

УДК 57.085.19

Латыпов В.Д., Гильманов Э.Р.

ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Научный руководитель – к.м.н., доцент Д.В. Срубиллин

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

В данной статье рассматриваются перспективы использования ИПСК как источника клеток для регенеративной медицины, актуальные вопросы связанные с созданием иПСК клеток. Роль индуцированных плюрипотентных стволовых клеток для лечения дегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, регенеративная медицина, дифференцировка, персонализированная медицина.

Latypov V.D., Gilmanov E.R.

INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS FOR REGENERATIVE MEDICINE Scientific supervisor - Candidate of Medical Sciences, Associate Professor D.V. Srubilin

Bashkir State Medical University, Ufa

This article discusses the prospects of using iPSC as a source of cells for regenerative medicine, topical issues related to the creation of iPSC cells. The role of induced pluripotent stem cells in the treatment of degenerative diseases.

Key words: induced pluripotent stem cells (iPSCs), regenerative medicine, differentiation, personalized medicine.

Цель работы

Изучение потенциала индуцированных плюрипотентных стволовых клеток для медицины (иПСК) и трансплантологии, открытие новых методов лечения для широкого спектра лечения заболеваний и болезней. Разработка новых технологий при помощи iPSCs в клеточной инженерии, биомедицины.

Материал и методы исследования:

Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК, iPSC-клетки) – это разновидность стволовых клеток, относящихся к типу плюрипотентных стволовых клеток, которые получают непосредственно из соматической клетки путем эпигенетического перепрограммирования и способами получения эффективности ИПСК.

Актуальность изучения ИПСК в современной медицине:

Применение метода направленного перепрограммирования соматических клеток пациента даёт ряд преимуществ, заключающихся в возможности получать практически любые зрелые типы клеток для аутологичной клеточной терапии. [8].

В первую очередь стоит отметить что данный способ позволит найти способ моделирования болезней, так как iPSCs позволяют создавать клеточные модели различных заболеваний, включая генетические и сложные многофакторные расстройства [3]. Обнаружение более приемлемой и оптимальной терапии замещения клеток. iPSCs обладают потенциалом для использования в лечении различных заболеваний, благодаря высокому

пролиферативному потенциалу. Это особенно важно для болезней, таких как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и сахарный диабет, где клеточная терапия может быть эффективным методом лечения [4, 9].

История открытия и первых применений на практике:

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSCs) были открыты в 2006 году в Киото Японии учеными Шинья Яманака, Казутоши Такахашаи и их коллегами. Японские ученые проводили исследования над мышинными эмбриональными фибробластами. Ученые внесли несколько генов, известных как "факторы Yamanaka", в обычные взрослые клетки, чтобы "перепрограммировать" их обратно в состояние, близкое к плюрипотентным эмбриональным стволовым клеткам. С помощью этого подхода они смогли успешно получить клетки, которые могли дифференцироваться в различные типы клеток, включая нервные, мышечные, костные и другие, что подтвердило их плюрипотентность.

Современные способы получения ИПСК и техники перепрограммирования:

Современные способы получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSCs) включают различные техники, которые варьируются по эффективности, безопасности и практичности. Некоторые из них включают:

1. Интегральный метод, перепрограммирование с использованием вирусных векторов: Это классический метод, который использует вирусные векторы, такие как вирусы группы гамма-ретровирусов или вирусы аденовирусов, для трансдукции факторов Yamanaka в мышинные фибробласты.
2. Неинтегральный метод, перепрограммирование без использования вирусных векторов: Этот метод включает в себя использование неинтегративных векторов, таких как вирусные векторы без РНК, эписомальные векторы или плазмиды, одноцепочечной РНК вируса Сендай, микро-РНК-трансфекция для доставки факторов OSKM. Это позволяет избежать интеграции в геном и минимизировать риск мутаций;
3. Перепрограммирование с использованием мРНК или белков: Этот метод включает в себя прямую доставку мРНК или белков, кодирующих факторы Yamanaka, в целевые клетки;
4. Современные альтернативные методы, химическое перепрограммирование: Этот подход включает в себя использование химических соединений, таких как малые молекулы, для индукции плюрипотентных генов в целевых клетках, искусственные хромосомы, использование рекомбинантных репрограммирующих белков, смеси низкомолекулярных соединений, антитела;

Перспективы применения ИПСК:

Роль iPSCs в регенеративной медицине: стволовые клетки могут быть использованы для разработки технологий регенерации тканей и органов, что открывает перспективы для решения проблем дефицита органных трансплантаций:

1. Потенциал регенерации различных тканей и органов, способность дифференцироваться во множество различных зрелых клеток выполняющие определенные функции из неопределившейся соматической клетки с терминальной дифференцировкой..
Пример: дофаминергические нейроны при болезни Паркинсона.

