

УДК 576.7

Вопросы клеточных технологий и биоинженерии тканей (обзор)

Игорь А. Хлусов*

ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет»,
ул. Московский тракт, 2, Томск, 634050 Россия ¹

Received 26.08.2008, received in revised form 2.09.2008, accepted 9.09.2008

Клеточные технологии, технологии биоинженерии, нанотехнологии и наноматериалы, технологии создания биосовместимых материалов входят в перечень критических технологий развития науки в Российской Федерации. Тем не менее, многие вопросы, освещенные в обзоре, до сих пор не нашли своего фундаментального и прикладного решения. В условиях бурного развития материально-технической базы данных направлений остро встает проблема подготовки квалифицированных научно-педагогических кадров, способных воспринимать и применять междисциплинарные знания. В определенной степени представленный материал способствует решению этой трудной задачи.

Ключевые слова: клеточные технологии, биоинженерия тканей, наноматериалы

Рост врожденных пороков развития, онкологических заболеваний, тяжелых травм, сопровождающихся утратой части или всего органа, приводит к социальной дезадаптации, инвалидизации и мучительной смерти. В связи с этим в XXI в. клеточные технологии, трансплантология и биоинженерия являются одними из ведущих научных направлений, критических технологий развития науки в Российской Федерации.

В 2002 г. Министерством образования и науки РФ утверждена новая специальность 020210 «Биоинженерия и биоинформатика», в МГУ открыт одноименный факультет. В Томском политехническом университете с 2004 г. реализуется магистерская программа «Новые материалы и технологии в медицине, медицинской технике и стоматологии» в рамках

Государственного образовательного стандарта по специальности 150600 «Материаловедение и технология новых материалов».

В 2003 г. решением Президиума Томского научного центра СО РАМН одобрено развитие нового направления «Общая и частная патофизиология имплантируемых материалов и устройств». В 2004 г. научно-образовательный проект «кадры для биоинженерии» был поддержан Федеральным агентством по науке и инновациям РФ в рамках приоритетного направления «Поддержка интеграции науки и высшей школы», в 2005 г. – Президиумом Российской академии наук.

Биоинженерия – самостоятельный раздел в области биотехнологии и медицинского материаловедения, занимающийся вопросами научного проектирования, конструирования,

* Corresponding author E-mail address: khl@ultranet.tomsk.ru

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

экспериментального и практического воплощения искусственно созданных биосистем, не вызывающих негативных реакций при прямом или опосредованном введении в организм, для воспроизведения или компенсации структурно-функциональной организации биологической ткани или органа.

Клеточная инженерия подразумевает манипуляции с клетками *in vitro* и *in vivo*, направленные на модификацию их структуры и/или функции, для коррекции заболеваний и повреждений посредством клеточной трансплантации в регенераторной медицине, пластической хирургии, геронтологии, онкологии и других отраслях биологии и медицины.

Тканевая инженерия использует принципы клеточной инженерии для получения (выращивания) из отдельных клеток биологических тканей или органов, создания их аналогов на матрице из природных либо искусственных биосовместимых материалов, последующей их имплантации для реконструкции либо замещения поврежденных тканей.

Особенность биоинженерии – междисциплинарность подхода к подготовке кадров, проведение научно-клинических исследований и манипуляций в тесном контакте материаловедов, биоинженеров и биотехнологов, врачей на основе знаний в области клеточной биологии.

Термин «стволовая клетка» введен в 1908 г. А.А. Максимовым: это отдельная группа клеток, обладающих способностью к самообновлению, пролиферации и дифференцировке в специализированные ткани. Практически через 100 лет И.Л. Чертков и др. (2006) дали приемлемое толкование термину «стволовая кроветворная клетка»: 1) поведение клеток в культуре *in vitro*, величина колоний, длительность поддержания гемопоэза

в культуре не являются свойством «стволовости»; 2) «стволовость» – это способность к самоподдержанию популяции (при множественных ретрансплантациях), пролиферативный потенциал, достаточный для мультилинейного восстановления гемопоэза у животных с компрометированной кроветворной тканью (облучение, цитостатические препараты, генетические мутации, иммунодефицит).

Используются многочисленные варианты обозначения группы (пула) стволовых клеток: гемоцитобласты, стволовые, камбиальные, примитивные, прогениторные, родоначальные клетки, прекурсоры, клетки-предшественники. При этом судьба стволовых клеток включает пролиферацию, способность к самоподдержанию «стволовости», миграцию, коммитирование, дифференцировку, созревание и смерть (апоптоз или некроз). Многообразие терминологии и классификаций свидетельствует о сложности изучаемого явления, быстром развитии клеточных технологий, недостаточном фундаментальном осмыслении научно-экспериментальной информации. Не претендуя на полный охват проблемы, попробуем разобраться в терминологии, применяемой в клеточных технологиях.

Согласно одной из классификаций, стволовые клетки делятся на пренатальные и постнатальные (после рождения). Открытие эмбриональных стволовых клеток связывают с именем Л. Стивенса (1950, 1953), который из тератокарциномы (спонтанный эмбриональный рак гонад) мышинных эмбрионов выделил, наряду с опухолевыми, стволовые клетки. В 1998 г. Дж. Томсон опубликовал в «Science» статью о выделении пяти бессмертных линий эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) из эмбриобласта бластоцисты человека.

Пренатальные (эмбриональные) стволовые клетки по своему потенциалу включают:

1) тотипотентные стволовые клетки (ТСК) – клетки, формирующие целый организм и все известные типы клеток. Истинной ТСК является оплодотворенная яйцеклетка, а в эмбриогенезе – клетки 2-8-клеточного бластомера, по некоторым данным – бластоцисты до размера 8-32 клетки (3-5 клеточных делений); 2) плюрипотентные (до 11 дня после оплодотворения – гастрюляция, период имплантации зародыша в стенку матки) – клетки эмбриона и внезародышевых оболочек. Способны образовывать практически все известные типы тканей; 3) мультипотентные клетки (до 8-й недели развития эмбриона включительно) способны дифференцироваться в целостный орган или несколько типов тканей, обычно в пределах зародышевого листка.

Для поддержания тотипотентности ЭСК *in vitro* требуется жидкая культуральная среда, фидерный слой и цитокины (лейкемию ингибирующий фактор (LIF), фактор роста стволовых клеток (SCF) и ИЛ-3) (Сухих, 1998).

Постнатальные стволовые клетки могут быть нескольких типов: 1) мультипотентные стволовые клетки. Например, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) при определенных режимах культивирования *in vitro* дают начало 11 видам клеток (фибробласты, кардиомиоциты, поперечнополосатые и гладкомышечные клетки, нервные (глиальные) клетки, остеоциты, хондроциты, теноциты, адипоциты, эндотелиальные клетки и стромальные элементы, формирующие гемопозиндуцирующее микроокружение) для соединительной ткани и ее производных, мышечной и нервной тканей; 2) полипотентные стволовые клетки образуют несколько типов клеток в пределах одного вида ткани. В частности, полипотентная стволовая кроветворная клетка (ПСКК) дает начало всем клеткам крови (эритроциты,

все виды лейкоцитов, тромбоциты); 3) олигопотентные (тетра-, три-, би- и унипотентные) клетки-предшественники.

С точки зрения возможного практического применения стволовых клеток в трансплантологии и регенеративной медицине большое значение имеют регионарные стволовые клетки (в частности, кроветворные, мезенхимальные и нейрональные) (Сухих, 1998), которые расселяются в определенные органы и ткани в зародышевый и постнатальный периоды. Регенеративная медицина рассматривает средства и способы лечения, в том числе клеточные технологии, способствующие репарации или образованию новой ткани в поврежденных или патологически измененных тканях и органах.

Потребности в развитии данного направления обусловлены тем, что при прогрессирующем старении населения Земли только 15-25 % пациентов дожидаются пересадки гистосовместимого органа или ткани (Сухих, 1998). В то же время при бурном развитии техники выделения и культивирования клеток (Шахов и др., 2004) ограниченное практическое использование стволовых клеток обусловлено не только и не столько этическими (прежде всего, в случае с ЭСК), сколько фундаментальными биомедицинскими проблемами.

Согласно О.К. Гаврилову и др. (1985), дифференцируются не более 40 % стволовых кроветворных клеток (СКК), 60 % необходимы для самоподдержания пула СКК. Возникает вопрос о материальной границе, разделяющей в пространстве и времени такие реципрокные события, как самоподдержание «стволовости» (пролиферации, «бессмертности») и коммитирование в дочерние клетки.

Р. Скофилд (Schofield, 1978) сформулировал гипотетическую концепцию «кроветворной ниши» как комбинации базальной

мембраны, молекул внеклеточного матрикса и окружающих клеток, продуцирующих факторы роста и другие регуляторные молекулы, обеспечивающие необходимые условия для поддержания фенотипа стволовых клеток. Вне ниши СКК вступают в дифференцировку или гибнут (неэффективный гемопоэз).

Согласно гипотезе, самые молодые клетки – те, что находятся в нише исходно, с раннего постнатального периода. Свободные стволовые клетки, которым не хватило места в нише, чувствительны к дифференцировочным стимулам. Однако, если клетка из пула стволовых клеток снова найдет нишу, дифференцировка блокируется, она консервируется на данной стадии созревания, что снижает ее способность к самоподдержанию при новом выходе из ниши. Другими словами, чем дольше клетка находится вне ниши, тем больше ее «возраст» и вероятность дифференцировки в клетки-предшественники (Скофилд, Декстер, 1982).

Работы Р. Скофилда положили начало 30-летним исследованиям, первый этап которых был посвящен теоретическим моделям функционирования ниш для СКК. Все существующие модели регуляции коммитирования плюрипотентных СКК условно разделяются на индуктивные и неиндуктивные (Goldwasser, 1981; Павлов, Морщакова, 1987).

Индуктивные модели подчеркивают значение индуктивных влияний на процесс детерминирования (определения судьбы) СКК: 1) модель гемопоэзиндуцирующего микроокружения подчеркивает, что коммитирование СКК определяется локальными клеточными и гуморальными факторами микроокружения (Trentin, 1971); 2) коммитирование СКК определяется экспрессией клеточных рецепторов для гуморальных индукторов дифференцировки (эритропоэтин, колониестимулирующие факторы, интерлей-

кины и т.д.) (Goldwasser, 1981); 3) регуляция коммитирования СКК созревающими клетками по механизму отрицательной обратной связи (Blackett, Botnick, 1981).

