

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

УДК 577.21:576.364:615-085:576.367
© Т.И. Биккузин, В.Н. Павлов, И.Ф. Гареев, 2018

Т.И. Биккузин, В.Н. Павлов, И.Ф. Гареев
**МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**
*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Уфа*

Основопологающей идеей регенеративной медицины являются восстановление или замена тканей и органов биосовместимыми с организмом реципиента имплантатами. Плюрипотентные стволовые клетки обладают способностью к бесконечному самообновлению и дифференцировке в более чем 200 типов соматических клеток человеческого организма. В области биомедицины именно внедрение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток представляется наиболее стратегически выгодным, поскольку их источники являются относительно легкодоступными, что позволит эффективно получать и культивировать ткани *in vitro*. Перепрограммирование соматических клеток приводит к их регрессии до первоначального плюрипотентного состояния. Независимыми группами ученых были предложены разнообразные способы усовершенствования индукции плюрипотентности с целью ограничить иммуногенность и онкогенность, повысить эффективность и ускорить кинетику процесса. В этом обзоре мы проанализировали разнообразные подходы получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и выделили наиболее перспективные тенденции в развитии данного направления.

Ключевые слова: индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, репрограммирование клеток, трансдифференцировка соматических клеток.

T.I. Bikkuzin, V.N. Pavlov, I.F. Gareev
METHODS OF OBTAINING INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS

The fundamental task of regenerative medicine is the renewal or replacement of tissues and organs by recipient biocompatible implants. Pluripotent stem cells have the capacity for endless self-renewal and differentiation into more than 200 types of adult cells of human body. In the field of biomedicine, the introduction of induced pluripotent stem cells (iPSC) seems to be the most strategically advantageous, because their sources are relatively available, enabling to effectively produce and cultivate tissues *in vitro*. Reprogramming of somatic cells leads to their regression to the original pluripotent state. Independent groups of scientists have proposed a variety of ways to improve the induction of pluripotency, in order to limit immunogenicity, oncogenicity and to increase efficiency and speed up the kinetics of the process. In this review, we have analyzed a variety of approaches for obtaining iPSC and identified the most promising trends in the development of this direction.

Key words: induced pluripotent stem cells, cell reprogramming, somatic cells transdifferentiation.

Плюрипотентные стволовые клетки обладают возможностью неограниченного самообновления и дифференцировки во все типы ткани, образуя из одного из трех эмбриональных зародышевых листков. Такие клетки могут сыграть важную роль в лечении многих заболеваний, таких как рак, сердечно-сосудистые заболевания, диабет, дегенеративные болезни и аутоиммунные нарушения, и также при трансплантации тканей при травмах. Цель регенеративной медицины заключается в получении специфических биоструктур для восстановления или замены поврежденных тканей и органов. Важным моментом процесса имплантации является иммунная реакция «трансплантат против хозяина», поэтому часто клеточная терапия поддерживается собственными клетками пациента или иммуно-подобранными донорскими клетками. Индукция плюрипотентных стволовых клеток, или репрограммирование, представляет собой процесс регресса соматической клетки обратно в свое начальное состояние, называемое плюрипотентным. Репрограммированием также можно осуществить прямое преобразо-

вание одного типа клетки в другой без «промежуточного этапа» стволовой клетки [9,13,17,25].

Впервые индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) были получены при помощи применения четырех факторов транскрипции: Oct3/4, Sox2, Klf4 и c-Myc. Данные клетки похожи на эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) в отношении морфологии, фенотипа, их транскрипции и эпигенетики [1,25,26].

Наиболее часто используемым типом соматических клеток в репрограммировании являются фибробласты. Есть ряд различий между фибробластами и ЭСК, и, наоборот, ИПСК имеют похожие характеристики с раковыми клетками, такие как развитие «бессмертной» линии клеток, высокая скорость пролиферации, сходство в сигнатуре экспрессии генов, похожий эпигенетический статус и хромосомная нестабильность. Транскрипционный фактор p53, выполняя роль супрессора опухоли, предотвращает иницирование образования опухоли путем индукции клеточного цикла, старения, восстановления ДНК и

апоптоза. Отсутствие белка p53 или мутация его гена облегчает ядерное репрограммирование, что доказывает участие p53 в дифференцировке и подчеркивает сходство процессов репрограммирования и формирования опухоли. Существует множество методов получения ИПСК. Ниже представлено описание данных методов [1,2,17,22].

