УДК: 611.018.1: 616–003.9

Перспективы применения стволовых клеток в регенеративной и восстановительной терапии

З.Ш.Искендерова, Ю.Б.Исмаилов, А.Т. Исмаилова Т.А.Салимли, О.Р.Исаев
Азербайджанский медицинский университет,
Научно-Исследовательский Центр, Лаборатория Культуры Клеток

Адрес электронной почты автора: smailovyusif@mail.ru

В настоящее время одним из важнейших достижений человечества является открытие стволовых клеток, обладающих уникальными свойствами, в частности их способность дифференцироваться в различные специали-зированные типы клеток. Благодаря этой способности стволовые клетки могут применяться для лечения огромного количества заболеваний. Поэтому углубленное изучение стволовые клетки является одним из перспективных проблем современной медицины.

Впервые термин стволовая клетка была предложена русским ученым гистологом А.А.Максимовым. В 1908 году он сделал доклад на съезде Немецкого гематологического общества в Берлине. А.А.Максимов высказал мнение о существовании в организме недифференцированных пожизненно сохраняющихся клеток, которые способны превращаться в специализиро-ванные клетки крови и соединительной ткани [1, 4, 6, 19].

Конец XX в. является знаменательным в результате полученных крупнейших достижений в области молекулярной и клеточной биологии. Получение методов выделения, культивирования и выращивания стволовых клеток расширили возможности применения их в медицине при лечении даже тяжелейших недуг. В 1913 году выдающийся офтальмолог В.П.Филатов заложил основы учения о тканевой терапии. Им было установлено, что консервированная в течение нескольких суток при температуре 2-4º роговица приживается лучше, чем свежая.

В 1940 году Меррисом и Сасиваком была произведена трансплан-тация 13мл. костного мозга больному с апластической анемией, которая явилась первой успешной пересадкой костного мозга.

В 1968-1969 годах российским ученым Александром Яковлевичем Фриденштейном было доказано существование стволовых стромальных клеток, и был разработан метод культивирования этих мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток. Благодаря этим открытием сегодняшняя клеточная медицина добилась колоссальных результатов [8,12,14].

На основе своих исследовательских работ А.Я.Фриденштейн и И.Л.Чертков опубликовали монографию «Клеточные основы кроветворения (кроветворные клетки предшественники)» (М.Медицина, 1977).

В 1970 годах были проведены первые трансплантации аутологичных (собственных) кроветворных клеток.

В 1998 году американскими учеными под руководством Марка Хедрика были получены стволовые клетки из жировой ткани. Ими было установлено, что эти клетки могут стать началом развития различных органов и тканей.

В 1998 году американскими учеными Джеймсон Томсоном (Висконский университет, США) и Джоном Беккером были получены (выделены) человеческие эмбриональные стволовые клетки и способы их выращивания в питательной среде. Публикация статьи в журнале Science об этом открытии произвела огромный интерес к возможностям клинического применения клеточной терапии.

Клеточная заместительная терапия – одно из приоритетных направлений современной медицины, цель которого состоит в восстановлении структуры и функций поврежденных тканей путем трансплантации клеток, выращенных в условиях in vitro.

Культивирование клеток представляет собой процесс, посредством которого in vitro отдельные клетки прокариот и эукариот выращиваются в контролируемых условиях.

Существуют следующие виды культуры клеток: первично трипси-низированные культуры клеток; субкультуры; перевариваемые культуры клеток; диплоидные культуры клеток; суспензионные культуры клеток. Когда первичные культуры клеток пассируются или субкультивируются и

выращиваются в течение длительного периода времени в свежей среде, они образуют вторичные культуры и являются долговечными (в отличие от первичных культур клеток).

Классификация СК. Во время онтогенеза стволовые клетки проходят путь от тотипотентных (т.е. клетки, способные дифференцироваться в любую зрелую клетку организма и формировать организм в целом. К ним относится оплодотворенная яйцеклетка (зигота) и клетки, образованные при первых нескольких циклах деления зиготы) к плюрипотентным (клетки, способные дифференцироваться в определенный (но не в любой) тип клеток разных тканей, не способны формировать организм в целом. Из этих стволовых клеток развиваются три зародышевых листка: эктодерма, мезодерма и энтодерма, за исключением экстраэмбриональных тканей (например плаценты), затем они становятся мультипотентными, которые дают начало унипотентным клеткам, составляющим основу частиц-предшественников [16,18, 30].

