

Р.К. Абдель Нур

ПРИМЕНЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ РОГОВИЦЫ

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. А.Ю. Чекина

Кафедра глазных болезней

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

R.K. Abdl Nour

USE OF STEM CELLS IN CORNEAL TREATMENT

Tutor: PhD, associate professor A.Y. Chekina

Department of Eye Diseases

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Роговичная слепота из-за нарушения прозрачности роговицы является одной из основных причин потери зрения. В последние несколько лет интенсивные исследования были сосредоточены на стволовых клетках роговицы как источнике регенеративной клеточной терапии. В этом обзоре обобщены современные знания об альтернативном источнике стволовых клеток в регенеративной терапии роговицы.

Ключевые слова: роговица, лимбальные стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки.

Resume. Corneal blindness due to compromised corneal transparency is a major cause of blindness. In the past few years, intensive research has focused on corneal stem cells as a source of regenerative cell-based therapy. This review summarizes the current knowledge on alternative source of stem cells in regenerative therapy of the cornea.

Keywords: cornea, limb stem cells, mesenchymal stem cells.

Актуальность. Заболевания роговицы являются одной из основных причин роговичной слепоты. Примерно 4,6 миллиона пациентов во всем мире страдают от двусторонней слепоты роговицы, в то время как 23 миллиона пациентов страдают от односторонней слепоты, обусловленной патологией роговой оболочки [1, 2]. Стандартным лечением тяжелых заболеваний роговицы, сопровождающиеся помутнением поверхностных и глубоких слоев роговой оболочки, является трансплантация роговицы. Однако отторжение роговичного трансплантата, особенно в условиях высокого риска, потребовали сосредоточить внимание на поиске альтернативных методов лечения [3].

Показано, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) имеют потенциальную терапевтическую ценность в восстановлении роговицы, так как обладают противовоспалительным и модулирующим ангиогенез роговицы действием, способны подавлять отторжение трансплантата и содействовать заживлению ран роговицы [4].

Цель: Проанализировать эффективность регенеративных процессов при воспалительно-дистрофических заболеваниях роговицы у пациентов на основе использования биомедицинского клеточного продукта (БМКП), включающего аутологичные культивированные эпителиальные стволовые клетки лимба (ЭСКЛ) роговицы и мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани (МСК ЖТ).

Задачи:

1. Анализ эффективность проведенного лечения с использованием трансплантации стволовых клеток.

2. Определить безопасность проведенного лечения.

Материалы и методы. Клиническое изучение эффективности и безопасности аутологичных ЭСКЛ и МСК ЖТ было проведено на 27 пациентах (27 глаз): 16 мужчин (60%) и 11 женщин (40%) с воспалительно-дистрофическими заболеваниями роговицы различной этиологии. Средний возраст пациентов составил 51,5 лет. С целью выделения и накопления биомассы стволовых и прогениторных клеток в условиях культуры предварительно у пациентов производилась эксплантация кератолимбального фрагмента с целью культивирования аутологичных эпителиальных стволовых клеток и подкожной жировой клетчатки, с целью культивирования аутологичных мезенхимальных стволовых клеток.

Фенотип ЭСКЛ определяли с помощью методов проточной цитофлуориметрии и прямого метода флуоресцирующих антител, меченных FITC к маркеру K19 (Abcam, США), антителами к нестину, и к белку р63, меченными Alexa Fluor 488 (R&D Systems, США) (рисунок 1).

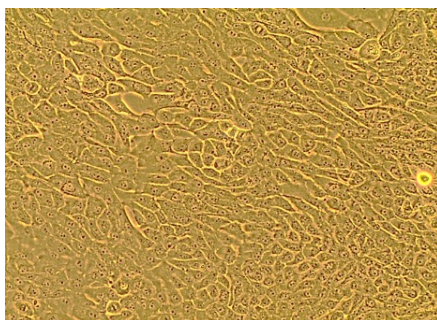


Рис. 1 – Сформированный монослой эпителиальных стволовых клеток лимба

Фенотип МСК ЖТ подтверждали с помощью проточной цитофлуориметрии, используя антитела к поверхностным маркерам (CD29, CD44, CD90 и CD105) (рисунок 2).

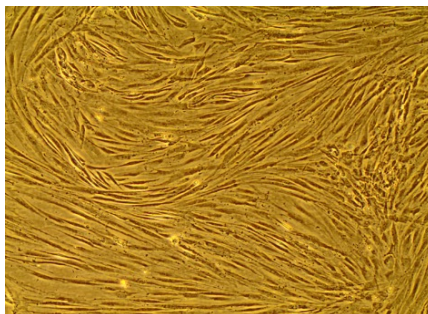


Рис. 2 – Сформированный монослой мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани

У 8 пациентов локальная перилимбальной инъекции была выполнена однократно, у 14 пациентов – дважды, у 2 – трижды, у 3 – четырежды. При необходимости повторное введение СК выполнялось с интервалом от 2 недель до 3

месяцев. Всего –54 инъекции: ЭСКЛ – 10 инъекций; МСК ЖТ – 44 инъекции.