Методы индукции плюрипотентности

Относительно легкодоступный источник ИПСК позволит эффективно выводить и культивировать такие ткани *in vitro*. За последние десять лет было предложено множество методов перепрограммирования для нивелирования рисков иммуногенности и онкогенности, повышения эффективности и ускорения кинетики процесса [9,23]. Индукция ИПСК должна приводить к вредным мутациям ДНК, однако недавние исследования опровергли данные опасения и продемонстрировали состоятельность ИПС-клеточной терапии [3].

Способы индукции можно условно разделить на вирусные, невирусные и метод трансгенного удаления. Вирусом могут быть доставлены как гены, так и векторы плюрипотентности.

В классических методах индукции используются вирусы в качестве «доставщиков» перепрограммирующих гены факторов. Эти технологии включают в себя: векторы, которые интегрируются напрямую в геном хозяина, и «носители», такие как лентивирусы и ретровирусы, а также аденовирусы или вирус Сендай, которые не интегрируются. Среди невирусных способов перепрограммирования можно выделить две группы: ДНК / РНК-содержащие методы, основанные на применении нуклеиновой кислоты, а именно ДНК-плазмиды, эписомальная векторная система, минициклы, липосомальная магнификация, матричная РНК, микроРНК и наконец безвирусные и безнуклеиновые методы: применение рекомбинированных белков и малых молекул. Трансгенные методы представлены системами Cre-loxP и PiggyBac.

Вирусные методы с интеграцией векторов

Лентивирусы и ретровирусы используются в качестве векторов, которые самопроизвольно интегрируются в геном клеток. Вследствие чего вероятность изменений в последовательности активных генов клеток остается низкой. Ретровирусная доставка четырех факторов транскрипции: Oct3/4, Sox2, Klf4 и c-Myc («коктейль Яманаки») – стала первым методом перепрограммирования [26,30]. Одним из минусов данного подхода

является использование факторов Klf4 и c-Myc, которые обладают свойством провоцировать онкогенез на моделях подопытных животных, что делает ретровирусный метод неприемлемым для дальнейших клинических исследований [13]. В 2007 году группа исследователей получила человеческие ИПС-клетки посредством лентивирусной векторной интеграции факторов Oct3/4, Sox2, Nanog, and Lin28. Транскрипционные факторы Lin28 и Nanog являются маркерами недифференцированных человеческих эмбриональных стволовых клеток. Они повышают эффективность образования клеток ИПСК из фибробластов человека [30].

Вирусные методы без интеграции векторов

Для разрешения проблем канцерогенеза были разработаны альтернативные методы перепрограммирования с использованием неинтегрирующих аденовирусов. Мышечные фибробласты и клетки печени были перепрограммированы в ИПСК с использованием аденовирусов с четырьмя описанными ранее факторами транскрипции [8].

Также существует метод индукции человеческих ИПСК, в которых эписомальные плазмиды транспортируются неинтегрирующим вирусом Сендай. После применения этот вирус РНК относительно легко выводится из биосистемы [6]. Данный метод продемонстрировал более высокую эффективность индукции плюрипотентных стволовых клеток в сравнении с ретровирусным способом [6,19].

Безвирусные ДНК- и РНК – содержащие методы

ДНК-плазмиды, заключающие в себе перепрограммирующие факторы Яманаки Oct4, Sox2, Klf4 и c-Myc, были предложены для индуцирования человеческих плюрипотентных стволовых клеток. Несмотря на то, что векторы индукции присутствуют в клетке в течение нескольких клеточных циклов, они не интегрируются в геном и не экспрессируют перепрограммирующие факторы, поэтому необходимы повторные трансфекции плазмид [18,29].

Исследования, в которых применялась эписомальная векторная система, продемонстрировали возможность избежать трансгенную интеграцию непосредственно в геном перепрограммируемой человеческой клетки [18]. Ключевая роль данного метода отведена ядерному антигену-1 Эпштейна–Барра (oriP-EBNA1), который без интеграции синхронно с геномом хозяина подвергается внехромосомной репликации [29]. Эта технология была улучшена за счет подавления протеина p53 и

замены с-Мус на нетрансформирующийся L-Мус, что привело к увеличению генерации ИПСК [19,23].

