

УДК 617.7:577.2

**ОРТОБИОЛОГИЯ КАК ОКНО ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ
КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В КЛИНИЧЕСКУЮ ПРАКТИКУ****¹Ковалев А.В., ²Холмогорская О.В., ²Стаковецкая О.К.,****¹Сморчков М.М., ¹Прохорова Е.В.***¹Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва;**²Ивановская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, e-mail: OlgaST_75@mail.ru*

Данная статья представляет обзор литературы, посвященной историческим аспектам разработки и интеграции методов клеточной терапии в современную медицину. Проанализированы информационные базы данных и выявлены области медицины, в которых данные технологии активно развиваются. Также были найдены примеры исследований и разработок по данной тематике. Отдельно рассмотрена клеточная терапия в офтальмологии. Новые методы лечения и достижения положительных результатов лечения способствуют оптимистичному настрою на использование и дальнейшее развитие клеточных технологий в клинической практике. Рассмотрена история развития клеточных технологий. Выявлено состояние ортобиологии в наши дни. Рассмотрены ортобиология и офтальмология. Сделан вывод о том, что ортобиология является достаточно молодым и стремительно развивающимся направлением в современной медицине. При этом интенсивное развитие новых методов клеточной биологии, новых биоматериалов, биофармакологии, биомедицинских клеточных продуктов и медицинских устройств регенеративной медицины наряду с накоплением результатов международных, многоцентровых клинических исследований и их метаанализом создают благоприятные условия как для оказания качественной высокотехнологичной медицинской помощи, так и для дальнейших клинических разработок и исследований клеточной терапии с участием пациентов.

Ключевые слова: ортобиология, регенеративная медицина, клеточные трансплантации, офтальмология, медицина, клеточные технологии, стволовые клетки

**ORTHOBIOLGY AS A WINDOW FOR INTRODUCING
CELLULAR TECHNOLOGIES INTO CLINICAL PRACTICE****¹Kovalev A.V., ²Kholmogorskaya O.V., ²Stakovetskaya O.K.,****¹Smorchkov M.M., ¹Prokhorova E.V.***¹National Medical Research Center for Traumatology and Orthopedics named after N.N. Priorov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow;**²Ivanovo State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, e-mail: OlgaST_75@mail.ru*

This article presents a review of the literature on the historical aspects of the development and integration of cell therapy methods into modern medicine. Information databases were analyzed and areas of medicine were identified in which these technologies are actively developing, examples of research and development on this topic were also found. A separate focus is on cell therapy in ophthalmology. New methods of treatment and achievement of positive results of treatment inspire an optimistic view on the use and further development of cell technologies in clinical practice. The history of the development of cellular technologies is considered. The state of orthobiology in our days has been revealed. Orthobiology and ophthalmology are considered. It is concluded that orthobiology is a fairly young and rapidly developing area in modern medicine. At the same time, the intensive development of new methods of cell biology, new biomaterials, biopharmacology, biomedical cell products and medical devices of regenerative medicine, along with the accumulation of the results of international, multicenter clinical studies and their meta-analysis, creates favorable conditions for both the provision of high-quality high-tech medical care and for further clinical development and cell therapy research involving patients.

Keywords: orthobiology, regenerative medicine, cell transplantation? ophthalmology, medicine, cell technologies, stem cells

Клеточная терапия как важная составляющая регенеративной медицины считается одним из наиболее перспективных направлений развития современной биомедицины. Использование пересадок и инфузий живых клеток открывает уникальные возможности для развития трансформационных технологий в медицине и новых высокотехнологичных регенеративных методов лечения хронических заболеваний. Стимуляция ре-

генерации биомедицинскими клеточными продуктами повышает эффективность терапии за счет частичного восстановления патологически измененных органов и тканей, что позволяет более полно удовлетворять запросы пациентов и общества на достижение нового качества лечения – устранение патоморфологических изменений и улучшение функций пораженных болезнью органов. Регенеративная медицина становится

