

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ, ДИСКУСІЇ

О. В. Петренко¹, А. І. Яковець¹, Р. Г. Васильєв^{2,3}

¹ Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
– м. Київ, Україна,

² ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України»
– м. Київ, Україна,

³ Біотехнологічна лабораторія ilaya.regeneration, Медична компанія ilaya®
– м. Київ, Україна

УКД:617.7-007.681-092.9-06:617.73-091.8-089.843:611-018.1-018.82-085.361-036.8

РОЛЬ МУЛЬТИПОТЕНТНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН У ОФТАЛЬМОЛОГІЇ

У статті представлено результати наукового аналізу описаних у сучасній літературі досліджень щодо застосування клітинної терапії в офтальмології. На сьогоднішній день саме клітинна терапія з використанням різних типів клітин і їхніх диференційованих похідних розглядається як перспективний напрямок у лікуванні широкого спектра захворювань. Розглянуто роль мультипотентних стовбурових клітин при різноманітних патологіях органа зору. Показано, що мультипотентні стовбурові клітини – похідні нервового гребеня – є перспективним клітинним типом для розробки нових методів лікування дегенеративних захворювань сітківки ока та зорового нерва.

Ключові слова: мультипотентні стовбурові клітини, захворювання зорового нерва та сітківки, глаукома.

Розвиток нового наукового напрямку регенеративної медицини пов'язаний з широким впровадженням у клінічну практику методів клітинної терапії для лікування ряду запально-дегенеративних захворювань, в тому числі і патології ока. На сьогоднішній день клітинна терапія з використанням стовбурових клітин розглядається як невичерпне джерело отримання нових методик у лікуванні широкого спектра захворювань. У медичній практиці в усьому світі вже застосовують клітинну терапію при комплексному лікуванні в кардіології, неврології, ортопедії, ендокринології, дерматології і косметології. Перспективи клінічного застосування стовбурових клітин практично безмежні. Стовбурові клітини пропонують можливість відновлювального джерела клітин і тканин для лікування безлічі захворювань, включаючи хворобу Паркінсона, аміотрофічний бічний склероз, пошкодження спинного мозку, опіки, захворювання серця, діабет та артрит. [21, 22].

Досягнення в галузі регенеративної медицини і клітинної терапії ґрунтуються на унікальних власти-

востях стовбурових клітин, включаючи здатність до самовідновлення і можливість диференціювання в специфічні види клітин, що служить підставою їхнього застосування для регенерації пошкоджених тканин і органів [12–14].

Останні досягнення сучасної біотехнології та генної інженерії готують світову науку в сфері лікування до великого прориву в історії медицини: за допомогою пересадки стовбурових клітин створюється можливість виліковувати найважчі захворювання. На даний час трансплантація мезенхімальних стовбурових/стромальних клітин (МСК) продемонструвала значну нейропротекторну дію при дегенеративних порушеннях центральної нервової системи. Проведено дослідження місцевої та системної трансплантації МСК та нейропротекторного ефекту [2, 10].

Стовбурові клітини – недиференційовані (незрілі) клітини, котрі наявні у багатьох видів багатоклітинних організмів, здатних до самовідновлення, утворюючи нові стовбурові клітини, та здатних ділитися

за допомогою мітозу і диференціюватися в спеціалізовані клітини, тобто перетворюватися на клітини різних органів і тканин. Людський організм містить приблизно 50 мільярдів стовбурових клітин, які регулярно оновлюються. Але з роками кількість клітин зменшується та втрачає свою універсальність, наприклад – в клітини крові вони перетворяться ще можуть, а в нервові – вже ні [7]. Коли стовбурові клітини діляться, кожна клітина має потенціал, щоб або залишатися стовбуровою клітиною, або стати ще одним типом клітини з більш спеціалізованою функцією – такою, як, наприклад м'язова клітина або клітина головного мозку.

Популяція мезенхімальних стовбурових/стромальних клітин є надзвичайно різноманітною, і її пластичні можливості до кінця не вивчені. Внаслідок цього частина авторів називає їх мезенхімальними (за походженням), інші дослідники говорять про стромальні стовбурові клітини (за їхньою основною функцією в організмі). Нещодавно був запропонований об'єднаний термін – мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини (ММСК).

