**Введение**

Сегодня лечебное применение стволовых клеток вызывает горячие споры у специалистов и не менее горячий интерес общественности. В конце XX столетия журнал «Science» признал это новшество величайшим открытием прошлого века. Использование стволовых клеток крови - это новое направление медицины, которое способно перевернуть традиционные представления о возможностях лечения многих болезней: от инфаркта и инсульта до цирроза печени и рака крови.

Медики связывают со стволовыми клетками также надежду на излечение болезней, способы, преодоления которых пока не найдены. В частности - различных поражений нервной системы, таких как болезнь Паркинсона или Альцгеймера. Некоторые исследования показали, что препарат заметно замедляет старение. Ученые считают очень перспективным использование пуповинной крови, в которой содержится громадное количество стволовых клеток. В мире испытано ее применение при лечении 53 заболеваний, результаты весьма обнадеживают. Такая кровь используется, например, при детском лейкозе, ее начали применять и при лечении взрослых пациентов.

**1. Понятие, классификация и применение стволовых клеток**

Научные перспективы применения стволовых клеток высоко развиты.

Развитие новых технологий в медицине, исследования, проводимые в ведущих медицинских центрах мира - определяют будущее развитие медицины на десятки лет вперед. Одной из самых впечатляющих является применение клеточных технологий.

Обновить клеточный состав повреждённого органа без оперативного вмешательства, решить сложнейшие задачи, которые раньше были под силу только органной трансплантации - эти задачи решаются сегодня с помощью стволовых клеток.

Для пациентов - это шанс получить новую жизнь. Важным здесь является то, что технология применения стволовых клеток доступна практически для каждого пациента и даёт поистине удивительный результат, расширяя возможности трансплантации.

Стволовые клетки способны превращаться, в зависимости от окружения, в клетки тканей самых различных органов. Одна стволовая клетка даёт множество активных, функциональных потомков.

Исследования генетических модификаций стволовых клеток проводятся во всём мире, интенсивно исследуются методы их наращивания.

Существует множество болезней, которые практически не лечатся или их лечение не эффективно медикаментозным способом. Именно такие болезни стали объектом самого пристального внимания исследователей

Что такое - стволовая клетка.

При оплодотворении яйцеклетки одна зигота (оплодотворённая клетка) делится и даёт начало клеткам, главной задачей которых является передача генетической информации следующим поколениям клеток.

Эти клетки ещё не имеют своей специализации, механизмы такой специализации ещё не включены и именно поэтому такие эмбриональные стволовые клетки и дают возможность использовать их для создания любых органов.

Стволовые клетки есть у каждого из нас. Их обнаружили первоначально в тканях костного мозга. Легче всего стволовые клетки обнаружить и выделить у молодых людей, детей. Но и у людей старшего возраста они есть, правда в гораздо меньшем количестве.

Сравните:

у человека в возрасте 60 - 70 лет на пять - восемь миллионов клеток имеется только одна стволовая,

а у эмбриона - одна стволовая клетка на десять тысяч.

**2. Классификация**

Стволовые клетки можно разделить на три основные группы в зависимости от источника их получения: эмбриональные, фетальные и постнатальные (стволовые клетки взрослого организма).

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) образуют внутреннюю клеточную массу (ВКМ), или эмбриобласт, на ранней стадии развития эмбриона. Они являются плюрипотентными. Важный плюс ЭСК состоит в том, что они не экспрессируют HLA (human leucocyte antigens), то есть не вырабатывают антигены тканевой совместимости. Каждый человек обладает уникальным набором этих антигенов, и их несовпадение у донора и реципиента является важнейшей причиной несовместимости при трансплантации. Соответственно, шанс того, что донорские эмбриональные клетки будут отторгнуты организмом реципиента, очень невысок. При пересадке иммунодефицитным животным эмбриональные стволовые клетки способны образовывать опухоли сложного (многотканевого) строения - тератомы, некоторые из них могут стать злокачественными. Достоверных данных, о том как ведут себя эти клетки в иммунокомпетентном организме, например, в организме человека, нет. Вместе с тем, следует отметить, что клинические испытания с применением дифференцированных дериватов (производных клеток) ЭСК уже начаты. Для получения ЭСК в лабораторных условиях приходится разрушать бластоцисту, чтобы выделить ВКМ, то есть разрушать эмбрион. Поэтому исследователи предпочитают работать не с эмбрионами непосредственно, а с готовыми, ранее выделенными линиями ЭСК.

Клинические исследования с использованием ЭСК подвергаются особой этической экспертизе. Во многих странах исследования ЭСК ограничены законодательством. Одним из главных недостатков ЭСК является невозможность использования аутогенного, то есть собственного материала, при трансплантации, поскольку выделение ЭСК из эмбриона несовместимо с его дальнейшим развитием.

Фетальные стволовые клетки получают из плодного материала после аборта (обычно срок гестации, то есть внутриутробного развития плода, составляет 9-12 недель). Естественно, изучение и использование такого биоматериала также порождает этические проблемы. В некоторых странах, например, на Украине и в Великобритании, продолжаются работы по их изучению и клиническому применению. К примеру, Британская компания ReNeuron исследует возможности использования фетальных стволовых клеток для терапии инсульта.