Стволовые клетки классифицируются:

1.по источнику происхождения клеток;

2.по способности к дифференцировке.

В зависимости от источника получения такие структурные клетки делятся на три группы:

1.***Эмбриональные стволовые клетки*** – получают из тканей зародыша, им характерна плюрипотенность и способность дифференцироваться во все типы клеток взрослого организма [1, 12].

2.***Фетальные стволовые клетки*** – получают из абортивного материала после прерывания беременности или после выкидыша (9-12 недели беременности). Эти клетки обладают одновременно мультипотентностью и унипотентностью. Из этих СК невозможно получить все типы клеточных структур организма. Выделенные фетальные клетки обрабатываются и применяются для трансплантации в виде клеточной суспензии, которые вводятся в организм пациента внутривенно [3, 6].

3. ***Постнатальные стволовые клетки*** – это клетки взрослого организма, содержатся и производятся в нем и не отличаются высокой потентностью. Все СК взрослого организма уже несколько специализированные и могут давать начало лишь нескольким типам клеток в пределах конкретной ткани или органа. Так как эти клетки часто находятся на определенной стадии дифференцировки, возможности их применения для регенерации органов несколько ограничивается. Постнатальные стволовые клетки в зависимости от функционального назначения делятся:

1.***Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК)*** – отвечают за регенерацию клеточных компонентов крови и иммунной системы (эритроцитов, тромбоцитов, лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов и т.д.). Источниками гемопоэтических стволовых является – костный мозг, периферическая кровь. Благодаря высокому пролиферативному потенциалу постоянный пул этих клеток сохраняется на протяжении всей жизни человека [5, 6, 15, 23, 24].

2.***Мезенхимальные или стромальные стволовые клетки (МСК***) – присутствуют в жировой ткани, в костном, хрящах и костях. Регенеративная способность МСК характеризуется их плюриопотентными, адгезивными свойствами и способностью мигрировать в область повреждения [2, 7, 8, 9, 19, 13].

3.***Тканеспецефичные*** – ***прогениторные стволовые клетки*** (multipotent adult progenitor cells, MAPCs) представляют собой малодифференцированные клетки, которые располагаются в различных тканях и органах и отвечают за обновление их клеточной популяции, т.е. замещают погибшие клетки. Эти клетки обладают широким диапазоном пластичности и участвуют в формировании практически всех типов соматических клеток. Их способность к пролиферации значительно ниже, чем у плюрипотентных стволовых клеток [8, 10].

К постнатальным стволовым клеткам относятся также ***стволовые клетки пуповинной крови*** [5, 6, 7, 11]. Из всех клеток взрослого, зрелого организма эти клетки в наименьшей степени дифференцированы, т.е. при необходимости они могут быть использованы при широком спектре заболеваний, так как они обладают наибольшим регенеративным потенциалом и высокой дифференцирующейся способностью.

По способности к дифференцировки стволовые клетки бывают:

1.тотипотентные, образующие клетки любых типов; 2.плюрипотентные, образующие клетки многих типов; 3.мультипотентные, образующие клетки несколько типов; 4.унипотентные, образующие только один тип клеток [8, 16].

Основными биологическими свойствами стволовых клеток является способность к самообразованию и пролиферации, т.е. к длительному размножению и продукции большого

количества себе подобных клеток, которые сохраняют свой фенотип в неизменном виде после деления. Способность СК давать потомство в виде дифференцированных, специализированных типов клеток называется потентностью. Стволовые клетки могут подвергаться к асимметричному и симметричному делению. При симметричном делении происходит увеличение количества сходных друг с другом дочерних клеток сохраняющие все свойства родительской клетки. При асимметричном делении одна стволовая клетка превращается в две, одна из которых продолжает делиться и образует идентичные себе стволовые клетки, а другая начинает дифференцироваться и далее специализируется в определенной тип клеток и тканей [12, 13].