Мини-циклы – это векторы, не связанные с ДНК-несущими плазмидами. Они содержат эукариотический промотор и комплементарную ДНК (сDNA) для экспрессии. Мини-циклы обладают меньшим молекулярным размером, способны трансфектировать более эффективно и обеспечивать более длительную трансгенную экспрессию факторов по сравнению с плазмидами [8].

Липосомальная магнитная катификация основана на самосборке катионных комплексов липидов и плазмид или коротких интерферирующих РНК (siRNA) с магнитными наночастицами железа. Подобные комплексы концентрируются на поверхности клеток и подвергаются воздействию магнитного поля для трансфекции векторов внутрь клетки [15].

Следующим доступным способом репрограммирования является доставка синтетических молекул матричных РНК (мРНК, mRNA), кодирующих четыре фактора Яманаки посредством катионных липидных носителей [27]. Метод был улучшен добавлением мРНК Lin28, культивацией клеток в условиях гипоксии и обогащением культуральной среды вальпроевой кислотой [27,30]. Однако было доказано, что эффективность данного метода ниже по сравнению с «классическими» методами репрограммирования с помощью ретровирусов или вирусов Сендай [3].

Интересным подходом ученых для получения ИПСК стало применение микроРНК (miRNA) [24]. Некоторые типы микроРНК, ассоциированные с ЭСК, участвуют в контроле экспрессии генов, поддерживающих плюрипотентность стволовой клетки. Например, miR-93 может блокировать рецептор TGF β II, повышая тем самым эффективность перепрограммирования. МикроРНК из семейства miR-302 в сочетании с факторами Яманаки улучшает эффективность перепрограммирования человеческих фибробластов [24]. Более того, было доказано, что трансфекция коктейля из miR-200, miR-302 и miR-369 может индуцировать плюрипотентность в клетках человека [14]. Схожие результаты были достигнуты при применении комбинации из miR-302/367 [31].

Безвирусные не ДНК- и РНК – содержащие методы

Доставка рекомбинированных белков, несущих в себе факторы перепрограммирования, в клетки вместо экспрессии генов позволяет значительно снизить риск генетических изменений в процессе получения ИПСК. Од-

нако эффективность этого метода относительно мала [5,11].

Одним из наиболее перспективных методов репрограммирования является применение «малых молекул». Ученые активно изучают виды и функции этих химических соединений, способных проникать через клеточные мембраны. Данные вещества способны осуществлять доставку трансгенной ДНК или напрямую вызывать индукцию ИПСК [5].

Использование «малых молекул» даёт ряд непревзойдённых преимуществ, таких как простота синтеза, простота хранения, быстрота и обратимость процессов. Благодаря обширному спектру структурного разнообразия данных соединений предоставляется возможность модулировать внутриклеточные процессы на эндогенном уровне посредством коррекции их комбинаций и дозировки в определенный промежуток времени [7]. Мышечные фибробласты, нервные стволовые клетки, а также клетки эндотелия кишечника, используя коктейль исключительно из малых молекул, были успешно репрограммированы в ИПСК [7,26]. Однако слабыми сторонами данного метода остаются: низкая эффективность и косвенный риск развития злокачественных новообразований [9].

Помимо возможностей получения и дифференциации ИПСК в специфические типы соматических клеток существует метод, объединивший эти два процесса в один, названный трансдифференцировкой. Это процесс прямой трансформации одного типа зрелой соматической клетки в другую без промежуточной стадии, такой как плюрипотентное состояние или формирование клетки-предшественника. Процесс трансдифференцировки, как правило, происходит путем подавления одной генетической программы с одновременным усилением другой [25]. Например, наиболее широкое применение получил миогенный белок дифференцировки (MyoD), который способен перепрограммировать различные типы клеток в миогенные клетки, превращать клетки печени человека в бета-клетки, клетки поджелудочной железы в гепатоциты или макрофаги, а также фибробласты в нейроны и кардиомиоциты [4,20]. Тем не менее в этих экспериментах предполагается применение ретровируса для сверхэкспрессии специфических факторов транскрипции, что приводит к значительным ограничениям использования полученных клеток в клеточной терапии и регенеративной медицине [4].

Вместе с тем группой ученых из США было предложено применить коктейль из де-

вяти малых молекул (LDN193189, SB431542, TTNPB, Tiazovivin, CHIR99021, VPA, DAPT, SAG, Purmorphamine) для трансдифференцировки астроцитов в функциональные нейроны [20]. Другая группа исследователей доказала, что функциональные кардиомиоциты могут быть получены из фибробластов кожи человека с помощью комбинации других малых молекул (CHIR99021, A83-01, VX01294, AS8351, SC1, Y27632, OAC2, SU16F и JNJ10198409) [21].