Неиндуктивная модель рассматривает коммитирование СКК как стохастический (греч. – догадка, случайность, вероятность) процесс, индуцируемый случайными событиями (мутации генов, случайные эпигеномные феномены). Модель «случайно возбужденного гемопоэза» (Till, McCulloch, 1980) постулирует, что неизвестные события (внутри- и внеклеточные) превращают плюрипотентные СКК во все виды необратимо коммитированных предшественников с их постоянным распределением (Чертков, Фриденштейн, 1977). Только после этого существующие в ткани индукторы микроокружения (эритропоэтин, колониестимулирующие факторы) вызывают пролиферацию и дифференцировку эритроидных и/или гранулоцитарных прекурсоров.

Следующий этап развития теории ниш был связан с поиском их морфологического субстрата. Реальная картина костного мозга как биологической ткани неизбежно предполагает тесный контакт стволовых клеток с другими кроветворными и стромальными элементами. В связи с этим одной из ведущих теорий регуляции СКК стала концепция гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ), которая берет начало с работ (Cungh, Trentin, 1967; Tavassoli, 1975).

ГИМ включает три компонента: 1) микрососудистое русло: две артерии, одна вена и синусоидные капилляры снабжают костный мозг длинных трубчатых костей и обеспечивают поддержание рН, концентрации O_2 и циркуляцию клеток; 2) тканевый компонент: а) стромальные клетки (механоциты), производные ММСК (фибробласты, ретикулярные клетки, эндотелий, адипоциты, остеобласты); б) внеклеточный матрикс, включающий

коллагеновые волокна и основное вещество (гликозаминогликаны, пептиды, цитокины, молекулы адгезии, низкомолекулярные соединения и др.); 3) окончания и рецепторы вегетативной нервной системы (адренергические и холинергические).

В исследованиях А.Я. Фриденштейна и Е.А. Лурия (1980) подчеркивалась мозаичность костного мозга. Кроветворная ткань состоит из отдельных микротерриторий, по которым перемещаются кроветворные клетки и осуществляют свое развитие. Благодаря многолетним работам (Bessis, 1958; Захаров, Мельников, 1984; Crocker, Gordon, 1985) в кроветворной ткани были выделены и охарактеризованы гемопоэтические островки (ГО), являющиеся морфо-функциональными единицами (микротерриториями, нишами), обеспечивающими коммитирование эритроидных и гранулоцитарных унипотентных стволовых клеток (колониеобразующих единиц, КОЕ).

Наконец, на рубеже XX-XXI столетий был обнаружен тесный контакт СКК с остеобластами в области эндоста кости (Ругаль и др., 1991) и адвентициальными клетками кровеносных сосудов, что позволило постулировать существование остеобластической и сосудистой ниш (Tong Yin, Linheng Li, 2006). Оказалось, что остеобластическая ниша (вытянутые остеобласты) осуществляет поддержание пула длительно репопулирующих СКК. Все типы остеобластов (вытянутые и овальные) регулируют жизнедеятельность кроветворных прекурсоров.

Сосудистая (эндотелиальная) ниша отвечает за пролиферацию, дифференцировку в мегакариобласты, несущие маркер CD41, и миграцию (мобилизацию в сосудистое русло) стволовых клеток и прекурсоров. Клетки кровеносных сосудов могут также функционировать как «резервная» ниша для расширения

пула пролиферирующих СКК (например, в селезенке) и увеличения продукции элементов гемопоэза в чрезвычайных ситуациях (стресс, постцитостатическая регенерация). Рекрутирование СКК в сосудистую нишу происходит под действием фактора роста фибробластов (ФРФ-4), стромального клеточного фактора-1 (SDF-1) и увеличения концентрации O_2 . SDF-1 регулирует хоминг СКК, протекающий через стадии мобилизации в кровотоки (низкий уровень фактора) и обратной мобилизации клеток в костный мозг (высокий уровень фактора) (Tong Yin, Linheng Li, 2006).

Симметричное (для самоподдержания) и асимметричное деления ПСКК, когда одна дочерняя клетка уходит в коммитирование (Muschler et al., 2007), обеспечивают контроль численности пула СКК. Именно остеобластические ниши осуществляют регуляцию данного процесса посредством сигнальных рецепторов, лигандов и молекул клеточной адгезии (N-кадгерин/ β -катенин, VCAM/интегрин, остеопонтин/ β 1-интегрин, ангиопоэтин-1/Tie2, Ca^{2+} -чувствительный рецептор и SDF-1) (Tong Yin, Linheng Li, 2006).

Теория ниш получила свое распространение и для эпителиальных клеток. Так, стволовые клетки эпителия кишечника находятся в нижней части крипты, в волосяном фолликуле стволовые клетки локализуются под сальной железой, стволовые клетки роговицы располагаются в области лимба. Эпидермис мыши организован в виде серий эпидермальных пролиферативных единиц (ЭПЕ). Каждая ЭПЕ состоит из группы клеток, содержащих пролиферирующие и дифференцирующиеся клетки. В центре каждой обособленной группы базальных клеток находится одна, которая может быть отнесена к категории стволовых. Она асимметрично делится и дает (после 4-кратного деления) клон из 9-11 базальных клеток. Свойства стволовой клетки сохраня-

ются при контакте с базальной мембраной, возможно, играющей роль ниши. Утрата этой связи ведет к образованию транзитного пула стволовых клеток с терминальной дифференцировкой клеток (Шубникова, 1996; Терских, Васильев, 2001).

По аналогии с СКК высказываются немногочисленные предположения о существовании гипотетической «ниши» (структурно-функциональной единицы) для ММСК и ее потомков (Гольдберг и др., 2006). Возможно, именно вследствие существования ниши для ММСК ее дифференцировочные потенции *in vivo* ограничены пятью направлениями коммитирования (кость, хрящ, строма, сухожилие, жир) (Чертков и др., 2006). Тем не менее, современный этап развития требует постановки и решения вопроса о топографии и размерах ниш для различных типов стволовых клеток, поскольку само определение ниши как анатомической (структурно-функциональной) единицы (микротерритории) для обеспечения жизнедеятельности стволовых клеток предполагает конечные значения ее параметров.

При этом патология ниши, связанная, в том числе, с изменением ее размеров, является одним из главных этапов опухолевой трансформации клеток. Так, в частности, давно известно, что лейкемические клетки для неограниченного деления первым делом разрушают микроокружение (Fliedner, Calvo, 1978).

Цикл собственных исследований в данном направлении позволил получить оригинальные экспериментальные результаты в отношении дифференцировки стромальных стволовых клеток в остеогенном направлении. Было установлено, что топография ниши – неправильной формы углубления в искусственной поверхности, сообщаемые друг с другом. Большие углубления заселя-

ются несколькими клетками. Средняя площадь ниши, необходимой для развития остеобласта, составляет 300 мкм². В тканевую микротерриторию (домен) для развития костной ткани уложится примерно 50-60 стволовых остеогенных клеток. Известно, что домен для кроветворной ткани составляет площадь размером 50x50 клеток и содержит 2-5 КОЕс (КОЕ-ГЭММ у человека), 10-100 КОЕ-ГМ (Копляников, 1984). В соответствии с выкладками, в обнаруженных остеогенных нишах предположительно дифференцируются не ММСК, а три- или бипотентные коммитированные прекурсоры хондроцитов, остеоцитов и адипоцитов.

Проведение подобных исследований становится возможным благодаря достижениям медицинского материаловедения, которое сформировалось как научное направление с 1975 г. в целях теоретического изучения, создания и практического применения материалов, приборов и изделий и технологий для биологии и медицины (von Recum, 1986). Примерная классификация, включая наноразмерные материалы, приборы и изделия, представлена в табл.1.

Основные группы биосовместимых материалов и имплантатов, применяемых в биологии и медицине, изображены на рис.1. Биосовместимые материалы и устройства действуют или функционируют гармонично и согласованно при нахождении в контакте или внутри живого тела, не вызывая серьезных заболеваний или осложнений. Биосовместимость материалов включает (Васин и др., 1999): 1) иммунологическую совместимость, которая связана, главным образом, с подбором совместимых по антигенам тканей, клеток, биоинженерных конструкций; 2) морфофункциональную совместимость (встраивание, интеграция с окружающими тканями); 3) биомеханическую совместимость (способ-

Таблица 1. Классификация и основные направления использования материалов, приборов и изделий для биологии и медицины согласно (Gordon, Sagman, 2003) в модификации

Классификация	Основные направления использования
<p>Биофармацевтика Доставка лекарственных препаратов Обнаружение лекарственных препаратов</p> <p>Имплантируемые материалы 1. Восстановление и замещение тканей <ul style="list-style-type: none"> • Покрытия имплантатов • Скеффолды для регенерации тканей 2. Структурные материалы имплантатов <ul style="list-style-type: none"> • Восстановление кости • Биодegradируемые материалы • «Разумные» (интеллекгентные) материалы </p> <p>Имплантируемые приборы Приборы для диагностики и лечения <ul style="list-style-type: none"> • Имплантируемые сенсоры • Имплантируемые медицинские приборы </p> <p>Хирургическая аппаратура Операционные инструменты <ul style="list-style-type: none"> • Разумные инструменты • Хирургические роботы </p> <p>Диагностические приборы</p>	<p>Материалы для биологии и медицины <ul style="list-style-type: none"> • Металлы и металлокерамика • Полимеры • Керамические материалы • Углерод • Биостекла • Композитные материалы • Гибридные материалы </p> <p>Носители для клеток (scaffold) и генов; биоинженерия, генотерапия</p> <p>Системы доставки лекарств (drug delivery systems)</p> <p>Биосенсоры</p> <p>Имплантаты и протезы (суставов, сосудов, клапанов и т.д.)</p> <p>Медицинские приборы и изделия (робототехника)</p>

ность выдерживать механические, гидродинамические и иные виды нагрузки).

Имплантаты – медицинские устройства из одного или нескольких биоматериалов, предназначенные для полного или частичного размещения в организме в целях заместительной терапии. Имплантаты не должны вызывать местной воспалительной реакции, системных патологических процессов, усиливать осложнения, обязаны сохранять заявленные свойства в течение срока эксплуатации (Ratner et al., 2004).