У середині минулого століття в лабораторії А. Фріденштейна вперше була виділена однорідна культура мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин кісткового мозку. ММСК здатні при низькій щільності посіву утворювати клональні колонії фібробластоподібних клітин та тривалий час зберігати високу інтенсивність проліферації в культурі. Зупинка проліферації МСК завершувалася їх спонтанною диференціацією *in vitro* в клітини кісткової, жирової, хрящової, м'язової або сполучної тканини [8]. Подальші дослідження дозволили встановити остеогенний потенціал фібробластоподібних клітин строми кісткового мозку різних видів ссавців, а також їхню активність до утворення колоній. В експериментах *in vivo* було показано, що як гетеро-, так і ортотопічна трансплантація колонієутворюючих фібробластоподібних клітин завершується формуванням кісткової, хрящової, фіброзної і жирової тканин. Оскільки фібробластоподібні клітини кісткового мозку відрізняються високою здатністю до самовідновлення і багатоплановістю диференціювання, вони отримали назву мультипотентних мезенхімальних стовбурових/стромальних клітин.

Потрібно зауважити, що за 45 років фундаментальних досліджень ММСК створені реальні умови для їхнього застосування в клінічній практиці. Сьогодні вже немає ніяких сумнівів у тому, що всі тканини організму людини утворюються зі стовбурових клітин різних типів в результаті процесів проліферації, міграції, диференціювання і дозрівання.

Основним джерелом ММСК є кістковий мозок, гемопоетичні стовбурові клітини якого в організмі ссавців постійно диференціюються в клітини крові

та імунної системи, тоді як ММСК представлені нечисленною популяцією фібробластоподібних клітин строми кісткового мозку і сприяють збереженню недиференційованого стану кровотворних стовбурних клітин [13].

Іншим тканинним джерелом ММСК є жирова тканина. ММСК жирової тканини також здатні до самовідновлення та мультилінійного диференціювання в адипоцити, остеобласти та хондроцити.

Також стовбурові клітини класифікують за походженням в залежності від стадії розвитку організму на: ембріональні стовбурові клітини, фетальні стовбурові клітини та дорослі стовбурові клітини, або за здатністю до мультилінійного диференціювання – плюрипотентні стовбурові клітини, які можуть породжувати будь-який тип клітин в організмі, крім тих, які необхідні для підтримки та розвитку плоду в утробі матері; стовбурові клітини, які можуть породжувати лише невелику кількість різних типів клітин, що називаються мультипотентними; та уніпотентні – здатні до диференціювання лише в один клітинний тип [22].

Мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини (ММСК) у постнатальному періоді диференціюються за 11-ма напрямками, включаючи фіброцити, кардіоміоцити, поперечносмугасті та гладком'язові клітини, нервові (гліальні) клітини, остеоцити, хондроцити, теноцити, адипоцити, ендотеліальні клітини і стромальні елементи.

Літературні дані про перспективи клінічного застосування мезенхімальних стовбурових клітин виглядають досить оптимістично. Робляться спроби використання аутологічних кісткомозкових мультипотентних мезенхімальних клітин-попередників для лікування дегенеративних уражень суглобів. Проводяться перші клінічні випробування застосування ММСК у терапії складних переломів кістки. Аутологічні і аллогенні ММСК кісткового мозку використовуються для створення хрящової тканини з метою трансплантації при корекції дефектів суглобового хряща внаслідок травми або аутоімунних уражень. Відпрацьовуються методики клінічного застосування ММСК для усунення кісткових дефектів у дітей з тяжкою формою незавершеного остеогенезу, викликаної мутаціями гена колагену I-го типу. Після мієлоабеляції дітям-реципієнтам трансплантують кістковий мозок від HLA-сумісних здорових донорів, оскільки нефракціонований кістковий мозок може містити достатню кількість ММСК для заповнення важкого кісткового дефекту. Після трансплантації аллогенного кісткового мозку таким дітям відзначаються позитивні гістологічні зміни у трабекулярних кістках, збільшення швидкості росту і зниження частоти кісткових переломів. У окремих випадках позитивний клінічний результат досягається при пересадці близькородного аллогенного кісткового мозку і остео-

бластів. Для лікування вродженої крихкості кісток, зумовленої дисбалансом остеобластів і остеокластів у кістковій тканині, використовується трансплантація ММСК. Відновлення кісткоутворення в цьому випадку досягається за рахунок хімеризації пулу стовбурових і прогеніторних стромальних клітин у кістковій тканині пацієнтів.

Відкриття ММСК з їхніми унікальними властивостями створює нову концептуальну схему розвитку різних типів диференційованих клітин. Однак для розуміння біологічної ролі ММСК, їхньої природи, здатності до трансдиференціювання або дедиференціювання, їхнього фізіологічного значення у процесі ембріонального розвитку, постнатального росту, дозрівання й старіння, а також при захворюваннях людини необхідні подальші міждисциплінарні дослідження [9].

