

Узунишвили С.М., Смолянинов А.Б., Жаров Е.В.

Современные проблемы регенеративной медицины и клеточных технологий

(по материалам международного конгресса по стволовым клеткам, Сан-Диего, Калифорния, США, 2007 г.)

ГУ НЦ АГиП Росмедтехнологий

Центр клеточной и генной терапии, Покровский банк стволовых клеток, г. Санкт-Петербург

12–14 февраля 2007 г. в Сан-Диего (Калифорния, США) состоялся Международный конгресс по вопросам стволовых клеток (СК). Свои доклады представили ученые из различных стран. В настоящее время интерес к СК не ослабевает, а наоборот усиливается с каждым годом, при этом ученые пытаются найти СК в каждой ткани и каждом органе, то есть речь идет о дифференцированных СК. Также важно решение проблемы регенеративной медицины во многих областях с применением СК.

В настоящее время немалый интерес представляет такой ресурс, как эмбриональные стволовые клетки (ЭСК). ЭСК имеют наибольший потенциал к дифференцировке. Неясным, однако, остается вопрос о дальнейшей судьбе и дифференцировке ЭСК. Известны случаи, когда, после трансплантации ЭСК (менее 1%) развивались опухоли, ткани которой были представлены всеми слоями зародыша. Именно это, а также довольно спорный вопрос о этической и религиозной стороне останавливает ученых от широкого применения ЭСК. Немаловажно также, что ЭСК в культуре должны поддерживать самовозобновление и оставаться при этом недифференцированными, а это значит, что одна линия клеток может находиться в культуре годами, при этом не избежать генных мутаций и других нежелательных последствий культивирования. ЭСК – это довольно капризный вид клеток, малейшее изменение условий может привести к спонтанной дифференцировке, а периодически клетки начинают дифференцироваться и без видимых причин.

Обзор основных докладов

R. Ali (2007) выступил с докладом о восстановлении сетчатки после трансплантации СК. Группе ученых во главе с докладчиком удалось выделить специфические СК – это клетки-предшественники фоторецепторов. В представленном клиническом случае (в результате травмы произошла практически полная утрата зрения) после пересадки СК было отмечено значительное улучшение зрения. Больной находится под наблюдением.

Биологические и этические перспективы применения стволовых клеток были представлены S. Minger (2007). Данный доклад затрагивал проблемы, которые возникают в обществе при применении СК. Общее мнение христианских священнослужителей таково – для применения клеточных технологий не следует применять ЭСК.

Трансплантация ЭСК человека восстанавливает повреждения спинного мозга на модели изменений спинного мозга крысы. Это было представлено в докладе J. Sharma (2007). Человеческие СК, полученные из амниотической жидкости, представляют собой потенциально интересный ресурс. СК, полученные из амниотической жидкости, выращенные в спе-

циальной среде (celprogen's matrix and serum free media) могут быть использованы при различных повреждениях нервной системы, связанных с перенесенным инсультом. Целью исследования была необходимость узнать, могут ли СК амниотической жидкости восстановить поврежденный спинной мозг. Повреждение спинного мозга было смоделировано на крысах. В первую группу вошли крысы, которым провели трансплантацию сразу после повреждения, во вторую группу – животные, которым трансплантацию СК провели через 2 недели после повреждения. Значимых различий в данных группах не получено. Показано восстановление спинного мозга и возвращение двигательной функции. Дальнейшие исследования (иммуногистохимия) показали, что пересаженные СК присутствуют в организме, и инфильтрируют место повреждения. В дальнейшем показана дифференцировка СК в олигодендроциты. Таким образом, при повреждении спинного мозга и введении СК наблюдается миелинизация волокон с восстановлением электрической проводимости.

J. Daniels et al. (2007) исследовала роговицу – как модель ниши специфических СК. В ее сообщении было описано обнаружение специфических СК в лимбе. Их повреждение может вести к тяжелым патологиям зрения. Обнаружение СК дает ключ к излечению этих заболеваний с применением методов клеточной и генной терапии.

СК волосяных фолликулов были исследованы группой M. Sieber-Blum (2007). СК волоса расположены в районе луковицы волосяного фолликула. Они могут быть изолированы и рассматриваться как популяция мультипотентных СК. In vitro из СК волосяного фолликула могут быть получены клетки-предшественники нейронов, миофибробластов и остеобластов. Данные СК могут быть культивированы до количества 1 миллион клеток на 1 кг/веса больного без потери маркеров СК. При пересадке в спинной мозг, СК не формируют опухолей и экспрессируют маркеры олигодендроцитов. СК волосяных фолликулов могут быть использованы как ресурс для различных терапевтических регенеративных направлений.

R. Harman et al. (2007) представили доклад о клиническом применении СК, выделенных из жировой ткани, в ветеринарии более чем в 2000 случаях. Проведены ортопедические операции с применением СК у лошадей и собак. Применение СК при повреждениях суставов, связок, костей и сухожилий актуально не только у людей, но и у некоторых видов животных. Врачи клиники провели более 2000 успешных применений СК полученных из жировой ткани у лошадей, получивших травмы в ходе скачек. После проведенного лечения животные успешно выступали на ипподроме. Дозы и способы доставки СК к месту повреждения требуют дальнейшего об-

суждения. В работе докладчика была отражена полная характеристика СК, результаты новых клинических исследований, а также описания наиболее интересных клинических случаев с данными ультразвуковых и магнитно-резонансных методов исследования, а также данных радиографического исследования.