Трансгенное удаление

Существуют генетические подходы, которые позволяют удалить трансгены, интегрированные в геном будущих ИПСК – это транспозонные системы Cre-loxP и PiggyBac.

В рекомбинационной системе Cre-loxP одиночные вирусные векторы переносят каскету из четырех факторов транскрипции, которые сконструированы с применением сайтов loxP. В процессе репрограммирования loxP вытесняют интегрированную трансгенную последовательность из генома ИПСК человека [10,12], тем самым нивелируя нежела-

тельные изменения ДНК. Однако некоторая часть остаточных векторных последовательностей сохраняется и может привести к последующим клеточным мутациям [12].

Транспозонная система PiggyBac является более совершенной, чем Cre-loxP. Она позволяет транспортировать крупные фрагменты ДНК, интегрировать их в клеточный геном и затем безопасно удалить, восстановив исходное состояние подверженных интеграции геномных сайтов [28].

Детерминационная изменчивость клеток и процессы регенерации увлекали ученых на протяжении веков. Открытие технологий репрограммирования клеток стало важным этапом в развитии современной медицины. Область применения ИПСК не ограничивается регенеративной медициной. На основе этих клеток создаются модели в сфере испытательной фармакологии или медицинской генетики. Однако остаются нерешенными проблемы клинической безопасности и эффективности методов репрограммирования, что обуславливает необходимость поиска новых решений.

Сведения об авторах статьи:

Биккузин Тимур Ильдусович – аспирант кафедры урологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: nbvnext00@yandex.ru.

Павлов Валентин Николаевич – д.м.н., профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой урологии с курсом ИДПО, ректор ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

Гарев Ильгиз Фанилевич – аспирант кафедры медицинской реабилитации с курсами нейрохирургии и рефлексотерапии ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: ilgiz_gareev@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васькова, Е.А. Феномен «эпигенетической памяти» индуцированных плюрипотентных стволовых клеток / Е.А. Васькова, А.Е. Стекленева, С.П. Медведев, С.М. Закиян // *Acta naturae*. – 2013. – № 4. – С.15-23.
2. Меркулов, В.А. Проблемы и перспективы применения клеточной терапии в клинической практике / В.А. Меркулов, Н.Д. Бунятян, С.М. Радаев // *Ведомости НЦЭСМП*. – 2011. – № 2. – С.35-38.
3. Bhutani K. Whole-genome mutational burden analysis of three pluripotency induction methods / K. Bhutani [et. al.] // *J. Nat Commun*. – 2016. – Vol. 7. – P. 233-242.
4. Cohen D.E. Turning straw into gold: directing cell fate for regenerative medicine / D.E. Cohen [et. al.] // *J. Nat. Rev. Genet*. – 2011. – Vol.12. – P. 243-252.
5. Efe J. The evolving biology of small molecules: controlling cell fate and identity / J.A. Efe, S. Ding // *J. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. – 2011. – Vol. 36. – P. 2208-2221.
6. Fusaki N. Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome / N. Fusaki [et. al.] // *J. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. – 2009. – Vol. 85. – P. 348-362.
7. Hou P. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds / P. Hou [et. al.] // *J. Science*. – 2013. – Vol. 341. – P. 651-654.
8. Jia F. A nonviral minicircle vector for deriving human iPS cells / F. Jia [et. al.] // *J. Nat Methods*. – 2010. – Vol. 7. – P. 197-199.
9. Jopling C. Dedifferentiation, transdifferentiation and reprogramming: three routes to regeneration. / C. Jopling [et. al.] // *J. Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2011. – Vol. 12. – P. 79-89.
10. Kaji K. Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors / K. Kaji [et. al.] // *J. Nature*. – 2009. – Vol. 458. – P. 771-775.
11. Kim D. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins / D. Kim [et. al.] // *J. Cell Stem Cell*. – 2009. – Vol. 4. – P. 472-476.
12. Loh Y.H. Excision of a viral reprogramming cassette by delivery of synthetic Cre mRNA / Y.H. Loh [et. al.] // *J. Curr Protoc Stem Cell Biol*. – 2012. – Vol. 4. – P. 188-202.
13. Ma T. Progress in the reprogramming of somatic cells / T. Ma [et. al.] // *J. Circ Res*. – 2013. – Vol. 112. – P. 562-574.
14. Miyoshi N. Reprogramming of mouse and human cells to pluripotency using mature microRNAs. / N. Miyoshi [et. al.] // *J. Cell Stem Cell*. – 2011. – Vol. 8 – P. 633-638.
15. Mykhaylyk O. Liposomal magnetofection / O. Mykhaylyk [et. al.] // *J. Methods Mol Biol*. – 2010. – Vol. 605. – P. 487-525.
16. Nie B. Cellular reprogramming: a small molecule perspective / B. Nie [et. al.] // *J. Curr Opin Cell Biol*. – 2012. – Vol. 6 – P. 784-792.
17. Nichols J. Pluripotency in the embryo and in culture / J. Nichols, A. Smith // *J. Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2012. – Vol. 4. – P.103-116.
18. Okita K. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors / K. Okita [et. al.] // *J. Science*. – 2008. – Vol. 22 – P. 949-953.
19. Okita K. A more efficient method to generate integration-free human iPS cells / K. Okita [et. al.] // *J. Nat Methods*. – 2011. – Vol. 5. – P. 409-412.