В останні роки проводиться чимало експериментальних досліджень та показано позитивний ефект при використанні в офтальмології різних типів стовбурових клітин [5, 16]. Досягнення в галузі регенеративної медицини і клітинної терапії ґрунтуються на унікальних властивостях стовбурових клітин, які демонструють здатність до самовідновлення та диференціації у специфічні види клітин, що служить підставою для їх застосування у процесі регенерації пошкоджених тканин при різних патологіях очного яблука [19].

ММСК мають потенційну терапевтичну цінність у відновленні рогівки, оскільки володіють протизапальною та моделюючою дією на репаративну регенерацію рогівки. Вони здатні як пригнічувати відторгнення трансплантата, так і сприяти загоєнню ран рогівки. Але перед клінічним застосуванням ММСК повинні бути вирішені питання вибору способу і терміну їхнього введення, з'ясовано конкретні механізми дії, можливості трансдиференціювання в епітеліальні клітини рогівки, для чого необхідні додаткові експериментальні дослідження *in vitro* та *in vivo* [16].

ММСК володіють потенціалом до диференціювання у нейроноподібні клітини, гангліонарні клітини сітківки, гліальні та фоторецепторні клітини. Вони здатні до секреції нейротрофічних чинників – таких, як білки нейротрофічного фактору мозку (BDNF) і фактори росту клітин, наприклад, фактор росту нейронів NGF, що забезпечує нові можливості в лікуванні дегенерації сітківки ока [15].

Проведено чимало досліджень, які говорять про те, що ММСК при інтравітреальному введенні секретують нейротрофічні фактори при моделі глаукоми [17].

Проведені дослідження встановили, що стовбурові клітини можуть продовжувати життя фоторецепторів, а також забезпечують терапевтичний ефект при пігментних ретинітах [11, 24]. Також трансплантація ММСК покращує морфологічний та функціональний стан сітківки при «сухій» формі вікової макулярної

дегенерації [25], а трофічні фактори або цитокіни можуть надавати антиангіогенну властивість. Проте питання механізмів впливу трансплантованих клітин на відновлення структури сітківки потребують подальшого вивчення.

Проведені комплексні дослідження, направлені на вивчення можливості використання 3D-клітинних сфероїдів, а саме – мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин лімба (ММСК), в лікуванні нейродегенеративних захворювань очного яблука виявили здатність 3D-конструкцій накопичувати компоненти позаклітинного матриксу (колагену I, V, VI типу), що свідчить про відтворення природної тканинної ніші стовбурових клітин. Також виявлена здатність 3D-клітинних культур до секреції фактора росту нервів (NGF) і нейротрофічного фактора головного мозку (BDNF). 3D-клітинну культуру ММСК можна розглядати як клітинний продукт, який забезпечує тривалу нейропротекторну дію в лікуванні нейродегенеративних захворювань органа зору [1, 4].

Сучасною наукою активно проводяться дослідження застосування клітинної терапії в лікуванні експериментальної глаукоми [18–20]. Відомі роботи, у яких отримано позитивний ефект, але результати суперечливі і не систематизовані [5, 16].

Одним з найбільш перспективних для використання в офтальмології типів стовбурових клітин є постнатальні мультипотентні стовбурові клітини – похідні нервового гребеня (МСК-ПНГ). Постнатальні МСК-ПНГ мають потенціал до диференціювання в основні клітинні типи – похідні нервового гребеня: в нейрони і глію периферичної нервової системи, меланоцити, клітини строми і ендотелію рогівки, деякі типи ендокринних клітин та багато іншого. Крім того, існують експериментальні докази того, що МСК-ПНГ здатні до лінійної конверсії в нейтральні стовбурові клітини ЦНС. Також МСК-ПНГ можуть трансдиференціюватися у диференційовані клітинні типи, характерні для ЦНС, в тому числі, можливо, в гангліонарні клітини сітківки і фоторецепторні клітини. МСК-ПНГ також продукують широкий спектр нейротрофічних факторів (нейротрофічний фактор мозку (BDNF), гліальний нейротрофічний фактор (GDNF), нейротрофінів 3, нейротрофінів 4/5 і фактор росту нервів (NGF)) і факторів росту (основний фактор росту фібробластів (bFGF), фактор росту ендотелію судин (VEGF) та ін.), що обумовлює їхній нейропротекторний і регенеративний потенціали. Сумарно дані властивості роблять постнатальні МСК-ПНГ перспективним клітинним типом для розробки нових методів лікування захворювань рогівки, сітківки ока та зорового нерва [23].