новым важным этапом в развитии здравоохранения с возможностью непосредственного восстановления утраченных биологических структур и, возможно, замещения поврежденных клеток, тканей или частей органов нормальными «живыми запасными частями». Возможна стимуляция клеточными продуктами регенерации патологически измененных органов с постепенным восстановлением нормальной структуры и нормальной функции органов человека за счет паракринных эффектов. Методы клеточной медицины, имеющие потенциал к постепенному восстановлению органов человека нехирургическим путем, выступают в ряде случаев и как альтернатива пожизненной лекарственной терапии, влияющей часто лишь на симптомы заболеваний. Неудивительно, что с каждым днем увеличивается количество информации о клинических испытаниях новых протоколов клеточной терапии благодаря активному изучению исследовательскими сообществами фундаментальных основ потенциальных способов применения клеточных трансплантаций при широком спектре заболеваний, таких как нейродегенеративные заболевания, диабет, наследственные заболевания сетчатки глаза, атрофии зрительных нервов и многие другие [1].

Цель исследования – анализ исторических аспектов разработки и интеграции методов клеточной терапии в современную медицину.

Материалы и методы исследования

В ходе исследования использовались следующие методы: анализ научной, медицинской литературы.

Результаты исследования и их обсуждение

История развития клеточных технологий

Мартин Эванс (Нобелевская премия, 2007 г.) и Мэтт Кауфман были первыми, кто идентифицировал, изолировал и успешно культивировал эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) с использованием бластоцист мышей в 1981 г. [2]. Это исследование позволило создавать генетические модели мышей, у которых один или несколько генов были удалены или модифицированы для изучения их функции при заболевании [2]. Геном мыши подвергся модификации в ЭСК, которые затем вводили в бластоцисты мышей. Следовательно, после развития бластоцисты во взрослую мышь каждая клетка ее тела имела интересующую модификацию.

Желание использовать уникальные свойства стволовых клеток в медицине значительно усилилось, когда Джеймс Томсон

и его сотрудники впервые выделили ЭСК из бластоцист человека [3]. Впервые ученые теоретически могли генерировать нужные клетки для производства «строительных ремонтных блоков» тела человека в неограниченном количестве. Стало возможным получать искусственным путем необходимые типы клеток для тестирования новых терапевтических средств и разработки новых методов трансплантации, которые ранее были неосуществимы. Получение эмбриональных стволовых клеток человека не всегда влечет гибель зародыша, тем не менее, этические ограничения и иммунологическая несовместимость стали серьезным препятствием. Как можно обойти эту процедуру? Сэр Джон Гердон показал в начале 1960-х годов, что вопреки распространенному в то время мнению клетки не заперты в своем состоянии дифференцировки и могут быть возвращены в более примитивное состояние с более высоким потенциалом развития. Он продемонстрировал этот принцип, введя ядро дифференцированной клетки лягушки в яйцеклетку, из которой было удалено ядро. (Это широко известно как репродуктивное клонирование, которое использовалось для создания овечки Долли.) В результате развития яйцеклетки с пересаженным клеточным ядром появилась плодовитая взрослая лягушка, что доказало, что дифференцированные клетки сохраняют генетическую информацию, необходимую для возникновения всех типов клеток в живом организме. Спустя 40 с лишним лет Шинья Яманака и его коллеги потрясли мир, когда им удалось преобразовать клетки кожи, называемые фибробластами, в плюрипотентные стволовые клетки, изменив экспрессию всего четырех генов. Это представляло собой рождение эры индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, или iPS-клеток (иПСК). Огромную важность этих открытий трудно переоценить, и, пожалуй, лучше всего ее иллюстрирует тот факт, что всего 6 лет спустя Гердон и Яманака разделили Нобелевскую премию по физиологии и медицине в 2012 году [4].