Следует подчеркнуть, что не существует идеального материала, полностью совместимого с организмом, соответствующего всем анатомо-физиологическим и биомеханическим свойствам биологической ткани. Не может существовать идеального имплантата для разнообразных клинических ситуаций. Некоторые аспекты биосовместимости могут меняться в зависимости от назначения изделия. Например, для искусственных клапанов сердца требуются биоинертные изделия,

гладкие, не взаимодействующие с кровью. Для ортопедии привлекательны противоположные качества имплантата.

Травмы (по количеству случаев) стабильно делят с онкологическими заболеваниями 2-3-е место в мире после сердечно-сосудистой патологии. Особенность костной ткани связана с постоянным ремоделированием (физиологической регенерацией) в течение всей жизни, наличием твердого минерального (неорганического) матрикса, состоящего из разновидностей фосфатов кальция, в основном гидроксилатапата и трикальций фосфата (Ригз, Мелтон, 2000). Производство биологических и синтетических фосфатов кальция позволило далеко продвинуться в биоинженерии кости по сравнению с другими компартаментами организма.

Современным методом выбора ортопедов и травматологов при повреждениях и заболеваниях кости уже более 100 лет является чрескостный, на костный и интрамедуллярный остеосинтез. Выделяют несколько под-

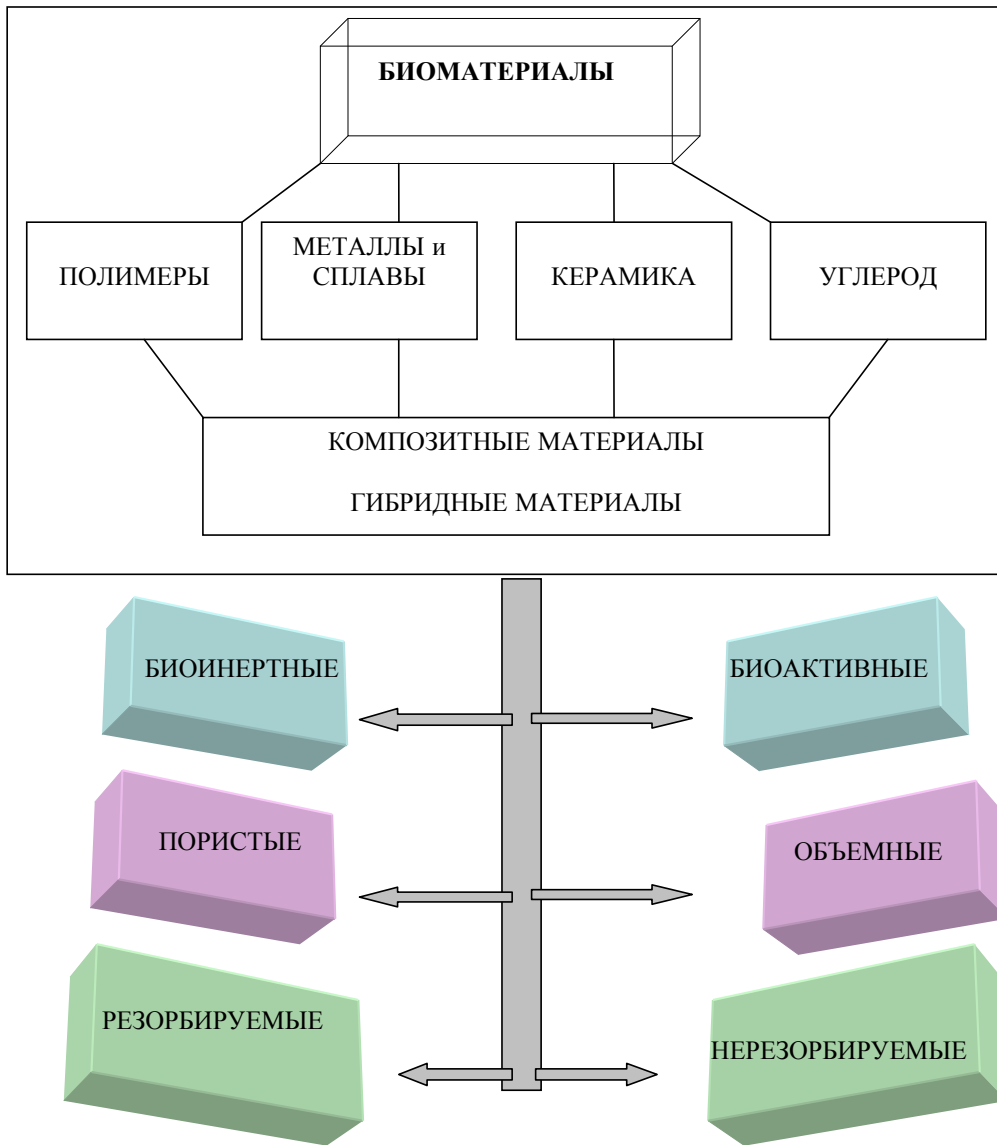


Рис. 1. Основные виды материалов и имплантатов для биологии и медицины

ходов к репаративной регенерации костной ткани (Карлов, Шахов, 2001): 1) аппаратный (конструкционный); 2) материаловедческий; 3) биоинженерный; 4) комбинированный.

В 1951 г. Г.А. Илизаров предложил и внедрил в клиническую практику метод компрессионно-дистракционного остеосинтеза, осуществляемого посредством спицевых аппаратов внешней фиксации, в которых роль внешней рамки выполняли кольца. Более 90 % всех современных аппаратов применяют идеологию или технические решения, разработанные Г.А. Илизаровым.

Выбор подходящего материала для изготовления конкретного имплантата, в том числе для регенерации костной ткани, основан на знаниях в области медицинского материаловедения, биоинженерии и лечебного дела, на прохождении большого количества разрешительных этапов до внедрения в клинику. Материал должен использоваться в таком режиме, чтобы живая ткань «защищала» (экранировала) имплантат. Причина в том, что биологические ткани могут регенерировать, имплантаты изнашиваются. Относительное увеличение нагрузки в результате неправильного использования имплантата может возрасти в 2-4 раза, что приводит к ускорению изнашивания и повреждению материала.

В связи с этим большую роль в биоинженерии играет биомеханика – раздел биофизики (теоретической и прикладной механики), изучающий механические аспекты строения и функционирования биологических систем и их взаимодействия с окружающей средой. Одним из современных путей улучшения функциональности изделия (его биомеханики и биосовместимости) является создание разнообразных композитных материалов с учетом соответствия их механических характеристик свойствам живых тканей. Биоконпиты состоят из двух или нескольких биосов-

местимых материалов, которые принадлежат к разным группам, с условием объединения их достоинств для приближения к биологической ткани по основным механическим, физическим и химическим свойствам (von Recum, 1986; Карлов, Шахов, 2001).

Другим перспективным направлением усиления структурно-функциональных свойств биомедицинских изделий представляются нанотехнологии, которые European Technology Platform on NanoMedicine (2005) формулируются как проектирование, определение характеристик, производство и применение структур, устройств и систем с формой и размером в нанометровом (10^{-9} м) масштабе. Термин «нанотехнология» был введен в практику Норио Танигучи (Токийский университет, Япония) в 1974 г. (Gordon, Sagman, 2003).

После периода головокружения от возможных перспектив нанотехнологий как самостоятельного раздела науки наступил этап их возможного практического приложения, в том числе в биологии и медицине (нанобиотехнология, наномедицина). Проведенный предварительный анализ 100 лучших публикаций в области наномедицины за 2007 г. в журналах с высоким уровнем цитируемости (в частности, «Science») позволил установить распределение по темам (табл. 2) и процент наночастиц, упоминаемых в статьях (табл. 3).

Согласно табл. 2, современная наномедицина сосредоточена, прежде всего, на создании материально-технической базы (приборы, методы выделения, анализ и детекция наночастиц). Применение нанотехнологий в биомедицине составляет гораздо меньший процент публикаций. Одним из объяснений, на наш взгляд, является сложность наночастиц и живых организмов для изучения их взаимодействия.

Так, И.А. Хлусовым и др. (2008) было изучено *in vitro* влияние ферритмагнитных

Таблица 2. Распределение публикаций в области наномедицины в 2007 г.

№ пп	Название темы	%
1	Аналитические технологии (методики и приборы) на основе наночастиц и исследования (совершенствование приборной базы) самих наночастиц и молекул: масс-спектрометрия; электрохимия, электрохимическая микроскопия, потенциометрия; микроэлектродная техника; рамановская спектроскопия; колориметрия; магнитофорез и др.	26
2	Детекция и анализ нуклеиновых кислот и их свойств	13,5
3	Детекция и анализ биомолекул, клеток и их свойств (кроме ДНК), включая иммуноанализ	13
4	Биосенсоры	13
5	Наночастицы как системы доставки лекарств и биомолекул	11
6	Улучшение качества и создание новых средств видеоизображений рецепторов, клеток и тканей	6,5
7	Применение наночастиц в биомедицине	5
8	Флюоресценция наночастиц	1
9	Детекция микробов и бактерий	2,5
10	Выделение молекул	1
11	Наносорбенты	1
12	Свойства наночастиц в жидкости, наноструктурные жидкости	2,5
13	Манипуляции с клетками, включая метки	1,5
14	Взаимодействие наночастиц, наноструктурных поверхностей и молекул	2,5

Таблица 3. Процент упоминаний наночастиц в публикациях 2007 г. по наномедицине

№ пп	Название	%
1	Золото	50
2	Органические частицы (липиды, полимеры)	15
3	Кремний	11
4	Серебро	8
5	Платина	5,5
6	Магнитные наночастицы	5,5
7	Технеций	2,5
8	Углерод	2,5

наночастиц в дозе 3 мг/л на колониеобразующую способность костно-мозговых прекурсоров гранулоцитопоза и моноцитопоза в постоянном магнитном поле с напряженностью 200 Эрстед. Исследовались порошки, полученные методами электрического взрыва проводников (магнетит Fe_3O_4 и смесь гематита $\alpha-Fe_2O_3$ с магнетитом) или механохимического синтеза (кобальтовый феррит $CoFe_2O_4$). Электронная микроскопия показала средний диаметр частиц в диапазоне 6-65 нанометров. Была выявлена специфическая активность нанопорошков в отношении функциональных свойств кроветворных и стромальных клеток, не связанная с их растворением, тем не менее, имеющая сложную природу. Она зависит от размеров и магнитных характеристик частиц самих порошков, режима и дозы их введения, наличия внешнего магнитного поля. Кроме того, в многоклеточных системах нельзя исключить реакцию коммитированных клеток-предшественников гемопоэза, опосредованную через клетки (факторы) микроокружения, состояние которых у различных индивидуумов и в различных условиях жизнедеятельности весьма изменчиво.