Постнатальные стволовые клетки

Несмотря на то, что стволовые клетки зрелого организма обладают меньшей потентностью в сравнении с эмбриональными и фетальными стволовыми клетками, то есть могут порождать меньшее количество различных типов клеток, этический аспект их исследования и применения не вызывает серьёзной полемики. Кроме того, возможность использования аутогенного материала обеспечивает эффективность и безопасность лечения. Стволовые клетки взрослого организма можно подразделить на три основных группы: гемопоэтические (кроветворные), мультипотентные мезенхимальные (стромальные) и тканеспецифичные клетки-предшественницы. Иногда в отдельную группу выделяют клетки пуповинной крови, поскольку они являются наименее дифференцированными из всех клеток зрелого организма, то есть обладают наибольшей потентностью. Пуповинная кровь в основном содержит гемопоэтические стволовые клетки, а также мультипотентные мезенхимальные, но в ней присутствуют и другие уникальные разновидности стволовых клеток, при определённых условиях способные дифференцироваться в клетки различных органов и тканей.

В чем секрет стволовых клеток?

Секрет стволовых клеток состоит в том, что, будучи сами незрелыми клетками, они могут превращаться в клетку любого органа.

Они содержат в себе не только генетическую информацию, но, главное, схему развития организма, её последовательность.

“Как только стволовые клетки организма получают сигнал о повреждении тканей, любых органов, они направляются в очаг поражения. Там они превращаются именно в те клетки тканей человека или его органов, которые нуждаются в защите. Стволовые клетки могут превратиться и стать любыми клетками:

печёночными,

нервными,

гладкомышечными,

слизистыми.

Такая стимуляция организма приводит к тому, что он сам начинает активно регенерировать свои же ткани и органы.

Взрослый человек имеет совсем небольшой запас стволовых клеток. Поэтому, чем больше возраст человека, тем сложнее и с большими осложнениями идет процесс регенерации и восстановления организма после повреждений или во время болезни. Особенно, если повреждения организма обширны. Организм не может самостоятельно восстанавливать потерянные стволовые клетки. Развитие в области современной медицины сегодня позволяют вводить стволовые клетки в организм и, главное, направлять их в нужном направлении. Таким образом, впервые появляется возможность лечения таких опасных заболеваний как цирроз, диабет, инсульт.

Источником стволовых клеток в организме является костный мозг, прежде всего. Некоторое, но совсем небольшое, их количество содержится в других тканях и органах человека, в периферической крови. Много стволовых клеток содержит кровь из пупочной вены новорождённых.

Пуповинная кровь в качестве источника стволовых клеток, имеет ряд несомненных преимуществ:

Прежде всего, её собрать намного легче и безболезненней, чем периферическую кровь.

Такая кровь дает генетически идеальные стволовые клетки в случае необходимости её использования близкими родственниками - матерью и ребенком, братьями и сестрами.

При проведении трансплантации, иммунная система, вновь созданная из донорских стволовых клеток, начинает бороться с иммунной системой пациента. Это очень опасно для жизни больного. Состояние человека бывает в таких случаях крайне тяжелым, до смертельных исходов. Использование пуповинной крови при трансплантации значительно снижает такие осложнения.

Кроме того, существуют ещё ряд несомненных преимуществ использования пуповинной крови:

Это инфекционная безопасность реципиента. От донора через пуповинную кровь не передаются инфекционные заболевания (цитомегаловирус и прочие).

Если её собрали в момент рождения человека, то он сможет её использовать в любой момент для восстановления здоровья.

Использование крови из пупочной вены новорождённых не вызывает этических проблем, так как затем она утилизируется.

**3. Применение стволовых клеток**

Для лечения анемии в 1988 году во Франции были впервые применены стволовые клетки. Высокоэффективное лечение стволовыми клетками опухолей, инсультов, инфарктов, травм, ожогов, заставило создавать в развитых странах специальные учреждения (банки) для хранения замороженных стволовых клеток в течение долгого времени.

В такой коммерческий именной банк крови уже сегодня возможно, по заказу родственников, поместить пуповинную кровь ребенка, с тем, чтобы в случае его травмы, болезни, была возможность использовать собственные стволовые клетки.

Пересадка внутренних органов восстанавливает здоровье человека только в том случае, если она проведена своевременно, и не произошло отторжение органа иммунной системой пациента. Примерно 75 % пациентов, нуждающихся в пересадке органов, погибает в период ожидания. Стволовые клетки могут стать идеальным источником «запасных частей» для человека.

Уже сегодня - спектр применения стволовых клеток в лечении самых тяжелых заболеваний очень широк.

Восстановление нервных клеток позволяет восстановить капиллярное кровообращение и вызвать рост капиллярной сети на месте поражения. Для лечения повреждённого спинного мозга используют введение нервных стволовых клеток, либо чистые культуры, которые затем превратятся на месте в нервные клетки.

Некоторые формы лейкозов у детей стали излечимы благодаря достижениям биомедицины. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток применяется в современной гематологии, а трансплантация стволовых клеток костного мозга - в широкой клинике.