Недавние исследования, в которых сообщается об успешном клиническом эффекте от терапии стволовыми клетками у пациентов, укрепили надежду на то, что такие регенеративные стратегии однажды могут стать средством лечения многих хронических и прогрессирующих заболеваний человека [5]. В последние несколько лет наблюдается экспоненциальный рост числа клинических испытаний, связанных с терапией на основе стволовых или более дифференцированных клеток. Некоторые из этих испытаний подтвердили клиническую эффективность кле-

точных продуктов [6]. Например, в случае буллезного эпидермолиза появились признаки восстановления кожи после лечения культурами кератиноцитов эпидермальных стволовых клеток [7]. Кроме того, сообщалось о некотором улучшении зрения у пациентов, страдающих дегенерацией желтого пятна, после трансплантации пигментного нейроэпителия, выращенного из собственных и ПСК пациентов [8].

Состояние ортобиологии в наши дни

В последние годы терапия живыми клетками и тромбоцитами стала очень перспективной и передовой темой научных исследований. С развитием методов лечения связаны большие надежды. Активно развивающееся направление ортобиологии позволяет использовать собственные клетки пациента для активации процессов репаративной регенерации и купирования клинических проявлений последствий травм и заболеваний с достижением благоприятных результатов лечения [9, с. 6]. В соответствии с установленными тенденциями развития регенераторной медицины, фокус внимания исследователей направлен на ортобиологические технологии, становящиеся дополнительным эффективным инструментом лечения и реабилитации человека [9, с. 7].

Клиническая клеточная терапия становится все более популярной во всем мире. IANR (международная ассоциация врачей реставрологии) и профессиональный комитет по нейрореставрологии Китайской ассоциации врачей (Китайская ассоциация нейрореставраторов [CANR]) совместно предложили «Клинические рекомендации по клеточной терапии для нейрореставрации (IANR/CANR 2017)», основанные на китайской версии рекомендаций и одобренные членами совета IANR и членами комитета CANR 1 сентября 2016 г. Впоследствии документ был отредактирован, а ссылки на литературу дополнены. Затем окончательное руководство было одобрено всеми членами IANR/CANR [10].

Ортобиология и офтальмология

Одной из областей медицины, в которой стремительное развитие получили ортобиологические принципы лечения, а именно методы биологической терапии с использованием компонентов человеческого тела, таких как собственная плазма, тромбоциты и аутологичные живые клетки разной степени дифференцировки, иногда генетически модифицированные, а затем повторно введенные в поврежденные участки для улучшения трофики или восстановления внутренней клеточной структуры, стала

офтальмология. Потеря зрения, вызванная хроническим заболеванием глаз, оказывает серьезное влияние на мобильность человека, независимость, качество жизни (QOL) и способность к социальной адаптации в современном мире.

Заболевания глаз, которые вызывают прогрессирующую слепоту, включают как возрастные, так и наследственные заболевания сетчатки, заболевания роговицы, атрофию зрительного нерва [11, 12]. Подобные состояния поражают пациентов на всех этапах жизни, дегенеративные изменения сетчатки остаются наиболее тяжелыми в плане лечения и часто имеют плохой прогноз. Приобретенные дегенеративные заболевания сетчатки, такие как возрастная макулярная дегенерация, часто проявляются в более старшем возрасте, в то время как наследственные дегенеративные заболевания, такие как пигментный ретинит, проявляются раньше.

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) является основной причиной потери зрения у людей старше 65 лет и, по оценкам, в настоящее время затрагивает около 170 млн человек по всему миру. Более распространена сухая форма (80–90% случаев), которая разрушает центральное зрение, необходимое для чтения, вождения и распознавания лиц, что приводит к значительному ухудшению качества жизни. В настоящее время для данной формы нет утвержденных методов лечения. Для влажной, экссудативной формы ВМД существует ряд лекарственных средств – моноклональные антитела, которые селективно связывают и подавляют биологическую активность определенного цитокина – фактора роста эндотелия сосудов.

Пигментный ретинит (ПР) является ведущей причиной потери зрения среди наследственных болезней глаз человека, приводящих к слепоте, это заболевание невоспалительного характера, но при нем происходят прогрессирующие необратимые дегенеративные изменения сетчатки. Распространенность пигментного ретинита в мире составляет 1 больной на 5000 человек. Заболевание встречается довольно часто, насчитывается около 3 млн больных и 99 млн человек, имеющих дефектный по пигментному ретиниту ген.