В настоящее время существует ограниченное число факторов, которые обеспечивают селективную дифференцировку эмбриональных стволовых клеток. Например, нейрогенез индуцируется ретиноевой кислотой, транс-формирующий фактор роста (P-TGF) стимулирует образование мышечных клеток, интерлейкин-6 (ИЛ-6) и интерлейкин-3 (ИЛ-3) – стимулирует образование элементов крови. Дифференцировка эмбриональных стволовых клеток начинается при добавлении сыворотки в среду и элиминации лейкемического ингибирующего фактора (LIF) среды. Для целенаправленной дифференцировки эмбриональных стволовых клеток применяются разные факторы роста, которые представляют собой группу белковых молекул, влияющих на дифференцировку и пролиферацию клеток [8, 10, 13].

К ростовым факторам относятся: инсулиноподобные факторы, эпидермальный фактор роста (EGF), факторы роста фибробластов (FGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и др.

Выращивание стволовых клеток в лабораторных условиях называется культивированием клеток или культурой клетки. Прежде всего, лаборатория должна быть оснащена специальными оборудованиями, которая будет обеспечивать абсолютную стерильность и защиту от загрязнения вирусами и микроорганизмами. Выделенная из определенной ткани стволовая клетка может размножаться в культурной среде в культуральной посуде в стерильных лабораторных условиях. Стволовая клетка, прикрепляясь к пластиковой поверхности культуральной посуды, начинает активно делиться и тем самым заполняет ее площадь. Когда поверхность посуды полностью заполняется стволовой клеткой, ее пересаживают. Этот процесс может длиться неделями или месяцами до получения необходимого количества стволовых клеток. На любой стадии процесс может прерываться для замораживания полученных клеток.

Собранные стволовые клетки доставляются в лабораторию, где идет подготовка их к ***процессу замораживания***, т.е. криопрезервация. Этот процесс происходит в стерильном помещении, с определенным уровнем температуры, влажности, давления. Стволовые клетки делят на определенные дозы необходимые для трансплантации, смешивают с раствором альбумина и диметилсульфоксида (ДМСО, являющийся криопротектантом). После этого стволовые клетки замораживают и хранят при температуре -150º в жидком азоте. Функции стволовых клеток в таком состоянии сохраняются в течении 10 лет [3, 11].

Трансплантация стволовых клеток бывает:

1.Аутологичная – при этом используются собственные клетки человека

2.Аллогенная – осуществляется с помощью донорских клеток (донорами чаще всего бывают братья и сестры, реже другие близкие родственники).

При аллогенной трансплантации донор и реципиент (пациент) имеют разную иммунную систему. Поэтому для пересадки стволовых клеток донора реципиент принимает препараты, подавляющие иммунную систему (иммунодепрессанты). Пересадка аутологичных (собственных для человека применяется при лечении различных видов опухолей и представляет собой многоступенчатый метод заместительной терапии. При этом у пациента забираются стволовые клетки, которые обрабатываются, замораживаются и только после химиотерапии в виде инфузии они вводятся обратно в кровоток, откуда стволовые клетки попадая костный мозг начинают делиться и созревать в клетки крови. Попадая в кровоток трансплантированные стволовые клетки, накапливаются в местах разрушениях клеток органов и тканей и таким образом замещают собой старые клетки. При этом происходит регенерация органов и тканей, улучшение проводимости сосудов [4, 11, 13, 18, 20].

На сегодняшний день изучению стволовых клеток уделено большое внимание всего научного и медицинского мира. Клеточная медицина является самой молодой наукой, то есть наряду с медикаментозными и хирургическими методами лечения современная медицина приобрела иной, эффективный путь лечения патологических состояний – с помощью стволовых клеток. Мезенхимальные стволовые клетки находят все большее применение в различных направлениях

медицины [10, 13, 19, 25]. Самым перспективным путем их получения является жировая ткань самого пациента (например, жир оставшийся после липосакции) и которая содержит гораздо больше СК, чем в любом другом источнике. Например, из 120 мл жира можно получить 5мл обработанных ценных стволовых клеток и эти полученные клетки не требуют культивации в условиях лаборатории [3, 4, 6, 7, 18].