В связи с известной токсичностью наночастиц (Oberdorster et al., 2005) и недостаточными фундаментальными обобщениями их роли в экосистеме, текущими направлениями их использования можно считать нанодиагностику (контрастирование биологических объектов), борьбу с заболеваниями, вызываемыми инфекционными агентами (например, синдром приобретенного иммунодефицита человека), опухолевую патологию.

В связи с разнообразием механизмов неоплазии существуют и различные подходы к противоопухолевой терапии. Одним из наиболее старых методов лечения злокачественных опухолей является биотерапия – метод

лечения рака путем активизации естественных защитных механизмов или введения естественных полимерных молекул (цитокинов, факторов роста) и антигенов (Моисеенко, 1998), который включает, главным образом, иммунотерапию (Моисеенко и др., 1999).

Из наиболее ранних клинических работ заслуживают внимания исследования В. Коли (Coley, 1893), который назначал как системно, так и локально «токсины Коли» (экстракты убитых грампозитивных и грамотригативных бактерий) различным опухолевым больным с приличным терапевтическим эффектом. С современных позиций эффективность метода неспецифической иммунотерапии, предложенного В. Коли, была связана с продукцией коктейля провоспалительных цитокинов, основным из которых был фактор некроза опухоли (ФНО) (Файерс, 2002).

Дальнейшее развитие биотерапии затормозилось вследствие совершенствования хирургических, радиотерапевтических и химиотерапевтических методов лечения опухолевых заболеваний. Тем не менее, интерес к наполовину забытому способу снова возрос по следующим причинам (Моисеенко, 1998): новые достижения в области генетики, молекулярной и клеточной биологии; углубление знаний в области регуляции клеточного цикла; выявление онкогенов, опухолесупрессорных генов, пептидных факторов роста, новые сведения о механизмах экспрессии генов; развитие биотехнологического синтеза молекул для регуляции биологических процессов *in vivo*; малая эффективность существующих методов терапии при запущенных формах онкологических заболеваний (Давыдов и др., 2004).

С 80-90-х гг. XX в. разрабатываются следующие биотерапевтические подходы к системному и регионарному лечению онкологических заболеваний (де Вит и др., 2002):

- 1) применение эритропоэтина и колониестимулирующих факторов (КСФ);
- 2) использование интерлейкинов (ИЛ-2,4,6,12);
- 3) применение цитокинов (фактор некроза опухоли ФНО, интерфероны (ИФН)- α , β , γ) в моно- и комбинированном вариантах;
- 4) адоптивная клеточная (иммуно)терапия;
- 5) терапия моноклональными антителами;
- 6) вакциноterapia (адьюванты, целые клетки, онколизаты, опухолевые антигены);
- 7) генотерапия (генетически модифицированные стволовые клетки или лимфоциты, гены самоуничтожения, прямой перенос генов, антисмысловые олигонуклеотиды, генетическая модификация опухолей);
- 8) другие методы биотерапии (иммуномодуляторы, индукторы интерферона, левамизол, индукторы клеточной дифференцировки, тамоксифен, тимозин, липосомальные системы доставки лекарств).

Так или иначе, основной точкой приложения биотерапии при опухолевых заболеваниях является иммунная система. В связи с этим В.М. Моисеенко (1998) выделяет:

- 1) методы, направленные на активизацию естественного противоопухолевого иммунитета (активная иммунотерапия): а) неспецифическая иммунотерапия – наиболее раннее и крупное направление, включающее в том числе индукцию активного воспаления, неспецифическую вакцинацию, местное и системное использование иммуномодуляторов (например, БЦЖ), цитокинов и ростовых факто-

ров, левамизола (декариса), высоких доз антиэстрогенов; б) специфическая иммунотерапия (вакциноterapia); в) генная терапия;

- 2) методы пассивной иммунотерапии (в основном, назначение моноклональных антител).

Многообразие биологических методов лечения онкологических заболеваний, разрабатываемых в последние 20-25 лет или уже применяющихся в клинике, рассмотрим в данном обзоре в приложении, в большей степени, к злокачественным эпителиальным новообразованиям желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Следует подчеркнуть, что методы биотерапии опухолевых заболеваний пищеварительного тракта плохо разработаны, до настоящего времени незначительное число разработок дошло до клинических приложений.

Исторически это связано с тем, что хирургический метод лечения рака пищеварительного тракта и по настоящее время считается «золотым стандартом» терапии. Тем не менее, неудовлетворенность врачей результатами лечения (Давыдов и др., 2004; Das, Ajani, 2005) обуславливает актуальность и перспективность поиска новых направлений. Другим объяснением служит вторичный иммунодефицит, характерный для онкологических пациентов, включая страдающих раком ЖКТ (Aloysius et al., 2006), и проявляющийся снижением морфофункциональной активности Т-лимфоцитов, естественных киллеров (ЕК-клеток), системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ), лимфокинактивированных киллерных (ЛАК) клеток и других элементов, отвечающих за развитие противоопухолевой защиты.

Обобщая изложенное выше, на рубеже XXI столетия В.М. Моисеенко и др. (1999) заключили, что основные механизмы иммунодефицита при опухолевой патологии таковы:

1) недостаточная иммуногенность опухолевого антигена; 2) способность опухоли вызывать местную или системную иммуносупрессию со снижением активности клеточного иммунитета; 3) нарушение механизмов презентации антигенов Т-лимфоцитам от антигенпрезентирующих клеток. Большинство существующих в настоящее время методов лечения онкологических заболеваний (облучение, химиотерапия, массивные оперативные вмешательства) также индуцируют клеточную иммуносупрессию (Гарин, Базин, 2003).

В связи с этим, начиная с сообщения И. Ярон и соавторов (Yron et al., 1980), получила доклиническое развитие адоптивная клеточная терапия (АКТ) рака – одна из форм пассивной иммунизации больного посредством переноса клеток, обладающих многосторонним противоопухолевым эффектом. Механизм АКТ включает: 1) прямое уничтожение клеток-мишеней; 2) опосредованное влияние через секрецию тумороцидных молекул и выделение субстанций, активирующих обновление (рекрутинг) иммунокомпетентных клеток организма. В основе лежит представление о том, что злокачественные клетки несут поверхностные антигены, отличные от нормальных детерминант, которые могут распознаваться клетками иммунной системы (Топейлиен, 2002).

Согласно положениям АКТ, аутологичные или сингенные иммунокомпетентные клетки активируются *ex vivo* и возвращаются в организм хозяина, часто в сочетании с другими терапевтическими агентами. Выделяют несколько направлений применения АКТ (Топейлиен, 2002): 1) неспецифические лимфокинактивированные клетки-киллеры (ЛАК-клетки), которые обладают широким спектром активности, действуют против как аутологичных, так и аллогенных опухолей,

несовместимых по главному комплексу гистосовместимости (ГКС); 2) специфические клетки против аутологичных и совместимых по ГКС аллогенных опухолей: а) сенсibilизированные *in vitro* (СИБ) лимфоциты; б) инфильтрирующие опухоль лимфоциты (ИОЛ).

ЛАК-феномен опосредуется различными типами моноклеарных клеток периферической крови человека (Т-, В- и нуль-клетками). В то же время большая часть наиболее активных ЛАК-предшественников находится в популяции нуль-клеток, обладающих, до контакта с ИЛ-2, фенотипом ЕК-клеток CD3-, CD16+, CD11b+, CD56+, CD57+. Подобные ЛАК-клетки после 5-дневной инкубации *in vitro* с рекомбинантным ИЛ-2 при соотношении эффекторы/мишени 40:1 обладали 62-78 % способностью уничтожать свежeweделенные опухолевые клетки рака толстой кишки, надпочечников либо пищевода человека. В отношении рака поджелудочной железы литическая эффективность оказалась гораздо ниже (28 %). При этом свежие лимфоциты периферической крови не демонстрируют подобные результаты.

СИБ-лимфоциты получают путем их культивирования совместно с цельными опухолевыми клетками или очищенными опухолевыми антигенами. В клинических исследованиях лимфоидные клетки выделяют от опухолевых больных. Иммунизация клеток *ex vivo* помогает преодолеть иммуносупрессивное действие опухоли на лимфоциты в организме-опухоленосителе. Более того, сенсibilизация *in vitro* способствует развитию вторичного иммунного ответа в контролируемых условиях, чтобы получить оптимальный терапевтический эффект. Однако не существует корреляции между противоопухолевой активностью СИБ-лимфоцитов, достигнутой *in vitro* и *in vivo*, что не позволяет считать данную методику технологичной.

Большая часть работ по изучению СИБ-клеток человека была проведена на материале, полученном от больных меланомой, что может быть связано с высокой иммуногенностью ее антигенов. Клиническое применение СИБ-лимфоцитов для терапии раковых больных ограничено длительностью (1-10 мес и более) и сложностью процедуры культивирования. Кроме того, существуют более простые способы получения клеток, специфически сенсibilизированных к опухоли *in situ*, получивших название «инфильтрирующие опухоль лимфоциты» (ИОЛ).

ИОЛ находятся в солидных опухолях и могут расти *in vitro* при стимуляции ИЛ-2. Они премированы антигеном аутологичной опухоли, но не способны ее элиминировать *in situ* вследствие своей малочисленности или иммуносупрессивного действия опухолевой ткани. Выделение и культивирование ИОЛ *in vitro* позволяет получить значительную массу клеток, потенциально пригодных для адоптивной иммунотерапии. Самые разные опухоли человека имеют лимфоидные инфильтраты, состоящие преимущественно из активированных CD8⁺ Т-клеток (фенотип киллеров/супрессоров), несущих HLA-DR антигены класса II, рецепторы трансферрина и ИЛ-2. В периферической крови преобладают нативные Т-хелперы с фенотипом CD4⁺. Таким образом, ИОЛ отличаются от лимфоцитов вне опухолевых очагов, идентифицируются как активированные иммунные клетки.