2. Индивидуальный подход к созданию клеток: iPSCs могут быть получены из клеток пациента, что позволяет создать ткани и органы, наиболее подходящие для трансплантации без риска отторжения иммунной системой организма. Уменьшает необходимость в использовании иммуносупрессивной терапии.

3. Моделирование болезней, создание моделей различных заболеваний, что помогает в понимании их механизмов развития и разработке новых методов диагностики, лечения и профилактики. Например, спинальной мышечной атрофии (СМА) – группа генетических нейро-мышечных поражений мышц спины, приводящей к параличу и их атрофии.

4. Исследовательский инструмент в генной инженерии, синтетической биологии, геномике, метагеномике, а также в биомедицине.

Результаты и обсуждения использования iPSCs в современной медицине:

Кардиомиоциты, полученные из hiPSC

За прошедшие годы было предпринято несколько попыток разработать протоколы дифференцировки hiPSC, имитирующие сигнальные пути, участвующие в эмбриональном развитии сердечно-сосудистой системы, для получения функционально зрелых клеток сердца [12]. Первоначально дифференцировка ИПСК в кардиомиоциты (СМС) включала суспензионные культуры отдельных клеток. Это индуцировало спонтанную агрегацию ИПСК и формирование эмбриоидных тел (ЕВТ), имитируя таким образом эмбриогенез [4]. Однако, кардиомиоциты, полученные из hiPSC, гетерогенны и им не хватает клеточной зрелости, что впоследствии приводит к нарушению функции и морфологии КМ плода [15]. Незрелость КМ, полученных из hiPSC, ухудшает надлежащее моделирование ССЗ у взрослых из-за неспособности полностью воспроизвести фенотипы заболеваний, связанных со старением, а также генетических патологий, что негативно влияет на их использование для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Неврология

Пока не для всех типов нейронов разработаны высокоэффективные протоколы дифференцировки, а способность к нейрональной дифференцировке варьирует у линий

ИПСК, полученных разными способами от пациентов разного возраста и в разных лабораториях.

Онкология и регенераторная медицина

Для безопасного применения технологий, основанных на ИПСК, необходимо использование методов получения ИПСК и направленной дифференцировки, которые сводили бы к минимуму возможность появления мутаций в геномах клеток при культивировании *in vitro*, вероятность ракового перерождения клеток после инъекции. Требуется разработка методов культивирования ИПСК человека без применения клеток животных (например, фидерного слоя фибробластов мыши), чтобы исключить возможность переноса патогенов вирусного происхождения от животных человеку. Существует потребность в максимальной стандартизации условий культивирования и дифференцировки клеток [11].

Варианты решения главных проблем при применении ИПСК в медицине:

Для решения данных проблем нужно разработать высокоэффективные протоколы дифференцировки, так учёные из Польши смогли получить меланоциты с большим содержанием меланина на основе классического метода дифференцировки эмбриональных стволовых клеток (ESC) в дофаминергические нейроны [14], которые имеют общую судьбу дифференцировки в эктодерме и общего предшественника с меланоцитами. Совершенно неожиданно дифференцированные клетки оказались сильно пигментированными [11].

Для преодоления нехватки зрелых и гомогенных hiPSC-CMS, можно использовать новые тщательно разработанные стратегии, включающие длительные периоды культивирования, использование гормонов в среде для дифференцировки, механическую или электрическую стимуляцию и использование среды *in vivo* [5-9].