Лечение стволовыми клетками дает положительные результаты при инсульте, циррозе печени, сахарном диабете [11, 12, 13, 14, 22]. Российскими исследователями разработана новая технология регенерации кожных тканей у пациентов с глубокими ожогами с помощью культивированных в лабораторных условиях фибробластов, т.е. клеток благодаря которым происходит восстановление и постоянное обновление клеток кожных покровов человека. Американским исследователям удалось получить из стволовых клеток нервные клетки, которые могут быть использованы при лечении таких болезней, как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, рассеянного склероза. Стволовые клетки используются для лечения и устранения многих проблем. Они способны превращаться в ткани сосудов миокарда, преобразовываться в нейроны и нейрональные клетки, эффективные при лечении рака крови [18, 20, 21, 27, 31].

Таким образом, в последние годы область применения стволовых клеток значительно расширилась – их применяют в лечении сердечно-сосудистых заболеваний для регенерации тканей сердечной мышцы после инфаркта, в ожоговой терапии для восстановления кожных покровов у пострадавших, в косметологии и реконструктивной пластике, тяжелых наследственных недугов, эндокринной системы, неврологических заболеваний, желудочно-кишечного тракта и т.д. Также стволовые клетки результативны в лечении таких болезней, как ишемическая болезнь сердца, кардиомиопатия, стено кардия,гипертоническая болезнь,хроническая сердечная недостаточность аритмия и многих других болезней.

ЛИТЕРАТУРА

1.Агрба В.З., Порханов В.А., КоноплянниковА.Г. и др. Возможные аспекты использования культур стволовых клеток лабораторных приматов в экспериментальной медицине // Клеточные технологии в биологии и медицине, 2012, № 139-143.

2.Базарный, В.В., Гребнев, Д.Ю., Маклакова И.Ю. Вестник УГМУ. К вопросу об истории развития клеточных технологий на кафедре патологической физиологии Уральского государственного медицинского университета // Уральский государственный мед. университет, 2023. № 4, с.40-47

3.Басок Ю.Б., Пономарева А.С., Грудинин Н.В. и др. Применение мезенхимальных стромальных клеток при трансплантации солидных органов: вызовы и перспективы // Вестник трансплантологии и искусственных органов, 2025, 27(1), с. 114-134.

4.Валюшкина, М.П., Буравкова, Л.Б. Возрастные различия мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга крыс // Клеточные технологии в биологии и медицине, 2013, №1, с.11-16.

5.Вахрушева В.Ч. Патогенетическое обоснование использования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при патологии печени в зрелом и старом организме: Автореф. дис. … канд. мед. наук. Екатеринбург, 2020, 24 с.

6.Глюкман Э. Пуповинная кровь как альтернативный источник гемопоэтических стволовых клеток для трансплантации // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2011, № 1, с.12- 15. 22

7.Гольдберг, Е.Д., Дыгай, А.М., Жданов, В.В. / Современные взгляды на проблему стволовых клеток и возможности их использования в медицине // Клеточные технологии в биологии и медицине, 2012, № 4, с.184-189.

8.Дыгай А.М., Скурихин Е.Г. Стволовая клетка. Новые подходы в терапии дегенеративных заболеваний // Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2012, № 2, с.3-14. 32

9.Евдокимов П. В., Киселева А. К., Ларионов Д. С. и др. Влияние пористости материалов на основе трикальциевого фосфата на поведение мезенхимных стволовых клеток // Перспективные материалы. 2023, 6, с.24-33.

10.Ефименко, А.Ю. Роль мезенхимных стромальных клеток в регуляции ниш тканеспецифичных стволовых клеток: Дисс. …. доктора медицинских наук. Москва, 2023, 154 с.

11.Жидких, С.Ю., Горюнов, С.В., Суздальцева, Ю.Г. и др. Применение мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из стромы пуповины новорожденного, в лечении хронических ран // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2012, № 2, с.26.