Экспериментальные данные, полученные на мышах, показали, что *in vivo* ИОЛ обладают более высокой и иммунологически специфичной противоопухолевой активностью по сравнению с ЛАК-клетками. Это позволило приступить к клиническим исследованиям. ИОЛ из неоплазм практически любого гистологического строения можно получить простым способом, культивируя суспензии

опухолевых клеток из первичного узла или метастазов в присутствии ИЛ-2 (Topalian et al., 1987). При этом ИОЛ фенотипически принадлежали к CD8⁺- и CD4⁺-эффекторам. Тем не менее, только в отдельных случаях обнаруживалась специфичность действия ИОЛ по отношению к аутологичной опухоли толстой кишки (Vose, White, 1983). Большинство культур этих клеток, за исключением выделенных из меланом, лизировали разнообразные опухоли-мишени и нормальные клетки подобно ЛАК-клеткам (Топейлиен, 2002). Характеристика лимфоидных клеток человека, активных *in vitro* в отношении злокачественных опухолей, представлена в табл.4.

Проведенные в 80-х гг. XX в. исследования показали, что большие дозы (10^8 - 10^{11}) лимфоцитов, активированных *in vitro*, безопасны для опухолевых пациентов, сопровождаются незначительными побочными эффектами (Розенберг, 2002). Это позволило вести клинические испытания, эффективные, в основном, при злокачественной меланоме. В отношении других опухолей, особенно опухолей ЖКТ, существуют разрозненные сведения клинического использования адоптивной терапии.

Так, применение комбинированной схемы лечения ЛАК-клетками с непрерывной инфузией ИЛ-2 у 30 пациентов с колоректальным раком только в 17 % случаев позволило добиться полного или частичного эффекта длительностью 6-11 месяцев (Розенберг, 2002). Некоторые ранние результаты ЛАК-терапии колоректального рака (КРР) и рака толстой кишки (РТК) отражены в табл.5.

Согласно рекомендациям ВОЗ, полным эффектом считается исчезновение всех поражений, клиническая ремиссия, частичным – большее или равное 50 % уменьшение всех или отдельных опухолей/отсутствие прогрессирования других очагов. Минимальная необходимая продолжительность лечебного

Таблица 4. Лимфоциты человека, применяемые в адоптивной иммунотерапии злокачественных опухолей согласно С.Л. Топейлиен (2002)

Тип клеток	ЛАК-клетки	СИБ-клетки	ИОЛ
Источник клеток	лимфоциты крови, лимфоидных органов	лимфоциты крови, лимфоциты лимфоузлов	опухоли
Условия культивирования			
Стимуляция опухолью	не требуется	повторный фидинг клетками инактивированной аутологичной опухоли или ее антигенами	клетки опухоли присутствуют в культуре, повторная стимуляция не требуется
ИЛ-2	высокие дозы	низкие дозы	высокие дозы
Клетки-фидеры	не требуются	В-клеточные линии	не требуется
Срок культивирования	3-5 дней	более 4 недель	более 4 недель
Цитолитическая активность in vitro			
Специфичность	отсутствует	ограничена аутологичной опухолью (показано в основном для меланомы)	ограничена аутологичной опухолью (показано в основном для меланомы)
Фенотип эффекторов	CD11b+, CD16+, CD56+, CD3+ или CD3-	CD3+, CD8+ или CD4+	CD3+, CD8+ или CD4+

Таблица 5. Результаты адоптивной терапии больных с запущенными опухолями в 1988-1991 гг. согласно С.А. Розенберг (2002)

Доза и схема системного введения ИЛ-2	Среднее число ЛАК-клеток	Диагноз	Результат			
			Число больных	Полная реакция (ПР)	Частичная реакция (ЧР)	ПР+ЧР, %
30x10 ³ ЕД/кг каждые 8 ч	4,3x10 ¹⁰	КРР	4	0	0	0
106 ЕД/м ² каждые 8 ч	3,4x10 ¹⁰	КРР	4	0	0	0
1-7x10 ⁶ ЕД/м ² в день, непрерывная инфузия	-	РТК	13	0	0	0
1-5x10 ⁶ ЕД/м ² в день, непрерывная инфузия	5,6x10 ⁹	КРР	1	0	1	100
105 ЕД/кг каждые 8 ч	5,1x10 ¹⁰	КРР	19	1	2	16

Примечание: ПР – полная реакция, ЧР – частичная реакция; КРР – колоректальный рак; РТК – рак толстой кишки.

эффекта должна составлять 4 недели (Давыдов, 2004).

В крови больных, пролеченных ЛАК/ИЛ-2, обнаруживается повышенное число CD3-негативных цитолитических клеток, что может быть связано с рекрутингом иммунокомпетентных клеток организма. Однако корреляционные связи между эффективностью иммунотерапии, числом трансплантированных клеток, лабораторными показателями, возрастом, полом и статусом жизнедеятельности больных не установлены (Розенберг, 2002).

При системном назначении ЛАК-клеток не удалось выявить их специфической миграции в опухолевую ткань. В связи с этим предпринимались попытки регионарного введения активированных лимфоцитов для повышения их концентрации в области локализации опухоли, которые можно рассматривать как перспективные. Так, инфузия ЛАК-клеток в печеночную артерию при метастазах в печени повышает число больных, реагирующих на терапию (Розенберг, 2002). Но для однозначного заключения требуется проведение сравнительных исследований с общепринятым введением (табл. 5).

Поскольку предложенные в 80-90-х гг. XX в. схемы клеточной иммунотерапии оказались эффективны преимущественно при меланоме, были обозначены следующие возможные направления поиска для лечения других злокачественных новообразований (Розенберг, 2002): 1) использование клеток лимфатических узлов, сенсibilизированных опухолевыми клетками *in vitro*; 2) применение лимфоцитов, активированных *in vitro*: моноклональными антиCD3-антителами, суперантигенными стафилококковыми токсинами, активаторами протеинкиназ, Ca²⁺-ионофорами, специфическими опухолевыми антигенами или иммунопептидами; генети-

ческая модификация лимфоцитов (экспрессия генов ФНО, ИФН, ИЛ-2 и его рецепторов); 3) иммунизация больных специфическими опухолевыми генами или их продуктами (антигенами) для увеличения числа иммунокомпетентных предшественников с противоопухолевой активностью.

В последние годы биологические агенты все активнее применяются в онкологии (Des Guetz, 2005; Hauteville, 2006). В связи с этим анализ 100 случайно выбранных публикаций за 2004-2007 гг. по клиническим аспектам иммунотерапии рака пищеварительного тракта показал, что и в настоящее время основные надежды биотерапии связаны с вакцинотерапией (31 %), прежде всего, с использованием лимфоцитов и дендритных клеток, генотерапией и онколитическими вирусами (29 %), применением цитокинов (16 %) и моноклональных антител (13 %), поиском новых мишеней и прогностических маркеров при проведении иммунотерапии (11 %).

Использование цитокинов усиливает клеточный иммунитет, однако их противоопухолевая эффективность дискутируется (Oosterling et al., 2006; Romano et al., 2006). Только два специфических моноклональных антитела против эпидермального фактора роста, фактора роста эндотелия сосудов и их рецепторов удалось довести до III фазы клинических испытаний (Schimanski et al., 2006). Испытания различных вариантов генной и вирусной терапии, несмотря на специфичность и терапевтический потенциал, далеки до завершения (Morse, 2005; Sutter, Fechner, 2006; Vogiatzi et al., 2006).

Таким образом, вакцинотерапия на протяжении 20-25 лет также остается многообещающим направлением клинической биотерапии рака ЖКТ (Mocellin, Campana, 2005) с огромным теоретическим потенциалом. Но режимы вакцинации так и не достигли доста-

точной клинической эффективности, что требует поиска новых молекулярных мишеней и разработки новых клинических протоколов (Mocellin, 2006).

Так, у 15 больных раком прямой кишки установлена *in vitro* способность клеток лимфоузлов пролиферировать и отвечать секрецией ИФН- γ на стимуляцию опухолевым гомогенатом (Marits et al., 2006). Как и полагал ранее С.А. Розенберг (2002), подобные регионарные лимфоциты могут быть полезным источником реактивных к опухоли клеток для адоптивной иммунотерапии.

ЛАК-терапия снимает также послеоперационную иммуносупрессию при эзофагальном раке за счет восстановления популяций Т-клеток с хелперным и цитотоксическим фенотипами (Yamaguchi et al., 2006). В целом индукция иммунного ответа при клиническом использовании противоопухолевых вакцин имеет место примерно у половины пациентов (Nagorsen, Thiel, 2006). Тем не менее, отмечается несостоятельность многих клинических подходов к иммунотерапии рака ЖКТ за последние 5 лет, несмотря на улучшение дизайна, производства, эффективности и безопасности вакцин (Hanna et al., 2006).

Так, лишь отдельные сообщения описывают позитивный клинический ответ при ЛАК-терапии. Например, Дж. Джайнг с соавторами (Jiang et al., 2006) использовали аутологичные цитокин-индуцированные киллеры (CD3+CD56+) для совместного с химиотерапией лечения 57 пациентов с раком желудка IV стадии. Обработанные *in vitro* клетки наиболее активно пролиферировали и проявляли цитотоксическую активность к 14-21 дням культивирования. При их обратной трансфузии пациентам, по сравнению с одной химиотерапией, отмечалось падение уровней онкомаркеров крови MG7-Ag, CA72-4, Ca19-9 и РЭА, усиление иммунитета и краткосрочного

терапевтического эффекта, улучшение качества жизни и 2-летней выживаемости.

В основе устойчивости опухолевых клеток к иммунотерапии лежат нарастание иммунной дисфункции по мере прогрессирования опухоли (Berghella et al., 2006) и устойчивость раковых клеток к лимфоцитопосредованной цитотоксичности *in vitro* и АКТ *in vivo* (Ravi et al., 2006). Отмечаются специфические генетические изменения, приводящие к экспрессии X-сцепленного ингибитора белков апоптоза и дефекту сигнальных путей митохондриальной смерти (делеция Вах или Smac, сверхэкспрессия Bcl-x(L), запускаемой тремя ключевыми медиаторами клеточно-опосредованной цитотоксичности (гранзим В, ИФН- γ , АПО2 лиганд/ФНО-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд Apo2L/TRAIL) (Ravi et al., 2006).