20. Sachamitr P. Induced pluripotent stem cells: challenges and opportunities for cancer immunotherapy / P. Sachamitr [et. al.] // J. Front. Immunol. – 2014. – Vol. 5. – P. 48-62.
21. Soda Y. Transdifferentiation of glioblastoma cells into vascular endothelial cells / Y. Soda [et. al.] // J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011. – Vol.108. – P. 4274-4280.
22. Shen C.N. Transdifferentiation of pancreas to liver / C.N Shen [et. al.] // J. Mech. Dev. – 2003. – Vol.120. – P. 107-116.
23. Surget S. Uncovering the role of p53 splice variants in human malignancy: a clinical perspective / S. Surget, M.P. Khoury, J.C. Bourdon // J. Onco Targets Ther. – 2006. – Vol. 7. – P.57-58.
24. Subramanyam D. Multiple targets of miR-302 and miR-372 promote reprogramming of human fibroblasts to induced pluripotent stem cells / D. Subramanyam [et. al.] // J. Nat Biotechnol. – 2011. – Vol. 29. – P. 443-448.
25. Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors / K. Takahashi [et. al.] // J. Cell. – 2007. – Vol. 30. – P. 861-872.
26. Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors / K. Takahashi, S. Yamanaka // J. Cell. – 2006. – Vol. 126. – P.663-676.
27. Warren L. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA / L. Warren [et. al.] // J. Cell Stem Cell. – 2010. – Vol. 7. – P. 618-630.
28. Woltjen K. PiggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells / K. Woltjen [et. al.] // J. Nature – 2009. – Vol. 458. – P. 766-770.
29. Yu J. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences / J. Yu [et. al.] // J. Science. – 2009. – Vol. 324 – P. 797-801.
30. Yu J. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells / J. Yu [et. al.] // J. Science. – 2007. – Vol. 318. – P. 1917-1920.
31. Xiao B. MicroRNA cluster 302-367 enhances somatic cell reprogramming by accelerating a mesenchymal-to-epithelial transition / B. Xiao [et. al.] // J Biol Chem. – 2011. – Vol. 13. – P. 17359-17364.