12.Жиронкина, О.А. Шипунова, И.Н., Бигильдеев А.Е. и др. Пролиферативный потенциал мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, выделенных из костного мозга человека // Клеточные технологии в биологии и медицине, 2011, № 4, с.230-235. 36

13.Захаров, Ю.М., Макарова, Э.Б. Регуляция остеогенной дифференциации мезенхимальных стволовых клеток костного мозга // Российский физиологический журнал, 2013, №4, с.417-432.

14.Лебедев С.В., Карасев А.В., Кунгурцев В.В. и др. Клеточная терапия критической ишемии нижних конечностей // Вестник Российской академии медицинских наук, 2013, № 3, с.33-45.

15.Лисяный Н.И. Различная функциональная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и их предшественников // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2013, № 3, с. 36-37.

16.Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю., Базарный В. В Активация репаративной регенерации печени с помощью стволовых клеток // Патолог. Физиол. и экспериментальная терапия. 2022, № 3, с. 101-112.

17.Мезен, Н.И., Квачева, З.Б., Сычик, Л.М. Стволовые клетки. Учебно-методическое пособие. Минск БГМУ, 2014, 67 с.

18.Повещенко, А.Ф., Повещенко, О.В., Коненков, В.И. Современные достижения в создании методов изучения миграции стволовых клеток // Вестник Российской академии медицинских наук, 2013, № 9, с.46-52.

19. Светлакова, Е.Н., Мандра, Ю.В., Свежухин И.В. и др. Композиция на основе клеточных продуктов для лечения пародонтита (доклиническое исследование) // Вестник Уральской медицинской академической науки, 2018, № 4. с. 607-611.

20.Степанов А.А., Коротаев Е.В., Рабинович В.И. и др. Алгоритм получения гемопоэтических стволовых клеток из периферической крови для аутогенной трансплантации // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2013, № 3, с.55-56.

21.Фатхутдинов Т.Х., Большакова Г.Б., Гольдштейн Д.В. и др. Механизмы терапевтической активности мультипотентных клеток при заболеваниях сердца // Клеточные технологии в биологии и медицине, 2013, № 4, с.183-193.

22.Учасова Е.Г., Дылева Ю.А., Белик Е.В. и др. Стволовые клетки жировой ткани: роль в патогенезе ожирения и сахарного диабета 2 типа // Ожирение и метаболизм, 2023, 20(3), с.245-250.

23.Шаблий В., Кучма М., Кирик В.И др. Характеристика мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, полученных из плаценты человека // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2012, №4, с.55-61.

24.Юшков, Б.Г., Данилова, И.Г., Козакова И.А. Роль стволовых клеток в регенерации печени и почек // Вестник уральской медицинской академической науки, 2013, № 1 (43), с.46-48.

25.Яргин С.В. Проблемы клеточной терапии и стволовых клеток // Сибирский научный медицинский журнал, 2021, 41(1), с. 4-15.

26.Aqmasheh S., Shamsasanjan K., Akbarzadehlaleh P. et al. Effects of mesenchymal stem cell derivatives on hematopoiesis and hematopoietic stem cells // Adv. Pharm. Bull. 2017, 7(2), p. 165-177.

Bacakova L., Zarubova J., Travnickova M. et al. Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells // Biotechnol Adv., 2018, 36(4), p.1111-1126.

28.Basalova N., Illarionova M., Skryabina M. et al. Advances and Obstacles in Using CRISPR/Cas9 Technology for Non-Coding RNA Gene Knockout in Human Mesenchymal Stromal Cells // Non-Coding RNA. 2023, 9(5), 49.

29.Borella G., Da Ros A., Borile G. et al. Targeting the plasticity of mesenchymal stromal cells to reroute the course of acute myeloid leukemia // Blood. 2021, 138(7), p. 557-570.

30.Brown, M.E. Rondon E., Rajesh D.et al. Derivation of induced pluripotent stem cells from human peripheral blood T lymphocytes // Public library of science one, 2010, 5 (6), p. 11373.

31.Dzhauari S., Basalova N., Primak A. et al. The Secretome of Mesenchymal Stromal Cells in Treating Intracerebral Hemorrhage: The First Step to Bedside // Pharmaceutics, 2023, 15(6), 1608.