Таким чином, клітинна терапія в офтальмології являється перспективним напрямком у лікуванні різноманітних захворювань очного яблука. Але важливим аспектом залишається правильний та адекватний ви-

бір клітинного типу. Необхідні подальші дослідження механізмів впливу трансплантованих мультипотентних стовбурових клітин.

Література

1. Борзенко С. А. Применение 3D-клеточных технологий в лечении нейродегенеративных заболеваний глаз / С. А. Борзенко, М. Х. Хубецова, И. Н. Сабурин, Н. А. Гаврилова, Ю. А. Комах, Х. Д. Тонаева, Д. С. Островский, Н. И. Ланевская, Н. В. Кошелева, И. М. Зурина // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Том 20, №2. – С. 11-16.
2. Гомазков О. А. Старение мозга и нейротрофическая терапия / О. А. Гомазков // Монография. – М.: ИКАР. – 2011. – 92 с.
3. Калинина Н. И. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей / Н. И. Калинина, В. Ю. Сысоева, К. А. Рубина, Е. В. Парфенова, В. А. Ткачук. // Acta naturae. – 2011. – Том 3. – №4 (11). С. 32 – 39.
4. Кошелева Н. В. Технология создания мультипотентных сфероидов из мезенхимных стромальных клеток лимба для репарации поврежденных тканей лимба / Н. В. Кошелева, И. Н. Сабурин, И. М. Зурина, А. А. Горкун, С. А. Борзенко, Д. А. Никишин, Т. Д. Колокольцова, Е. Е. Устинова, В. С. Репин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2016. – Том 60, №4. – С. 160-167.
5. Кузьменко В. В. Возможности клинического применения стволовых клеток в офтальмологии / В. В. Кузьменко, Т. В. Ступникова, Ю. Б. Хейфец, Л. М. Вавилова // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Том 18, №1. – С. 34-42.
6. Повещенко О. В. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки для терапии дисфункции лимбального эпителия / А. Ф. Повещенко, А. П. Лыков, Н. А. Бондаренко, Ю. В. Никонорова, И. Б. Дружинин, В. И. Коненков // Бюллетень Сибирского отделения академии медицинских наук. – 2014. – Том 34, № 3. – С. 48-55.
7. Семченко В. В. Фундаментальные и клинические аспекты регенеративной биологии и медицины / В. В. Семченко, С. С. Степанов, Н. М. Дюрягин, С. И. Ерениев, А. В. Клементьев, Н. П. Логинова, А. Х. Ланичева // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2013. – №4. – С. 138-141.
8. Фриденштейн А. Я. Стволовые остеогенные клетки костного мозга / А. Я. Фриденштейн // Онтогенез. – 1991. – Том 22, №2. – С. 189-196.
9. Шаблий В. Мезенхимальные стромальные клетки из нативной и криоконсервированной плаценты человека: фенотип, мультипотентность и миграционный потенциал *in vivo* / В. Шаблий, М. Кучма, В. Кирик [и др.] // Проблемы криобиологии. – 2012. – Том 22, №2. – С. 157 – 160.
10. Шевела Е. Я. Мезенхимальные стромальные клетки в коррекции неврологического дефицита и морфологических изменений в модели очаговых повреждений головного мозга, индуцированных нарушением венозного кровотока / Е. Я. Шевела, И. А., В. В. Ступак [и др.] // Экспериментальные исследования в биологии и медицине. – 2012. – №3 (85). – С. 332–336.
11. Arnhold S. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells rescue photoreceptor cells in the dystrophic retina of the rhodopsin knockout mouse / S. Arnhold, Y. Absenger, H. Klein [et al.] Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 2007. Vol. 245 (3). – P. 414–422.
12. Choudhery M. S. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose and cord tissue / M. S. Choudhery, M. Badowski, A. Muise, D. T. Harris // Cytotherapy. – 2013. – Vol. 15 (3). – P. 330–343.
13. Das M. Adult mesenchymal stem cells and their potency in the cellbased therapy / M. Das, I. B. Sundell, P. S. Koka // J. Stem Cells. – 2013. – Vol. 8 (1). – P. 1–16.
14. Decot V. Umbilical cord mesenchymal stem cells: the new gold standard for mesenchymal stem cell based therapies? / V. Decot, R. Omar, J. Beroud [et al.] // Tissue Eng. Part. B. Rev. – 2014.
15. Ding Suet Lee Shirley. Cellular Reparative Mechanisms of Mesenchymal Stem Cells for Retinal Diseases / S. L. S. Ding, S. Kumar, P. L. Mok // International Journal of Molecular Sciercer. – 2017. – Vol. 18 (8): 1406.
16. Elisseeff J. Future Perspectives for Regenerative Medicine in Ophthalmology / J. Elisseeff, M. G. Madrid, Q. Lu Qiaozhi [et al.] // Middle East African J. Ophthalmology. – 2013. – Vol. 20. – P. 38–45.
17. Levkovitch-Verbin H. Intravitreal Injections of Neurotrophic Factors Secreting Mesenchymal Stem Cells are Neuroprotective in Rat Eyes following Optic Nerve Transection / H. Levkovitch-Verbin, O. Sadan, S. Vander, M. Rosner, Y. Barhum, E. Melamed, D. Offen and S. Melamed // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2010. – Vol. 51, No. 12. – P. 6394-6400.
18. Johnson T. V. Neuroprotective effects of intravitreal mesenchymal stem cell transplantation in experimental glaucoma / T. V. Johnson, N. D. Bull, D. P. Hunt [et al.] // Investigative ophthalmology and visual science. – 2010. – Vol.51. – P. 2051-2059.
19. Manuguerra-Gagne R. Transplantation of Mesenchymal Stem Cells Promotes Tissue Regeneration in a Glaucoma Model Through Laser-Induced Paracrine Factor Secretion and Progenitor Cell Recruitment / R. Manuguerra-Gagne, P. Boulous, A. Ammar [et al.]