Также нужно разрабатывать новые методы получения ИПСК *in vitro*, при использовании которых будет снижена вероятность мутаций и злокачественного перерождения клеток при инъекции. Так исследователи из Японии Norimasa Miura, Yoshitaka Ishihara, Yugo Miura, Mai Kimoto, Keigo Miura в ходе экспериментов обнаружили, что при эктопической экспрессии miR-520d-5p индуцировал сдвиг в сторону дикого типа и снизил уровни мутаций как во всем геноме, так и в сборках геномных фрагментов [7].

Заключение и выводы:

В заключение стоит отметить что iPSCs клетки представляют огромный потенциал в области регенеративной медицины, моделировании болезней, а также в разработке инновационных методов лечения. Изучение непосредственно плюрипотентности стволовых клеток и соматических клеток откроет новые горизонты в трансплантологии и лечения аутоиммунных заболеваний. При дальнейшем изучении, а также открытии более комплексных

механизмов регулирующих биохимические свойства плюрипотентных стволовых клеток, человечество откроет новые возможности для лечения сложных заболеваний нервных и сосудистых систем и их повреждений, а также даст глубокое понимание биологических процессов, лежащих в основе жизнедеятельности организма.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток из фибробластов кожи плода человека 2010 / Медведев С. П., Малахова А. А., Григорьева Е. В., Шевченко А.
2. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки гибридов полёвок *Microtus levis* × *Microtus arvalis*: 2015 / Григорьева Е.В., Шевченко А.И.
3. Молекулярные механизмы индуцированной плюрипотентности 2012 / Мучкаева И. А., Дашинимаев Э. Б., Терских В. В., Суханов Ю. В., Васильев А. В.
4. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки: новые возможности в нейробиологии и нейротрансплантологии 2011 / Лебедева Ольга Сергеевна, Лагарькова М. А.
5. Эпигенетика плюрипотентных клеток 2012/ Медведев С.П., Покушалов Е.А.
6. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, Мальцев и др., 1993; Янг и др., 2008
7. Томилин А.Н. 2009 Роль и механизм действия транскрипционного фактора Oct4 в поддержании плюрипотентности стволовых клеток млекопитающих. Докторская диссертация. Санкт-Петербург. ИИЦ РАН. 111 с.
8. Akkina R.K., Walton R.M., 1996 High- efficiency gene transfer into CD34+ cells with a human immunodeficiency virus type 1-based retroviral vector pseudotyped with vesicular stomatitis virus envelope glycoprotein G. J. Virol. 70 : 2581–2585.
9. Apostolou E., 2013 Chromatin dynamics during cellular reprogramming. Nature.502: 462
10. Bi L., Lawler A.M., Antonarakis S.E., Jr. 1995 Targeted disruption of the mouse factor VIII gene produces a model of haemophilia. 10(1) : 119-121.
11. Binder M.D., Hirokawa N., Windhorst U. 2009 Encyclopedia of Neuroscience. Berlin: Springer. Bontempo F.A., Lewis J.H., 1987 Liver Transplantation in Hemophilia A. Blood. 69(6) : 1721–1724. Botquin V., Schöler H.R. 1998
12. New POU dimer configuration mediates antagonistic control of an osteopontin preimplantation enhancer by Oct-4 and Sox-2. Genes Dev. 12 : 2073–2090.
13. Carey B.W., Markoulaki S., Reprogramming of murine and human somatic cells using a single polycistronic vector. 2009 Proc Natl Acad Sci. 106 : 157-162. Lee, S.-H.; Lumelsky, N.; Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells.
14. Chan et al., 2013; Kamakura et al., 2013; Yang et al., 2014; Ruan et al., 2016; Cho et al., 2017; Kadota et al., 2017;
15. ([Chan et al., 2013](#); [Kamakura et al., 2013](#); [Yang et al., 2014](#); [Ruan et al., 2016](#); [Cho et al., 2017](#); [Kadota et al., 2017](#); [Эберт и др., 2019](#); [Мачираджу и Гринуэй, 2019](#)).

Сведения об авторах статьи:

1. **Латыпов Вадим Дмитриевич** – студент 3 курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина 3. e-mail: yadimlatypov4225@mail.ru
2. **Гильманов Эдуард Русланович** - студент 3 курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина 3/ e-mail: gilmanov.eduard.2003@mail.ru