Дефицит лимбальных стволовых клеток (ДЛСК) – редкое прогрессирующее заболевание роговицы, которое встречается во всем мире, имеет широкую этиологию и может завершаться слепотой. Хирургическая трансплантация роговицы от донора является основным методом лечения, однако донорских роговиц мало, пересадка роговицы не всегда заканчивается излечением [13].

Впервые принципиальная возможность вернуть зрение даже слепым людям с помощью клеточных технологий была показана Робертом Маклареном. На экспериментальной модели линии мышей с наследственной формой дегенерации сетчатки Макларен с коллегами смогли продемонстрировать, что трансплантация в сетчатку больших количеств клеток-предшественников фоторецепторов (подготовленных в специальной клеточной лаборатории) в течение достаточно короткого срока (всего через две недели после инъекции) смогла обеспечить восстановление всего светочувствительного слоя сетчатки и обеспечить передачу зрительного сигнала по главному нерву в мозг. Слепым животным удалось вернуть зрение [14].

Клеточная терапия предлагает потенциальное патогенетическое лечение дегенеративных заболеваний сетчатки, включая возрастную дегенерацию желтого пятна (ВДЖП), макулодистрофию Штаргардта (МДШ) и пигментный ретинит. Доступность для манипуляций и небольшой размер глаза являются преимуществами для клеточной терапии в офтальмологии. Эти отличительные черты в сочетании со многими доступными и высокотехнологичными приборами офтальмологической визуализации для оценки и мониторинга клинических результатов сделали глаз привлекательным объектом для оценки эффективности клеточной терапии. Начиная с 2008 года Калифорнийский институт регенеративной медицины (CIRM) вместе со своими грантополучателями одним из первых разработал стратегии клеточной терапии для хронических, прогрессирующих заболеваний глаз, включая заболевания сетчатки, такие как сухая форма возрастной дегенерации желтого пятна (ВДЖП) и пигментный ретинит, а также лимбальной недостаточности роговицы глаза [15].

Офтальмологи из Университетской клиники Хадасса Эйн Керем в Иерусалиме с помощью специалистов биотехнологической компании «Cell Cure Neurosciences» (Израиль) размножили эмбриональные стволовые клетки человека и превратили их в необходимые для процесса лечения клетки пигментного эпителия сетчатки, которые трансплантировали в глаз пожилому пациенту с потерей зрения. Процедура трансплантации клеток была выполнена 18 августа 2015 года офтальмологом Исхаком Хемо (Ytzhak Hemo), директором Центра заболеваний сетчатки Департамента Офтальмологии. Трансплантация прошла успешно, и за весь период наблюдения за глазом пациента никаких осложнений выявлено не было. На основе стволовых клеток из-

раильские ученые планируют производить клеточный препарат OpRegen®, предполагается, что такой клеточный препарат сможет приостановить или хотя бы замедлить прогрессирование этого тяжелого и пока еще неизлечимого заболевания пожилых пациентов, приводящего к слепоте [16].

Японские ученые подошли к клиническому применению стволовых клеток и клеточных технологий для лечения влажной формы макулодистрофии сетчатки глаза у пожилых людей. Эта форма заболевания сетчатки встречается почти в 10 раз реже, чем макулодистрофия сухого типа, но считается намного опаснее, так как значительно быстрее прогрессирует, и пожилые люди слепнут достаточно быстро. При влажной форме гибнет пигментный эпителий сетчатки, который обеспечивает нормальную жизнедеятельность светочувствительных фоторецепторов глаза; более того – за сетчаткой начинают расти новые патологические кровеносные сосуды, нарушающие нормальное строение глаза [17].