Чаще стали встречаться публикации о том, что наряду с естественными киллерами (ЕК), естественными киллерными Т-клетками (ЕКТ) и цитотоксическими лимфоцитами CD8+ (ЦТЛ), важнейшими эффекторными противоопухолевыми элементами являются макрофаги и дендритные клетки (ДК) (Oosterling et al., 2006). Их дисфункция при раке не вызывает сомнения (Aloysius et al., 2006). Более того, противоопухолевые вакцины на основе ДК рассматриваются в качестве нового направления иммуноадьювантной терапии вследствие корреляции нарушений ДК со стадией, инвазией, метастазированием и прогнозом у больных раком желудка и кишечника (Wu et al., 2004).

ДК индуцируют ЦТЛ против аутологичных опухолевых клеток человека *in vitro* (Koido et al., 2005), активируют ЕК-клетки *in vitro* и *in vivo* (Osada et al., 2006). Существует возможность усиления специфического противоопухолевого иммунного ответа посредством трансдукции ДК опухолевыми

антигенами. В частности, модификация ДК рекомбинантным аденовирусом, несущим ген гепараназы, экспрессирующимся при раке желудка, опосредует *in vitro* ЦТЛ-опосредованный лизис гепараназопозитивных опухолевых линий КАТО-III и SGC-7901 (Cai et al., 2007).

Введение в клинические протоколы I-II фазы испытаний антигенпрезентирующих ДК, индуцированных *ex vivo*, позволило усилить противоопухолевый иммунитет у больных прогрессирующим раком пищеварительного тракта. Тем не менее, эффективность лечения если и улучшалась, то только у отдельных пациентов (den Brok et al., 2005; Kavanagh et al., 2007).

Считается, что в целом высокий потенциал активной специфической иммунотерапии не находит клинического подтверждения вследствие слабо отработанных режимов вакцинации (Mocellin, 2006). В связи с этим идет поиск оптимальных интервалов для введения ДК (Park et al., 2007), их активации *in situ* (den Brok et al., 2005). Раковая иммуносупрессия, приводящая *in vivo* к гипо- и анергии ЦТЛ и нарушению миграции ДК в орган-мишень, обосновала идею внутриопухолевой доставки ДК (Kanazawa et al., 2005). Однако эффективность терапии была доказана только у 3-х из 16 пациентов (19 %) (Takeda et al., 2005). В итоге, по мнению О. Праудфут и соавторов (Proudfoot et al., 2007), вакцинация ДК еще далека от терапевтического применения.

Более того, Д. Нагорсен и Е. Тиль (Nagorsen, Thiel, 2006) провели метаанализ 32 клинических результатов I/II фаз испытаний активной специфической иммунизации (аутологичные опухолевые клетки, пептидная вакцина, ДК, идиотипические антитела, вирусные вакцины) у 527 пациентов с КРР согласно критериям Всемирной организации здравоохранения. Иммунный ответ был зафиксиро-

ван приблизительно у половины пациентов: на гуморальную реакцию приходилось 59 %, на клеточную – 44 % случаев. Тем не менее, стабилизация заболевания отмечалась только у 8,3 % больных. В целом, позитивный клинический ответ (полный или частичный) на вакцинацию не превышал 1 % случаев.

Одним из сложных и нерешенных вопросов иммунотерапии, объясняющих в какой-то степени ее малую эффективность, является создание терапевтических локальных концентраций цитокинов, активированных иммунокомпетентных клеток, векторных молекул в опухолевой ткани. В этом плане эффективным направлением может оказаться применение пористых инкубаторов-носителей для клеточного материала и биологических молекул (Дамбаев и др., 2006), так называемая техника гибридных имплантатов. При этом перед имплантацией проводится индукция аутологичных лейкоцитов крови или опухолевых клеток *ex vivo* при помощи слабых электромагнитных полей и электрофореза микроэлементов (цинк, хром и др.) (Дамбаев и др., 2002; Хлусов, 2006).

Перспективность подхода показана *in vitro*, на животных и при ограниченных клинических испытаниях (Дамбаев и др., 2004). В основе механизма действия лежит несколько феноменов. С одной стороны, в ответ на искусственный материал инкубатора-носителя идет активация системы мононуклеарных фагоцитов с образованием гигантских многоядерных клеток инородных тел (Khlusov et al., 2008). Регуляторное действие электрических импульсов, помимо прямого клеточного эффекта, опосредовано через секреторную активность клеток с продукцией стимулирующих или ингибирующих цитокинов в зависимости от энергии воздействующего фактора (Хлусов, 2007). Добавление ионной (химической) компоненты, в отличие от чистого электрического

(физического) фактора, способно эффективно угнетать жизнедеятельность эпителиальных опухолевых клеток (Хлусов, 2007). Кроме того, эссенциальные микроэлементы, например цинк, оказывают системное влияние на организм (Авцын и др., 1991), контролируют активность иммунокомпетентных клеток через экспрессию генов для цитокинов, ферментов репарации ДНК, сигнальных и транспортных молекул (Fraker, King, 2004).

Мониторинг 17 показателей иммунного статуса у онкологических пациентов показал, что гибридные имплантаты обладают активными иммуномодулирующими свойствами. С 3-й недели иммунные индексы возросли и стабилизировались в течение последующих 3-6 месяцев на статистически достоверном уровне 140-160 % от опухолевого контроля. Наиболее активно (в 2-3 раза) в периферической крови повышались показатели клеточного иммунитета, в частности спонтанный НСТ-тест, число ЕК-клеток (CD16+), активных лимфоцитов (CD25+) и клеток, несущих CD95 маркер апоптоза (рис.2). Активация иммунитета сопровождалась стабилизацией процесса либо уменьшением объема и фрагментацией первичных узлов солидных опухолей, дегидратацией злокачественных клеток, что было документально зафиксировано при помощи рентгенологических, эндоскопических методов и ядерно-магнитного резонанса (Дамбаев и др., 2004).

CD95 (Fas, APO-1) является рецептором для Fas-лиганда, который принадлежит к семейству факторов некроза опухоли, обладающих цитотоксическим и противоопухолевым действием (Владимирская, 2002), примерно на 30 % гомологичен ФНО- α и ФНО- β , вырабатываемых различными клетками, включая моноциты/макрофаги, активированные Т-лимфоциты и ЕК-клетки (Файерс, 2002). CD95 присутствует на мембране активиро-

ванных Т- и В-лимфоцитов, его стимуляция приводит к антигенстимулированному апоптозу зрелых клеток (Russell et al., 1993), с одной стороны, и «обучению» тимоцитов в вилочковой железе (рекрутингу) – с другой (Watanabe-Fukunaga et al., 1992). Показана прямая корреляция экспрессии CD95 маркера на лейкоцитах крови со стадией рака желудка и кишечника (Хлусов и др., 2007а).

Рекрутинг считается одним из механизмов противоопухолевого действия иммунокомпетентных клеток организма (Топейлиен, 2002), может быть одним из путей повышения эффективности методов (иммуно)биотерапии при запущенных формах рака пищеварительного тракта. Последнее обстоятельство имеет важное клиническое значение, поскольку количество пациентов в 4-й клинической группе (подлежащих только симптоматической курации по причине запущенности опухолевого процесса) составляет до 35 % от общего числа пациентов со злокачественными заболеваниями ЖКТ (Хлусов и др., 2007б).

Таким образом, в связи с ростом заболеваемости и низкой 5-летней выживаемостью пациентов (Das, Ajani, 2005) разработка и внедрение в практику новых подходов на основе клеточных технологий и биоинженерии, поиск новых мишеней могут усилить лечебный потенциал и возобновить интерес клиницистов к (иммуно)биотерапии и иммунопрофилактике рака ЖКТ.

Согласно Г.И. Абелеву и др. (2001), с середины 60-х гг. прошлого столетия начато широкое практическое применение одного из первых видов трансплантации тканей (а именно костного мозга) пациентам с различными заболеваниями системы крови. В 1968 г. Р.Гуд и соавт. (США) была проведена успешная аллогенная трансплантация костного мозга у ребенка с врожденным иммунодефицитом. Теоретически единичная ПСКК способна

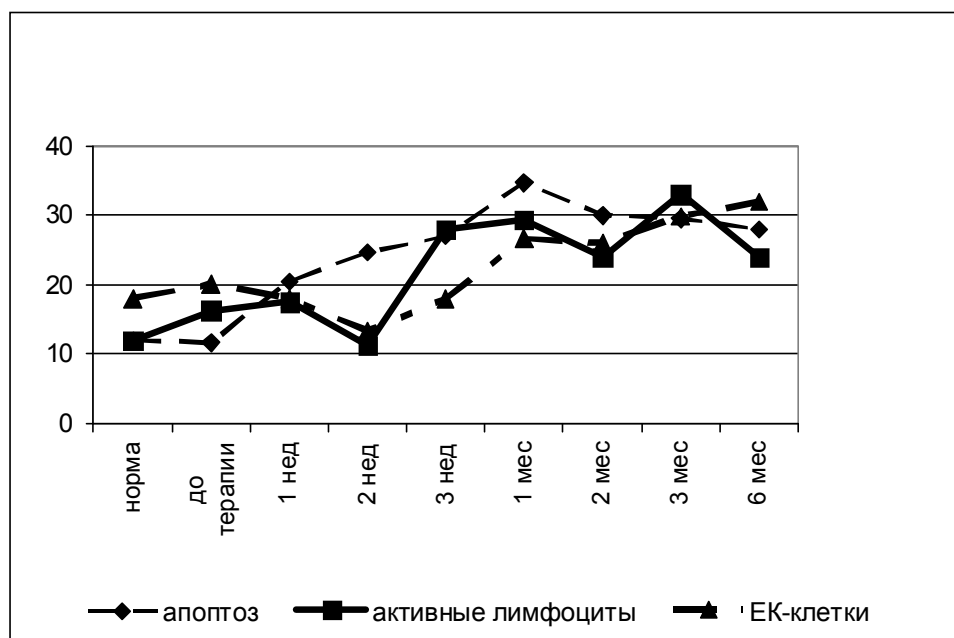


Рис. 2. Динамика изменений показателей клеточного иммунитета в крови пациентов после имплантации гибридных имплантатов: по оси абсцисс – время после имплантации; по оси ординат – % клеток

полностью восстановить функцию системы крови у смертельно облученного реципиента. Проблема в том, что число истинных ПСКК в костном мозге не превышает 0,001 % ядро-содержащих клеток. Поэтому в клинике для стабильного приживания трансплантата требуется примерно $1-3 \times 10^8$ кариотитов на 1 кг массы тела. Для этого собирают клетки с запасом, но не более 10-15 мл костного мозга/кг массы тела донора.