- // Stem Cells. Regenerative Medicine. – 2013. – Vol. 31. – P. 1136-1148.
20. Roubex Ch. Intraocular pressure reduction and neuroprotection conferred by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an animal model of glaucoma / Ch. Roubex, D. Godefroy, C. Mias [et al.] // Stem Cell Research & Therapy. – 2015. Vol. 6:177.
21. Spees J. L. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function / J. L. Spees, R. Hwa Lee, C. A. Gregory // Stem Cell Research & Therapy. – 2016. – Vol. 7: 125.
22. Stem cell information [електронний ресурс] <https://stemcells.nih.gov/info/faqs.htm>.
23. Vasyliiev R. G. *In vitro* properties of neural crest-derived multipotent stem cells from a bulge region of whisker follicle / R. G. Vasyliiev, A. E. Rodnichenko, D. A. Zubov [et al.] // Biotechnologia Acta. – 2014. Vol. 7, No 4. – P. 73 – 79.
24. Wang Sh. Non-Invasive Stem Cell Therapy in a Rat Model for Retinal Degeneration and Vascular Pathology / Sh. Wang, B. Lu, S. Girman // PLoS ONE | www.plosone.org. – 2010. – Vol. 5. – Issue 2.
25. Yalong Dang. Stem cell therapies for age-related macular degeneration: the past, present and future / Y. Dang, Ch. Zhang, Yu Zhu // Clinical Interventions in Aging. – 2015. – Vol. 10. – P. 255-264.

РОЛЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

О. В. Петренко, А. И. Яковец, Р. Г. Васильев

В статье представлены результаты научного анализа описанных в современной литературе исследований по применению клеточной терапии в офтальмологии. На сегодняшний день именно клеточная терапия с использованием различных типов клеток и их дифференцированных производных рассматривается как перспективное направление в лечении широкого спектра заболеваний. Рассмотрены роль мультипотентных стволовых клеток при различных патологиях органа зрения. Показано, что мультипотентные стволовые клетки – производные нервного гребня – являются перспективным клеточным типом для разработки новых методов лечения дегенеративных заболеваний сетчатки глаза и зрительного нерва.

Ключевые слова: мультипотентные стволовые клетки, заболевания зрительного нерва и сетчатки, глаукома.

THE ROLE OF MULTIPOTENT STEM CELLS IN OPHTHALMOLOGY

O. Petrenko,¹ A. Yakovets,¹ R. Vasyliiev,^{2,3}

¹ P.L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education
– Kyiv, Ukraine

² State Institute of Genetic and Regenerative Medicine NAMS of Ukraine
– Kiev, Ukraine

³ Biotechnology laboratory *ilaya.regeneration*, Medical company *ilaya*®
– Kiev, Ukraine

The article presents the results of the scientific analysis described in the modern literature on the application of cell therapy in ophthalmology. Today, cellular therapy, using different types of stem cells and their differentiated derivatives, is considered as a promising trend in the treatment of a wide range of diseases. The role of multipotent stem cells in various pathologies of the organ is considered. It has been shown that neural crest-derived multipotent stem cells are a promising cellular type for the development of new methods of treating degenerative diseases of the retina of the eye and optic nerve.

Key words: multipotent stem cells, diseases of the optic nerve and retina, glaucoma.

Стаття надійшла до редакції ...2018 р.