Исследуются топографические позиции и способы трансплантации шванновских клеток, других клеточных популяций, в том числе клеток пигментного эпителия и нейрональных клеток-предшественников человека, в световоспринимающий отдел глаза. Было доказано, что обоснованная клеточная терапия спасает структуру и функцию сетчатки глаза, а при субретинальном введении даже возможны миграция клеток во внутреннюю часть и участие в репарации сетчатки. Острота и пороги яркости зрения были существенно лучше после клеточных трансплантаций в сравнении с контрольной группой. Исследуется возможность применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) костного мозга в клинической практике при лечении возрастной макулярной дегенерации (ВМД), пигментного ретинита и диабетической ретинопатии [18].

RPE65-опосредованная дистрофия сетчатки (врожденный амавроз Лебера) является еще одним редким заболеванием. Это наследственное заболевание, вызывающее прогрессирующую слепоту. В 2017 году Управление по лекарственным средствам (FDA) одобрило новый генотерапевтический препарат «Лукстурна» (Luxturna) для пациентов с подтвержденной биаллельной RPE65 мутационно-ассоциированной дистрофией сетчатки. Luxturna является первым одобренным препаратом генной терапии наследственного заболевания сетчатки и первая эффективная генная терапия глаз с помощью вирусного вектора – аденоассоциированного вируса, тропного к клеткам сетчатки. Генотерапия препара-

том Luxturna была одобрена в Соединенных Штатах Америки в декабре 2018 года.

Если резюмировать вышесказанное, то можно отметить, что применение данных методик является эффективным методом лечения в офтальмологии и открывает простор для дальнейших исследований в целях улучшения текущих результатов и увеличения нозологий, поддающихся клеточной терапии.

Заключение

Ортобиология является достаточно молодым и стремительно развивающимся направлением в современной медицине. Зарождалась ортобиология в спортивной травматологии и в медицинской реабилитации спортсменов, все начиналась с биологических методов ускорения заживления связок и тканей суставов. Принцип применения собственной плазмы, тромбоцитарной массы и различных типов клеток пациента для стимуляции регенерации и улучшения функций поврежденных органов нашел свое применение во многих других областях медицины, таких как неврология, пульмонология, травматология и ортопедия, а также в офтальмологии. В настоящее время в экспериментальной и клинической офтальмологии ведутся разработка и активное совершенствование методов клеточной терапии глазных болезней с применением различных популяций клеток в составе аутологичных, аллогенных, культивированных, модифицированных и минимально манипулируемых клеточных продуктов. Список нозологических единиц, где клеточная терапия эффективна, постепенно расширяется, включает возрастные заболевания сетчатки, пигментный ретинит и атрофии зрительного нерва разной этиологии. Интенсивное развитие новых методов клеточной биологии, новых биоматериалов, биофармакологии, биомедицинских клеточных продуктов и медицинских устройств регенеративной медицины наряду с накоплением результатов международных, многоцентровых клинических исследований и их метаанализа создают благоприятные условия как для оказания качественной высокотехнологичной медицинской помощи, так и для дальнейших клинических разработок и исследований клеточной терапии с участием пациентов.