Результаты и их обсуждение. Динамику регенеративного процесса в роговой оболочке глаза после перилимбального введения БМКП оценивали по срокам эпителизации изъязвлений роговицы с использованием красящей пробы с флюоресцеином. Улучшение остроты зрения наблюдалось как в раннем периоде (1–3 мес. после клеточной трансплантации) в 81,8% случаев, так и в позднем посттрансплантационном периоде (через 3 мес. и больше, после введения СК) в 87,5% случаев. Более высокая острота зрения в позднем посттрансплантационном периоде объясняется проведением не только клеточной терапии, но и хирургических операций (послойная или сквозная пересадки роговицы, удаления осложненной катаракты; лазерной дисцизии задней капсулы хрусталика). Не выявлено достоверной разницы между используемыми типами стволовых клеток (эпителиальными или мезенхимальными) и показателями остроты зрения в ранний и поздний периоды наблюдения после лечения.

Представляем клинический случай 1. Пациентка К., № 3, жен., 26 лет. Диагноз: эпителиопатия роговицы, ретинопатия недоношенных IV ст., артефакция, горизонтальный нистагм правого глаза, анофтальм слева. До проведения клеточной терапии пациентка в течение месяца применяла противовоспалительные глазные капли (диклофенак, неванак), антибиотики (левофлоксацин, тобрамицин), лубриканты, однако сохранялся выраженный роговичный синдром, эпителий роговицы окрашивался флюоресцеином. Проведенные перилимбальные инъекции МСК ЖТ 500 тыс. клеток, дважды с интервалом в 2 недели, в сочетании с лубрикантами, способствовали быстрой эпителизации роговицы, исчезновению роговичного синдрома, улучшению остроты зрения (Рис. 3,4).

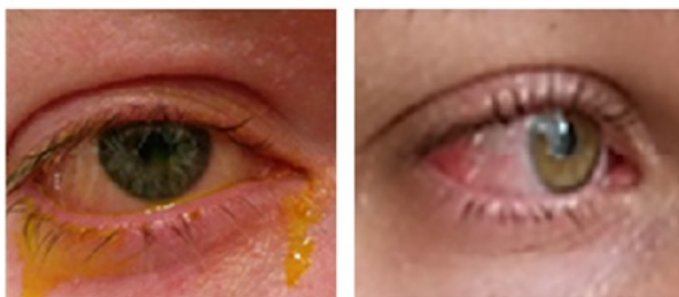


Рис. 3 – Глаз пациентки до лечения



Рис. 4 – Глаз пациентки после лечения

Клинический случай 2. Пациентка В., № 5. жен., 67 лет. Диагноз: химический ожог роговицы и конъюнктивы, дистрофия роговицы, закрытоугольная глаукома IV с левого глаза; закрытоугольная глаукома I а правого глаза. Проведена перилимбальная терапия ЛЭСК и МСК ЖТ по 500 тыс. клеток. Клеточная терапия в комбинации с хирургической и консервативной терапией глаукомы способствовала нормализации внутриглазного давления, уменьшению отека роговицы, повышению остроты зрения.

ВГД OS = 100 мм рт. ст. до лечения, 20 мм рт. ст. после лечения. Острота зрения на левом глазу до лечения МСК ЖТ и ЛЭСК OS = 0,1; через месяц острота зрения OS = 1,0.

Клинический случай 3. Пациент Р. №16, муж., 70 лет. Диагноз: послеожоговая дистрофия роговицы с неоваскуляризацией и помутнением; дефицит лимбальных стволовых клеток, конъюнктивизация глазной поверхности OD; рубцовый заворот верхнего века, трихиаз OS; осложненная катаракта обоих глаз. Острота зрения на правом глазу Vis OD = 0,01; ЦТР 587 мкм. Через 7 дней после клеточной терапии Vis OD = 0,04; ЦТР 570 мкм. Через месяц проведена пересадка роговой оболочки с разворотом поверхностных слоёв роговицы от центра к периферии (по методике профессора Мороз З.И., Москва), повторное введение МСК ЖТ. Vis OD = 0,1. Трижды после пересадки роговицы ежемесячно введение МСК ЖТ по 500 тыс. клеток. Острота зрения повысилась Vis OD = 0,3; ЦТР 545 мкм – норма.

Выводы:

1. Перилимбальная клеточная терапия аутологичными эпителиальными стволовыми клетками лимба (ЭСКЛ) и аутологичными мезенхимальными стволовыми клетками жировой ткани (МСК ЖТ) является эффективным и безопасным методом лечения воспалительно-дистрофических заболеваний роговицы.

2. Высокая эффективность лечения наблюдалась при эпителиальной, стромальной дистрофии роговицы; периферических язвенных кератитах на фоне аутоиммунных заболеваний.

3. В процессе лечения и динамического наблюдения не зарегистрировано каких-либо осложнений со стороны органа зрения, а также системного побочного действия, что свидетельствует о биобезопасности локальной клеточной аутотрансплантации.

Литература

1. M.S. Oliva, T. Schottman, M. Gulati, Turning the tide of corneal blindness, Indian J. Ophthalmol. 60 (2012) 423–427. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.100540>.
2. M. Griffith, B.K. Poudel, K. Malhotra, N. Akla, M. Gonzalez-Andrades, D. Courtman, V. Hu, E.I. Alarcon, Biosynthetic alternatives for corneal transplant surgery, Expert Rev. Ophthalmol. 15 (2020) 129–1433. <https://doi.org/10.1080/17469899.2020.1754798>.
3. P. Gain, R. Jullienne, Z. He, M. Aldossary, S. Acquart, F. Cognasse, G. Thuret, Global survey of corneal transplantation and eye banking, JAMA Ophthalmol. 134 (2016) 167–1734. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2015.4776>.
4. Повещено О.В., 2018; Mariana Lizeth Orozco Morales, 2019; Aline Lütz de Araujo, 2015.