиническое применение / В. В. Янченко, Ф. В. Янченко, Д. К. Новиков // Иммунопатология, аллергология, инфектология.— 2005.— № 3.— С. 6–12.
24. *Uccelli A. T.* Mesenchymal cells in health and disease / A. T. Uccelli, L. Moretta, V. Pistoia // Nat. Rev. Immunol.— 2008.— Vol. 8.— P. 726–736.
25. *Tyndall A.* Adult stem cell transplantation in autoimmune disease / A. Tyndall, A. Gratwohl // Curr. Opin. Hematol.— 2009.— Vol. 16.— P. 596–598.
26. *LaPar D. J.* Stem cell therapy for ischemic heart disease: where are we? / D. J. LaPar, I. L. Kron, Z. Yang // Curr. Opin. Organ. Transplant.— 2009.— Vol. 14.— P. 79–84.
27. *Парлюк О. В.* Результаты клеточной терапии, примененной в системе интенсивного лечения травматических ком / О. В. Парлюк, В. И. Селедцов, С. С. Рабинович // Клеточная трансплантация и тканевая инженерия.— 2008.— № 3 (3).— P. 51–55.
28. *Mistra P. K.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells for treatment of heart failure: is it all paracrine actions and immunomodulation? / P. K. Mistra // J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown).— 2009.— № 9.— P. 122–128.
29. Экспериментальное изучение некоторых методологических подходов, используемых в реверсивной терапии / В. Н. Запорожан, Е. Л. Холодкова, Д. М. Пыхтеев, А. И. Пономаренко // Трансплантология.— 2005.— Т. 8, № 1.— С. 10–20.
30. *Яргин С. В.* Стволовые клетки и клеточная терапия:

- на подступах к научному подходу / С. В. Яргин // Цитология.— 2010.— Т. 52, № 11.— С. 918–920.
31. George J. C. Stem cell therapy in acute myocardial infarction: a review of clinical trials / J. C. George // Transl. Res.— 2010.— № 155.— P. 10–19.
32. Intravenous mesenchymal stem cell therapy for traumatic brain injury / M. T. Harting, F. Jimenez, H. Xue [et al.] // J. Neurosurg.— 2009.— № 110.— P. 1189–1197.
33. Стволовые клетки эндометрия при различных гинекологических заболеваниях / Т. А. Косикова, К. А. Рубина, В. Ю. Сысоева [и др.] // Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний.— М, 2011.— С. 117.

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ КЛІТИННОЇ ТЕРАПІЇ У ВІДНОВЛЕННІ СКОРОЧУВАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ ОПЕРОВАНИХ МАТКОВИХ ТРУБ

М. І. КОЗУБ, М. М. КОЗУБ

Подано огляд літератури, присвяченої проблемі лікування і післяопераційної реабілітації пацієнток із позаматковою вагітністю. Підкреслено, що існуючі способи лікування не дають змоги повною мірою відновити анатомо-функціональну цілісність маткових труб та їх війчастого секреторного епітелію. Одним із перспективних методів заміщення загублених м'язових клітин маткових труб є терапія стовбуровими клітинами — найбільш ранніми у послідовному ланцюзі суворо відрегульованих процесів, що забезпечують формування та підтримання більшості клітинних ліній дорослої людини (проліферацію, міграцію, диференціювання, дозрівання й апоптоз).

Ключові слова: позаматкова вагітність, стовбурові клітини, терапія.

PROSPECTS OF CELL THERAPY APPLICATION IN RESTORING CONTRACTILE FUNCTION OF THE OPERATED FALLOPIAN TUBES

M. I. KOZUB, M. M. KOZUB

The literature on treatment and postoperative rehabilitation of patients with ectopic pregnancy is reviewed. It is emphasized that the existing methods are not able to restore the anatomical and functional integrity of the fallopian tubes and ciliated secretory epithelium entirely. One of the methods of dead muscular fallopian tube cells substitution is therapy with stem cells, the earliest in the sequential chain of strictly regulated processes, which ensure formation and maintenance of the majority of adult human cell lines, namely, proliferation, migration, differentiation, maturation and apoptosis.

Key words: ectopic pregnancy, stem cells, therapy.

Поступила 12.02.2015