Список литературы

1. Chari S., Nguyen A., Saxe J. Stem Cells in the Clinic // *Cell Stem Cell*. 2018. Vol. 22. P. 781-782.
2. Evans M.J., Kaufman M. Establishment in culture of pluripotential stem cells from mouse embryos // *Nature* 1981. Vol. 292. P. 151-156.
3. Thomson J.A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S.S., Waknitz M.A., Swiergiel J.J., Marshall V.S., Jones J.M. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // *Science*. 1998. Vol. 282(5391). P. 1145-1147.
4. MLA style: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2012/summary/> (дата обращения: 15.05.2023).
5. Madl C.M., Heilshorn S.C., Blau H.M. Bioengineering strategies to accelerate stem cell therapeutics // *Nature*. 2018. No. 557. P. 335-342.
6. Pérez López S., Otero Hernández J. Advances in stem cell therapy. *Adv Exp Med Biol*. 2012. Vol. 741. P. 290-313.
7. Hirsch T., Rothoef T., Teig N., Bauer J.W., Pellegrini G., De Rosa L., Scaglione D., Reichelt J., Klausegger A., Kneisz D., Romano O., Seconetti A. S., Contin R., Enzo E., Jurman I., Carulli S., Jacobsen F., Luecke T., Lehnhardt M., Fischer M., Kueckelhaus M., Quaglino D., Morgante M., Biccato S., Bondanza S., De Luca M.. Regeneration of the entire human epidermis using transgenic stem cells // *Nature*. 2017. Vol. 551. P. 327-332.
8. Mandai M., Kurimoto Y., Takahashi M. The authors reply. *New England Journal of Medicine* // *Massachusetts Medical Society*. 2017. Vol. 377. P. 792-793.
9. IX Научно-практическая конференция с международным участием Приоровские чтения 2021 «Ортобиология» совместно с конференцией молодых ученых: материалы к конгрессу (Москва, 23—24 апреля 2021 года) / ред. кол.: М.А. Страхов и др.; Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии (НМИЦ ТО) им. Н.Н. Приорова. Воронеж: Научная книга, 2022. 152 с.
10. Hongyun H., Ziad M. Al Zoubi, Gustavo M., Hari Shanker S., Sarnowska A., Sanberg P. R., Chen L., Xue Q., Siniscalco D., Feng S., Saberi H., Guo X., Mengzhou Xue, Dimitrijevic M. R., Andrews R. J., Mao G., Zhao R. C., Han F. Clinical cell therapy guidelines for neurorestoration (IANR/CANR 2022) // *Journal of Neurorestoratology*. 2022. Vol. 10. No. 3. P. 100015.
11. Ромащенко А.Д., Ковалев А.В. Способ лечения атрофии зрительного нерва посредством трансплантации аутологичных стволовых клеток // Патент № 2428956 С2 Российская Федерация, МПК А61F 9/00, А61К 35/28, А61P 27/00. № 2009126627/14: заявл. 13.07.2009; опубл. 20.09.2011.
12. Ромащенко А.Д., Ковалев А.В. Способ лечения влажной формы возрастной макулярной дегенерации сетчатки с применением клеточной трансплантации // Патент № 2467727 С2 Российская Федерация, МПК А61F 9/00, А61К 35/28, А61К 38/17. № 2011105045/14: заявл. 11.02.2011; опубл. 27.11.2012.
13. Deng S.X., Kruse F., Gomes J.A.P., Chan C.C., Daya S., Dana R., Figueiredo F.C., Kinoshita S., Rama P., Sangwan V., Slomovic A.R., Tan D., the International Limbal Stem Cell Deficiency Working Group. Global Consensus on the Management of Limbal Stem Cell Deficiency // *Cornea*. 2020. Vol. 39(10). P. 1291-1302.
14. Singh M.S., Park S.S., Albin T.A., Canto-Soler M.V., Klassen H., MacLaren R.E., Takahashi M., Nagiel A., Schwartz S.D., Bharti K. Retinal stem cell transplantation: Balancing safety and potential // *Prog Retin Eye Res*. 2020. Vol. 75. P. 100779.
15. Koster C., Wever K.E., Wagstaff P.E., Hirk KTVD., Hooijmans C.R., Bergen A.A. A Systematic Review on Transplantation Studies of the Retinal Pigment Epithelium in Animal Models // *Int. J. Mol. Sci*. 2020. Vol. 21(8). P. 2719.
16. Maeda T., Sugita S., Kurimoto Y., Takahashi M. Trends of Stem Cell Therapies in Age-Related Macular Degeneration // *J. Clin. Med*. 2021. Vol. 10(8). P. 1785.
17. Caras I.W., Collins L.R., Creasey A.A. A stem cell journey in ophthalmology: From the bench to the clinic // *Stem Cells Transl. Med*. 2021. Vol. 10(12). P. 1581-1587.
18. Ромащенко А.Д., Ковалев А.В. Способ комплексного патогенетического лечения центральных и периферических тапеторетинальных дистрофий с применением клеточных технологий // Патент № 2467730 С2 Российская Федерация, МПК А61F 9/00, А61К 35/28, А61К 38/17. № 2011101671/14: заявл. 19.01.2011; опубл. 27.11.2012.