32.Jiang W., Xu J. Immune modulation by mesenchymal stem cells // Cell Prolif. 2020, 53(1), 12712.

33.Han Y, Yang J, Fang J. et al. The secretion profile of mesenchymal stem cells and potential applications in treating human diseases // SignalTransduct Target Ther., 2022, 7 (1), p. 92.

34. Guo Y., Yu Y., Hu S. et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cells for cardiovascular diseases // Cell Death Dis., 2020, 11 (5), 349.

35.Liu J., Gao J., Liang Z. et al. Mesenchymal stem cells and their microenvironment // Stem Cell Res. Ther., 2022, 3(1), 429.

36.Mathur A., Martin J.F. Stem cells and repair of the heart // Lancet 2004. 364. 183-92.

37. Purwaningrum M., Jamilah N.S., Purbantoro S.D. et al. Comparative characteristic study from bone marrow-derived mesenchymal stem cells // J. Vet. Sci. 2021, 22(6), 74.

38.Sagaradze G., Monakova A., Efimenko A. Potency Assays for Mesenchymal Stromal Cell Secretome-Based Products for Tissue Regeneration // International Journal of Molecular Sciences. 2023, 24(11), 9379.

39. Skubis-Sikora A., Sikora B., Witkowska A. et al. Osteogenesis of adipose-derived stem cells from patients with glucose metabolism disorders // Mol Med., 2020. 26(1)

Xülasə

Kök hüceyrələrinin regenerativ və bərpaedici terapiyada istifadəsinin perspektivləri

Z.Ş. İskəndərova, Y.B. İsmayılov, A.T. İsmayılova, T.A. Səlimli, O.R. İsayev

Hazırda bəşəriyyətin ən vacib nailiyyətlərindən biri unikal xüsusiyyətlərə, xüsusən də müxtəlif ixtisaslaşmış hüceyrə növlərinə differensiasiya etmək qabiliyyətinə malik kök hüceyrələrin kəşfidir. Bu qabiliyyət sayəsində kök hüceyrələr çox sayda xəstəliyin müalicəsində istifadə edilə bilər. Buna görə də, kök hüceyrələrin dərindən öyrənilməsi müasir tibbin perspektivli sahələrindən biridir. Son illərdə kök hüceyrələrin tətbiqi xeyli genişlənmişdir - onlar ürək-damar xəstəliklərinin müalicəsində, infarktdan sonra ürək əzələ toxumasının bərpasında, qurbanlarda dərinin bərpası üçün yanıq terapiyasında, kosmetologiya və rekonstruktiv plastik cərrahiyyədə, ağır irsi xəstəliklərdə, endokrin sistemin, nevroloji xəstəliklərin, mədə-bağırsaq traktının xəstəliklərinin və digər xəstəliklərin müalicəsində istifadə olunur. Kök hüceyrələr həmçinin koronar ürək xəstəliyi, kardiomiopatiya, angina, hipertoniya, xroniki ürək çatışmazlığı, aritmiya və bir çox digər xəstəliklər kimi xəstəliklərin müalicəsində də effektivdir.

Summary

Prospects for the use of stem cells in regenerative and restorative therapy

Z.Sh. Iskenderova, Yu.B. Ismailov, A.T. Ismailova, T.A. Salimli, O.R. Isayev

Currently, one of the most important achievements of humanity is the discovery of stem cells, which possess unique properties, in particular their ability to differentiate into various specialized cell types. Thanks to this ability, stem cells can be used to treat a vast number of diseases. Therefore, in-depth study of stem cells is one of the promising areas of modern medicine. In recent years, the application of stem cells has expanded significantly – they are used in the treatment of cardiovascular diseases for the regeneration of heart muscle tissue after a heart attack, in burn therapy for skin restoration in victims, in cosmetology and reconstructive plastic surgery, in severe hereditary diseases, in the treatment of the endocrine system, neurological diseases, gastrointestinal tract diseases, and more. Stem cells are also effective in the treatment of diseases such as coronary heart disease, cardiomyopathy, angina, hypertension, chronic heart failure, arrhythmia and many other diseases.

Daxil olub: 26.12.2024