Показания к трансплантации клеток – генетические, врожденные и приобретенные (после воздействия вирусов, облучения, химиопрепаратов) синдромы недостаточности костного мозга (миелодиспластический синдром, нейтропении), гипопластические (Фанкони) и гемолитические анемии (талассемия), иммунодефициты, гемобласты.

Источниками для выделения и трансплантации стволовых кроветворных клеток (CD34+) являются костный мозг, лейкоцитарная взвесь периферической крови взрослых после мобилизации ПСКК (прекурсоров) из костного моз-

га (например, с помощью Г, ГМ-КСФ 10 мкг/кг в сутки 5-6 дней) или пуповинной крови.

С точки зрения иммунологии различают следующие типы трансплантации клеток и тканей: 1) аутологичная трансплантация; 2) аллогенная трансплантация; 3) изогенная трансплантация; 4) ксеногенная трансплантация (Абелев и др., 2001).

Аутологичные трансплантации (ауто-трансплантации) собственного биологического материала позволяют избежать иммунологического конфликта. С 1990 г. их выполняется больше, чем аллогенных пересадок. Причины: результат не зависит от возраста пациента (как для аллогенных трансплантаций); меньший риск острых реакций трансплантат/хозяин; менее значительная частота тяжелых инфекций после трансплантации.

Аллогенная трансплантация (алло- или гомотрансплантация) – обмен биологическим материалом между представителями одного и того же вида животных или между разными людьми, которые не являются генетически

идентичными. Успех и неудача во многом определяются степенью тканевой совместимости донора и реципиента. Так, примером гомотрансплантации служит переливание крови одной группы по системе АВ0. Тем не менее, возможен иммунологический конфликт по другим антигенам эритроцитов.

Проблема аллотрансплантации – HLA-II генотипирование донора и реципиента. Успех (одногодичная выживаемость) возрастает при правильном подборе костного мозга от неродственных доноров с 10-20 % до 70-80 %. HLA-II идентичные родственники (лучше сибсы – братья и сестры не близнецы) дают только 40 % выживаемости.

Изогенная трансплантация (изотрансплантация) осуществляется между генетически тождественными однойцевыми близнецами. При пересадке биологического материала у животных одной генетически чистой линии того же пола говорят о сингенной трансплантации.

Ксеногенная трансплантация (ксено- или гетеротрансплантация) – это пересадка тка-

ней, клеток и органов разных биологических видов.

Несмотря на явные успехи трансплантации гемопоэтических клеток, преодоление тканевой несовместимости (индукция толерантности) считается важнейшей задачей в успешной пересадке клеток, тканей и органов. В настоящее время преобладает грубое подавление иммунологической реактивности организма реципиента с помощью различных иммунодепрессантов (циклоспорин А, цитостатические препараты, антилимфоцитарная сыворотка, облучение γ -лучами и рентгеновскими лучами). Возникает много побочных эффектов, включая риск онкологических заболеваний, ограничивающих эффективность трансплантации.

В связи с этим задача создания иммунологической устойчивости (толерантности) организма-хозяина (реципиента) к трансплантируемым тканям (органам) является заманчивой, но до сих пор нерешенной задачей клеточных технологий и биоинженерии тканей.

Список литературы

Абелев Г.И., Андреева Н.Е., Афанасьев Б.В. и др. (2001) Клиническая онкогематология: Руководство для врачей. М., Медицина, 576 с.

Авцын А.П., Жаворонков А.А., Сирочкова А.С. (1991) Микроэлементозы человека: Этиология, классификация, органопатология. М., Медицина, 495 с.

Биологические методы лечения онкологических заболеваний. (2002). Де Вит В.Т., Хеллман С., Розенберг С.А. (ред.). М., Медицина, 936 с.

Васин С.Л., Немец Е.А., Перова Н.В. и др. (1999) Биосовместимость. Севостьянов В.И. (ред.). М., Издательство ИЦ ВНИИГеосистем, 368 с.

Владимирская Е.Б. (2002) Механизмы апоптотической смерти клеток. Гематология и трансфузиология. 2: 35-40.

Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б. (1985) Клетки костного мозга и периферической крови. М., Медицина, 288 с.

Гарин А.М., Базин И.С. (2003) Злокачественные опухоли пищеварительной системы. М. Информедиа Паблишерз, 264 с.

Гольдберг Е. Д., Дыгай А. М., Зюзьков Г.Н. (2006) Гипоксия и система крови. Томск, Издательство Томского университета, 142 с.

Дамбаев Г.Ц., Агафонников В.Ф., Хлусов И.А., Загребин Л.В. (2002) Регулятор роста клеток *in vitro* и способ регуляции роста клеток *in vitro*: Патент РФ № 2179578.

Дамбаев Г.Ц., Гюнтер В.Э., Хлусов И.А. и др. (2004) Новые технологии в лечении онкопатологии. Бюллетень СО РАМН. 2: 67-73.

Дамбаев Г.Ц., Гюнтер В.Э., Загребин Л.В., Хлусов И.А. (2006) Способ лечения онкозаболеваний: Патент РФ на изобретение № 2285548.

Захаров Ю.М., Мельников И.Ю. (1984) О роли межклеточных взаимодействий в регуляции эритропоэза. Успехи соврем. биологии. 1: 60-72

Карлов А.В., Шахов В.П. (2001) Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики. Томск, Scientific & Technical Translations, 480 с.

Коноплянников А.Г. (1984) Радиобиология стволовых клеток. М., Энергоатомиздат, 120 с.

Моисеенко В.М. (1998) Биотерапия солидных опухолей. Вопросы онкологии. 1: 120-127.

Моисеенко В.М., Балдуева И.А., Хансон К.И. (1999) Вакциноterapia злокачественных опухолей. Вопросы онкологии. 3: 327-332.

Павлов А.Д., Морщакова Е.Ф. (1987) Регуляция эритропоэза: Физиологические и клинические аспекты. М. Медицина, 272 с.

Риггз Б. Л., Мелтон Л.Дж. (2000) Остеопороз: этиология, диагностика, лечение. Спб., БИНОМ, 558 с.

Розенберг С.А. (2002) Адоптивная иммунотерапия: клиническое применение. В: де Вит В.Т., Хеллман С., Розенберг С.А. (ред.). Биологические методы лечения онкологических заболеваний. М., Медицина, с. 504-522.

Ругаль В.И., Блинова Т.С., Пономаренко В.М., Абдулкадыров К.М. (1991) Ультраструктурная организация кроветворного микроокружения костного мозга человека. Гематол. и трансфузиол. 3: 11-15.

Скофилд Р., Декстер Т.М. (1982) Самоподдержание кроветворных клеток-предшественников. Проблемы гематол. и переливания крови. 7: 13-18.

Сухих Г.Т. (1998) Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее. Бюлл. эксперим. биол. и мед. Прил.1: 3-13.

Терских В. В., Васильев А.В. (2001) Стволовые клетки эпидермиса. Известия РАН. Серия биологическая. 6: 738-744.

Топейлиен С.Л. (2002) Адоптивная клеточная терапия: преклинические исследования. В: де Вит В.Т., Хеллман С., Розенберг С.А. (ред.). Биологические методы лечения онкологических заболеваний. М., Медицина, с. 484-503.

Файерс У. (2002) Биологические методы лечения фактором некроза опухолей: преклинические исследования. В: де Вит В.Т., Хеллман С., Розенберг С.А. (ред.). Биологические методы лечения онкологических заболеваний. М., Медицина, с.309-343.

Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А. (1980) Клеточные основы кроветворного микроокружения. М., Медицина, 216 с.

Хлусов И.А. (2006) Способ обработки клеток *in vitro*: патент РФ на изобретение № 2290219.

Хлусов И.А. (2007) Возможности физико-химической регуляции пула стволовых клеток. Бюллетень сибирской медицины. 1: 7-12.

Хлусов И.А., Некрасова А.М., Севостьянова Н.В. и др. (2007а) Лабораторные показатели как патогенетические маркеры прогрессирования рака пищеварительного тракта. Якутский медицинский журнал. 4: 46-51.

Хлусов И.А., Некрасова А.М., Слепченко Г.Б. и др. (2007б) Баланс микроэлементов и показатели гомеостаза как прогностические критерии при прогрессировании рака пищеварительного тракта. Сибирский онкологический журнал. 4: 72-81.

Хлусов И.А., Загребин Л.В., Шестов С.С. и др. (2008) Колониеобразующая активность унипотентных кроветворных прекурсоров при воздействии *in vitro* наноразмерных ферритов в постоянном магнитном поле. Клеточные технологии в биологии и медицине. 1: 45-51.

Чертков И.Л., Фриденштейн А.Я. (1977) Клеточные основы кроветворения. М., Медицина, 272 с.

Чертков И.Л., Дризе Н.И., Воробьев АИ. (2006) Схема кроветворения: 2005. Терапевтический архив. 7: 5-12.

Шахов В.П., Хлусов И.А., Дамбаев Г.Ц. и др. (2004) Введение в методы культуры клеток, биоинженерии органов и тканей. Томск, Scientific & Technical Translations, 386 с.

Шубникова Е. А. (1996) Эпителиальные ткани. М., Издательство МГУ, 25 с.

Энциклопедия клинической онкологии. Давыдов М.И. (ред.). М., Медицина, 1456 с

Aloysius M.M., Takhar A., Robins A., Eremin O. (2006) Dendritic cell biology, dysfunction and immunotherapy in gastrointestinal cancers. Surgeon. 4: 195-210.