REFERENCES

1. Vaskova E.A., Stekleneva A.E., Medvedev S.P., Zakian S.M. "Epigenetic Memory" Phenomenon in Induced Pluripotent Stem Cells. Acta Naturae, 2013, vol. 5, No 4. P. 15-21. (in Russ)
2. Merkulov V.A., Bunyatyan N.D., Radaev S.M. Bhutani K. Problems and perspectives of cell therapy in clinical practice. Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 2011, № 2, P. 35-38. (in Russ)
3. Bhutani K. [et. al.] Whole-genome mutational burden analysis of three pluripotency induction methods. J. Nat Commun., 2016, Vol. 7, P. 233-242. (in English)
4. Cohen D.E. [et. al.] Turning straw into gold: directing cell fate for regenerative medicine. J. Nat. Rev. Genet., 2011, Vol.12, P. 243-252. (in English)
5. Efe J., Ding S. The evolving biology of small molecules: controlling cell fate and identity. J. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci., 2011, Vol. 36, P. 2208-2221. (in English)
6. Fusaki N. [et. al.] Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. J. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci., 2009, Vol. 85. P. 348-362. (in English)
7. Hou P. [et. al.] Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. J. Science. 2013. Vol. 341. P. 651-654. (in English)
8. Jia F. [et. al.] A nonviral minicircle vector for deriving human iPS cells. J. Nat Methods. 2010. Vol. 7. P. 197-199. (in English)
9. Jopling C. [et. al.] Dedifferentiation, transdifferentiation and reprogramming: three routes to regeneration. J. Nat Rev Mol Cell Biol. 2011. Vol. 12. P. 79-89. (in English)
10. Kaji K. [et. al.] Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors. J. Nature. 2009. Vol. 458. P. 771-775. (in English)
11. Kim D. [et. al.] Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. J. Cell Stem Cell. 2009. Vol. 4. P. 472-476. (in English)
12. Loh Y.H. [et. al.] Excision of a viral reprogramming cassette by delivery of synthetic Cre mRNA. J. Curr Protoc Stem Cell Biol. 2012. Vol. 4. P. 188-202. (in English)
13. Ma T. [et. al.] Progress in the reprogramming of somatic cells. J. Circ Res. 2013. Vol. 112. P. 562-574. (in English)
14. Miyoshi N. [et. al.] Reprogramming of mouse and human cells to pluripotency using mature microRNAs. J. Cell Stem Cell. 2011. Vol. 8. P. 633-638. (in English)
15. Mykhaylyk O. [et. al.] Liposomal magnetofection. J. Methods Mol Biol. 2010. Vol. 605. P. 487-525. (in English)
16. Nie B. [et. al.] Cellular reprogramming: a small molecule perspective. J. Curr Opin Cell Biol. 2012. Vol. 6 P. 784-792. (in English)
17. Nichols J., Smith A. Pluripotency in the embryo and in culture. J. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012. Vol. 4. P.103-116. (in English)
18. Okita K. [et. al.] Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. J. Science. 2008. Vol. 22. P. 949-953. (in English)
19. Okita K. [et. al.] A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. J. Nat Methods. 2011. Vol. 5. P. 409-412. (in English)
20. Sachamitr P. [et. al.] Induced pluripotent stem cells: challenges and opportunities for cancer immunotherapy. J. Front. Immunol. 2014. Vol. 5. P. 48-62. (in English)
21. Soda Y. [et. al.] Transdifferentiation of glioblastoma cells into vascular endothelial cells. J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. Vol.108. P. 4274-4280. (in English)
22. Shen C.N. [et. al.] Transdifferentiation of pancreas to liver. J. Mech. Dev. 2003. Vol.120. P. 107-116. (in English)
23. Surget S., Khoury M.P., Bourdon J.C. Uncovering the role of p53 splice variants in human malignancy: a clinical perspective. J. Onco Targets Ther. 2006. Vol. 7. P.57-58. (in English)
24. Subramanyam D. [et. al.] Multiple targets of miR-302 and miR-372 promote reprogramming of human fibroblasts to induced pluripotent stem cells. J. Nat Biotechnol. 2011. Vol. 29. P. 443-448. (in English)
25. Takahashi K. [et. al.] Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. J. Cell. 2007. Vol. 30. P. 861-872. (in English)
26. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. J. Cell. 2006. Vol. 126. P.663-676. (in English)
27. Warren L. [et. al.] Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. J. Cell Stem Cell. 2010. Vol. 7. P. 618-630. (in English)
28. Woltjen K. [et. al.] PiggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. J. Nature. 2009. Vol. 458. P. 766-770. (in English)
29. Yu J. [et. al.] Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. J. Science. 2009. Vol. 324. P. 797-801. (in English)

30. Yu J. [et. al.] Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. J. Science. – 2007. Vol. 318. P. 1917-1920. (in English)
31. Xiao B. [et. al.] MicroRNA cluster 302-367 enhances somatic cell reprogramming by accelerating a mesenchymal-to-epithelial transition. J Biol Chem. 2011. Vol. 13. P. 17359-17364. (in English)

УДК 616.155.194-07

© Г.А. Дудина, С.В. Семочкин, Б.А. Бакиров, 2018

Г.А. Дудина¹, С.В. Семочкин², Б.А. Бакиров³

РИСК-АДАПТИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ

¹ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова» ДЗМ, г. Москва

²ФГБОУ ВО «Российский национальный медицинский исследовательский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

³ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

Миелодиспластические синдромы (МДС) – гетерогенная группа клональных гематологических опухолей, объединяемых общим происхождением из стволовой гемопоэтической клетки, которые характеризуются неэффективным кроветворением в результате избыточного апоптоза созревающих гемопоэтических клеток костного мозга. Ключевую роль в возникновении патологического клона клеток при МДС играют эпигенетические изменения. Частота встречаемости МДС в России составляет около 2,0 случая на 100000 населения и увеличивается с возрастом. Текущая классификация МДС была пересмотрена экспертами ВОЗ в 2016 году. Выбор оптимальной терапии определяется морфологическим вариантом МДС, степенью риска трансформации в острые миелоидные лейкозы (ОМЛ), возрастом и общим состоянием пациента. Леналидомид – противоопухолевый иммуномодулятор, который показал высокую клиническую активность, в том числе достижение трансфузионной независимости и цитогенетических ответов у пациентов с МДС с делецией длинного плеча хромосомы 5 (5q-). Гипометилирующий препарат азациитидин по сравнению с традиционной терапией пролонгирует общую выживаемость пациентов с МДС высокого риска. В данной статье мы комментируем новую классификацию ВОЗ, особенности оценки прогноза, механизмы действия леналидомид и гипометилирующих агентов, а также обсуждаем новые клинические данные по применению этих препаратов в лечении МДС.

Ключевые слова: миелодиспластические синдромы, IPSS-R, леналидомид, азациитидин, децитабин.

G.A. Dudina, S.V. Semochkin, B.A. Bakirov

RISK-ADAPTED THERAPY OF MYELODYSPLASTIC SYNDROMES

Myelodysplastic syndromes (MDS) are a heterogeneous and complex group of clonal hematological neoplasms arising from a hematopoietic stem cell, and characterized by ineffective hematopoiesis, resulting from increased apoptosis in the bone marrow. Epigenetic changes are reported as key mutations in the case of MDS. Its incidence in Russia is documented as 2.0 new MDS diagnoses per 100,000 people and its incidence increases with age. Current diagnostic WHO classification of MDS was revised in 2016. The choice of therapy depends on the morphological MDS subtypes, the risk of its transformation into acute myeloid leukemia, age and general condition of the patient. Lenalidomide is an antineoplastic drug with the most impressive clinical activity, including achievement of transfusion independence and cytogenetic responses in MDS patients who harbor a deletion of the long arm of chromosome 5 (5q-). The hypomethylating agent azacitidine prolongs survival among patients with higher risk MDS compared with conventional care. In this article, we review the new classification of WHO, features of estimating the prognosis, mechanisms of action of lenalidomide and hypomethylating agents, and also discuss the most recent clinical data regarding its use in patients with MDS.

Key words: myelodysplastic syndromes, IPSS-R, lenalidomide, azacitidine, decitabine.

Миелодиспластические синдромы (МДС) – гетерогенная группа клональных гематологических опухолей, объединяемых общим происхождением из стволовой гемопоэтической клетки. Помимо возникновения драйверных онкогенных мутаций ключевую роль в возникновении патологического клона также играют эпигенетические изменения, включающие гиперметилирование ДНК, деметилирование гистонов и корегуляцию транскрипции [1]. МДС характеризуется неэффективным гемопоэзом, являющимся следствием избыточного апоптоза созревающих гемопоэтических клеток костного мозга. Заболевание проявляется цитопениями одной или более миелоидных линий, морфологическими признаками дисплазии этих клеток, увеличением количества бластных клеток в крови и/или кост-

ном мозге вплоть до 20%, характерными цитогенетическими молекулярно-генетическими нарушениями и риском трансформации в острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) [2].

Эпидемиология

По данным регистра SEER заболеваемость МДС в США в 2010 году составляла 3,4 новых случая на 100000 населения [3]. В Нидерландах – 2,3 и 2,8 случая на 100000 населения в 2001-2005 и 2006-2010 годах соответственно с максимальной частотой у пациентов ≥80 лет – 32,1 случая [4]. Сведения по эпидемиологии МДС в целом по России отсутствуют. В Москве в 2010 году МДС был впервые диагностирован у 201 пациента, заболеваемость составила 2,0 случая на 100000 населения. Медиана возраста – 71,5 (разброс 23,9-93,7) года. Максимальная заболеваемость за-