Доклад по СК нервной системы был представлен F. Gage et al. (2007). Большинство клеток нервной системы взрослого человека дифференцировано, однако есть основания полагать, что небольшая популяция клеток обонятельной луковицы и гиппокампа остается недифференцированной и имеет маркеры СК. СК могут быть выделены и пересажены в место повреждения, где они дифференцируются в клетки глии или нейроны, в зависимости от микроокружения. На данный момент группа исследователей изучает условия среды, при которых СК направленно дифференцируются в тот или иной вид клеток.

Исследование по самовозобновлению ЭСК было представлено группой T. Zwaka et al. (2007) в своем докладе. Интерес к ЭСК обусловлен их плюрипотентностью – т.е. способностью при дифференцировке давать рост практически каждому типу клеток организма. Также отличительной способностью ЭСК является возможность длительное время оставаться в культуре, не дифференцируясь. Очевидно, что в данных клетках активны гены, отвечающие за поддержание плюрипотентности. Задача данного исследования выяснить, как и когда ЭСК «решают» вступать в дифференцировку. В данное время группа ученых пытается выявить специфические молекулы, контролирующие состояние хроматина, и, соответственно, активность генов в ЭСК.

Инновации по культивированию ЭСК были представлены докладом S. Sheridan (2007). ЭСК являются неоценимым материалом для генетических исследований, с тех пор как было показано, что возможно их использование для создания трансгенных животных с целью объяснения роли специфических генов, а в последнее время и для создания различных тканей для регенеративной медицины, и исследования действия различных препаратов. В докладе, в основном, обсуждались технологии культивирования ЭСК, различия сред – безсывороточных и с содержанием сыворотки.

Вопросы изоляции и модулирования нейрональных предшественников из СК были представлены в работе T. Skutella (2007). Данное исследование имеет целью показать потенциал СК, полученных из предшественников нервной ткани (модель – крупные животные). В эксперименте СК – предшественники дифференцировались в клетки глии и нейроны. В дальнейших планах научной группы, проверка в эксперименте приживляемости и клинической пригодности данных клеток.

СК для биологии или биология для СК – риск и новые возможности были представлены в докладе A. Naegaertrand (2007). СК, как бесконечный ресурс клеток, пригодных для трансплантации представляют немалый интерес. Однако для основы при культивировании СК нередко используются мышечные ЭСК. Доставка лекарств непосредственно в нишу СК

для непосредственного влияния на их дифференцировку, представляет собой будущее клеточной терапии. Дальнейшие исследования должны выявить все «за» и «против» данных методов. Мезенхимальные СК в восстановлении поврежденного скелета – от исследований к постели больного. Мезенхимальные СК являются крайне привлекательным источником для восстановления повреждения костей и хрящей. Группой ученых была выделена популяция клеток из синовиальной мембраны – легкодоступной и быстро восстанавливающейся ткани. Каждая выделенная нами СК могла дифференцироваться в хрящ, кость, жировую клетку, и скелетную мышцу. Данное открытие может найти широкое клиническое применение. Наличие так называемых «суставных СК» может привести к открытию способов воздействия на них, что поможет восстановить поверхность сустава без оперативных вмешательств *in vivo*.

Мультилинейные клетки-предшественники, выделенные из пуповинной крови, с фенотипом CD45+/CD34+/CD9+ были исследованы и представлены в докладе D. Collins (2007). Несколько групп исследователей показали наличие клеток с мультилинейным потенциалом, происходящих из CD45–/CD34– клеток, с морфологией фибробластов и характеристиками, похожими на таковые мезенхимальных СК. Различные протоколы дифференцировки показали возможность дифференцировки этих мультилинейных предшественников в адипоциты, остеобласты, хондроциты, миоциты, невральные и глиальные клетки, эндотелиальные клетки, гепатоциты. Данный факт указывает на то, что мезенхимальные СК способны дифференцироваться в ткани всех трех зародышевых слоев. Кариотипирование данных СК показало, что это нормальные диплоидные клетки, стабильные в течение многих пассажей, спонтанно не дифференцирующиеся.

На Международном конгрессе по СК перечень основных патологий, отображающих круг интересов ученых и врачей сегодня, составили такие заболевания, как:

1. Атеросклероз.
2. Ишемия (инфаркт миокарда, инсульт головного мозга).
3. Заболевания почек (хронический гломерулонефрит, хроническая почечная недостаточность).
4. Онкология, гематоонкология.
5. Миодистрофия Дюшена.
6. Заболевания поджелудочной железы.
7. Сахарный диабет.
8. Хронические гепатиты.
9. Циррозы печени.
10. Ишемические заболевания нижних конечностей в результате атеросклероза, сахарного диабета.
11. Болезнь Альцгеймера.
12. Рассеянный склероз.
13. Патология яичников.
14. Бесплодие.

Таким образом, развитие регенеративной медицины и клеточных технологий является сегодня приоритетным направлением в науке.