Berghella A.M., Contasta I., Pellegrini P. et al. (2006) Are immunological mechanisms involved in colon cancer and are they possible markers for biotherapy improvement? Cancer Biother. Radiopharm. 21: 468-487.

Bessis M. (1958) L'«ilot erythroblastique, unite fonctionelle de la moelle osseuse. Rev.Hematol. 13: 8-12.

Blackett N.M., Botnick L.E. (1981) A regulatory mechanism for the number of pluripotential haemopoietic progenitor cells in mice. Blood Cells. 7: 417-426.

Cai Y.G., Fang D.C., Chen L. et al. (2007) Dendritic cells reconstituted with a human heparanase gene induce potent cytotoxic T-cell responses against gastric tumor cells *in vitro*. Tumour Biol. 28: 238-246.

Crocker P.R., Gordon S. (1985) Isolation and characterization of resident stromal macrophages and hematopoietic cell clusters from mouse bone marrow. J.Exp.Med. 162: 993.

Curry J.L., Trentin J.J. (1967) Hemopoietic spleen colony studies. I. Growth and differentiation. Developmental Biol. 15: 395-413.

Das P., Ajani J.A. (2005) Gastric and gastro-esophageal cancer therapy. Expert Opin. Pharmacother. 6: 2805-2812.

Den Brok M.H., Nierkens S., Figdor C.G. et al. (2005) Dendritic cells: tools and targets for antitumor vaccination. Expert Rev. Vaccines. 4: 699-710.

Des Guetz G. (2005) Biotherapy in colorectal cancer. J. Chir (Paris). 142: 291-296.

European Technology Platform on NanoMedicine (2005) Nanotechnology for Health. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities, 37 p.

Fliedner T.M., Calvo W. (1978) Hematopoietic stem-cell seeding of a cellular matrix: A principle of initiation and regeneration of hematopoiesis. In: Differentiation of normal and neoplastic hematopoietic cells.-Book B, Vol.5. Cold Spring Harbor Laboratory, p.757-773.

Fraker PJ, King LE. (2004) Reprogramming of the immune system during zinc deficiency. *Annu. Rev. Nutr.* 24: 277-298.

Goldwasser E. (1981) Erythropoietin and red cell differentiation. In: Cunningham D., Goldwasser E., Watson J., Fox C.F. (ed.) *Control of cellular division and development. Part A.-N. Y., Alan Liss.* p.487-494.

Gordon N., Sagman U. (2003) *Nanomedicine Taxonomy: Briefing Paper.* Canadian NanoBusiness Alliance, 27 p.

Hanna M.G..Jr, Hoover H.C. Jr., Pinedo H.M., Finer M. (2006) Active specific immunotherapy with autologous tumor cell vaccines for stage II colon cancer: logistics, efficacy, safety and immunological pharmacodynamics. *Hum. Vaccin.* 2: 185-191.

Hauteville D. (2006) Request for a compassionate use of biotherapies in oncology. *Bull. Cancer.* 93: 1152-1154.

Jiang J., Xu N., Wu C. et al. (2006) Treatment of advanced gastric cancer by chemotherapy combined with autologous cytoline-induced killer cells. *Anticancer Res.* 26: 2237-2242.

Kanazawa M., Yoshihara K., Abel H. et al. (2005) Two case reports on intra-tumor injection therapy of dendritic cells. *Gan.To Kagaki Ryoho.* 32: 1571-1573.

Kavanagh B., Ko A., Venook A. et al. (2007) Vaccination of metastatic colorectal cancer patients with matured dendritic cells loaded with multiple major histocompatibility complex class I peptides. *J. Immunother.* 30: 762-772.

Khlusov I.A., Zagrebin L.V., Shestov S.S., Naumov S.A. (2008) Physical-Chemical Manipulations with Microbial and Mammalian Cells: from Experiments to Clinics. In: Burnsidess W.B., Ellsley R.H. (eds.) *Stem Cell Applications in Disease and Health.* N.Y., Nova Science Publishers, p.29-71.

Koido S., Hara E., Homma S. et al. (2005) Dendritic cells fused with allogeneic colorectal cancer cell line present multiple colorectal cancer-specific antigens and induce antitumor immunity against autologous tumor cells. *Clin.Cancer Res.* 11: 7891-7900.

Marits P., Karlsson M., Dahl K. et al. (2006) Sentinel node lymphocytes: tumour reactive lymphocytes identified intraoperatively for use in immunotherapy of colon cancer. *Br.J.Cancer.* 94: 1478-1484.

Mocellin S., Campana L.G. (2005) Trends in colorectal cancer vaccination. *Recent Prog. Med.* 96: 338-343.

Mocellin S. (2006) New strategies to improve the efficacy of colorectal cancer vaccines: from bench to bedside. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 7: 1052-1061.

Morse M.A. (2005) Virus-based therapies for colon cancer. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 5: 1627-1633.

Muschler G.F., Nakamoto C., Griffith L.G. (2004) Engineering Principles of Clinical Cell-Based Tissue Engineering. *J. Bone Joint Surg. Am.* 86: 1541-1558.

Nagorsen D., Thiel E. (2006) Clinical and immunologic responses to active specific cancer vaccines in human colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 12: 3064-3069.

Oberdorster G., Oberdorster E., OberdorsterJ. (2005) Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect.* 113: 823-839.

Oosterling S.J., van der Bij G.J., Mels A.K. et al. (2006) Perioperative IFN-alpha to avoid surgically induced immune suppression in colorectal cancer patients. *Histol. Histopathol.* 21: 753-760.

Osada T., Clay T., Hobeika A. et al. (2006) NK cell activation by dendritic cell vaccine: a mechanism of action for clinical activity. *Cancer Immunol. Immunother.* 55: 1122-1131.

Park M.Y., Kim C.H., Sohn H.J. et al. (2007) The optimal interval for dendritic cell vaccination following adoptive T cell transfer is important for boosting potent anti-tumor immunity. *Vaccine.* 25: 7322-7330.

Proudfoot O., Pouniots D., Sheng K.C. et al. (2007) Dendritic cell vaccination. *Expert Rev. Vaccines.* 6: 617-633.

Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E. (2004) *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine.* San Diego, California, Elsevier Inc., 851 p.

Ravi R., Fuchs E.J., Jain A. et al. (2006) Resistance of cancers to immunologic cytotoxicity and adoptive immunotherapy via X-linked inhibitor of apoptosis protein expression and coexisting defects in mitochondrial death signaling. *Cancer Res.* 66: 1730-1739.

Romano F., Cesana G., Caprotti R. et al. (2006) Preoperative IL-2 immunotherapy enhances tumor infiltrating lymphocytes (TILs) in gastric cancer patients. *Hepatogastroenterology.* 53: 634-638.

Russell J.H., Rush B., Weaver C. et al. (1993) Mature T-cells of autoimmune Ipr/Ipr mice have a defect in antigen-stimulated suicide. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90: 4409-4413.

Schimanski C.C., Horner V., Kanzler S. et al. (2006) Immunotherapy of colorectal cancer-overview and perspectives. *Z. Gastroenterol.* 44: 673-681.

Schofield R. (1978) The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. A hypothesis. *Blood Cells.* 4: 7-25.

Sutter A.P., Fechner H. (2006) Gene therapy for gastric cancer: is it promising? *World J. Gastroenterol.* 12: 380-387.

Takeda T., Makita K., Okita K. et al. (2005) Intratumoral injection of immature dendritic cells (DC) for cancer patients. *Gan.To Kagaki Ryoho.* 32: 1574-1575.

Tavassoli M. (1975) Studies on hemopoietic microenvironments. *Exp. Hematol.* 3: 213-226.

Till J., McCulloch E.A. (1980) Hemopoietic stem cell differentiation. *Biochim.Biophys.Acta.* 605: 431-459.

Tong Yin, Linheng Li (2006) The stem cell niches in bone. *J. Clin. Invest.* 116: 1195-1201.

Topalian S.L., Muul L.M., Solomon D. et al. (1987) Expansion of human tumor infiltrating lymphocytes for use in immunotherapy trials. *J.Immunol. Methods.* 102: 127.

Trentin J. (1971) Determination of bone marrow stem cell differentiation by stromal hemopoietic inductive microenvironment (HIM). *Amer. J. Path.* 65: 621-628.

Vogiatzi P., Cassone M., Claudio P.P. (2006) Personalizing gene therapy in gastric cancer. *Drug News Perspect.* 19: 533-540.

Von Recum A.F. (1986) *Handbook of Biomaterials Evaluation.* New York, Macmillan Publishing Company, 611 p.

Vose B.M., White W. (1983) Tumour-reactive lymphocytes stimulated in mixed lymphocyte and tumour culture. *Cancer Immunol. Immunother.* 15: 227.

Watanabe-Fukunaga R., Brannan C.I., Copeland N.G. et al. Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediated apoptosis. *Nature.* 356: 314-317.

Wu Y., Wang L., Zhang Y. (2004) Dendritic cells as vectors for immunotherapy of tumor and its application for gastric cancer therapy. *Cell.Mol.Immunol.* 1: 351-356.

Yamaguchi Y., Hihara J., Hironaka K. et al. (2006) Postoperative immunosuppression cascade and immunotherapy using lymphokine-activated killer cells for patients with esophageal cancer: possible application for compensatory anti-inflammatory response syndrome. *Oncol. Rep.* 15: 895-901.

Yron I., Wood T.A., Spiess P.J. et al. (1980) In vitro growth of murine T cells. The isolation and growth of lymphoid cells infiltrating syngeneic solid tumors. *J. Immunol.* 125: 238.

The Items of Cell Technology and Tissue Bioengineering (Review)

Igor A. Khlusov

*Siberian State Medical University
2, Moskovckii trakt av., Tomsk, 634050 Russia*

Cell technology, bioengineering technology, nanotechnology and nanomaterials, technology of biocompatible materials designing are contained in a list of critical technologies of science development in Russian Federation. Nevertheless, a lot of questions described in review didn't still hit on their basic and applied solution. Under conditions of rapid development of infrastructure of these directions there is a problem of training of competent personnel are capable to adopt and to employ multidisciplinary know-how. To some extent the material presented is contributing to solving this difficult goal.

Key words: cell technology, tissue bioengineering, nanomaterials