Исключительно сложны в лечении системные заболевания, вызванные нарушением функций иммунной системы: артриты, рассеянный склероз, красная волчанка, болезнь Крона. Гемопоэтические стволовые клетки применимы и при лечении этих заболеваниях Имеется практический клинический опыт в применении нейтральных стволовых клеток при лечении болезни Паркинсона. Результаты превосходят всякие ожидания.

Мезинхимальные (стромальные) стволовые клетки уже используют в ортопедической клинике несколько последних лет. С их помощью восстанавливают разрушенные суставные хрящи, костные дефекты после переломов. Кроме того, эти же клетки в последние два-три года используют методом прямого введения в клинике восстановления сердечной мышцы после инфаркта.

С каждым днем пополняется список болезней, которые поддаются лечению стволовыми клетками. И это даёт надежду на жизнь неизлечимым больным.

стволовой клетка эндокринология инфаркт

**4. Применение стволовых клеток в медицине**

Будущее клеточной терапии и трансплантологии, а, возможно, и медицины в целом связано использованием стволовых клеток, применяемых с целью замещения структурной и функциональной недостаточности различных органов. Использованию ЭСК в клеточной терапии многих заболеваний препятствует ряд проблем:

технические трудности в получении чистой линии человеческих ЭСК;

недостаток информации об индукции их дифференцировке in vitro;

наличие ряда биоэтических вопросов, которые возникают при использовании ЭСК, полученных из эмбриональной ткани. В ряде стран приняты запретительные ограничения на использование в исследовательской работе эмбриональной ткани человека.

существование риска канцерогенеза. Инъекция ЭСК мышам может формировать опухоли, именуемые тератомами.

иммунологические проблемы отторжения.

В последнее время в литературе уделяется достаточно много внимания РСК, которые найдены почти во всех органах. Основные преимущества РСК заключаются в том, что они могут быть использованы при необходимости как аутогенный клеточный материал. Поэтому не возникает проблем иммунологического отторжения, а также этических препятствий к их использованию. Недостатки и проблемы при использовании

РСК для клеточной терапии связаны с тем, что еще недостаточно изучены факторы их дифференцировки in vitro, их трудно получить в достаточном количестве для развития клинического эффекта после трансплантации. Кроме того, с возрастом их количество и терапевтический потенциал уменьшаются. Хотя о применении СК в различных областях медицины накоплены многочисленные экспериментальные данные, но клинические исследования находятся в основном еще в стадии апробации и требуют анализа и усовершенствования.

Большое внимание ряд исследователей уделяют использованию в медицине СК костного мозга: кроветворных и стромальных клеток.

Выращивая стромальные стволовые клетки (ССК) и получая достаточно большие их количества, можно задавать направление их дифференцировки. Эти клетки способны дифференцироваться в клетки хрящевой, костной, мышечной, жировой тканей, ткани печени и кожи. В ближайшее десятилетие это направление медицинской науки может стать основой для терапии наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой и центральной нервной системы, опорно-двигательного аппарата.

Применение СК в кардиологии.

В последние годы сделано несколько ключевых открытий, связанных с применением СК в кардиологии. D. Ortic и соавт. вызывали у мышей повреждение кардиомиоцитов путем перевязки левой главной коронарной артерии. Затем животным вводили в пораженную стенку левого желудочка костномозговые СК, которые вызывали образование кардиомиоцитов, эндотелия и гладкомышечных клеток кровеносных сосудов. В результате удавалось добиться образования нового миокарда, включая коронарные артерии, артериолы и капилляры.

Через 9 дней после начала заместительной клеточной терапии вновь образованный миокард занимал 68% поврежденной территории левого желудочка. Таким образом, удалось заменить «отмерший» миокард живой, активно функционирующей тканью. Установлено, что введение СК в зону повреждения сердечной мышцы (зону инфаркта) устраняет явления постинфарктной сердечной недостаточности у экспериментальных животных. Так, стромальные клетки, введенные свиньям с экспериментальным инфарктом, уже через восемь недель полностью превращаются в клетки сердечной мышцы, восстанавливая ее функциональные свойства.

По данным Американского кардиологического общества за 2000 год у крыс с искусственно вызванным инфарктом 90% СК, введенных в область сердца, трансформируется в клетки сердечной мышцы. В культуре человеческие кроветворные СК, подобно мышиным СК, дифференцируются в разнообразные типы клеток, включая кардиомиоциты.

Первым клиническим применением СК для лечения инфаркта называют исследование, начатое во Франции в 2000 г.: при операции на открытом сердце вводили выращенные в культуре аутологичные скелетные миобласты (более 30 инъекций) в зону инфаркта и периинфарктную зону. В этом исследовании получены отдаленные результаты (год для первого больного): увеличение фракции выброса и улучшение симптоматики. В. Strauer с соавт. [26] на 6-й день после развития острого трансмурального инфаркта трансплантировали больному СК костного мозга в окклюзированную коронарную артерию. Через 10 недель после трансплантации СК зона инфаркта уменьшилась с 24,6% до 15,7% поверхности левого желудочка. Сердечный индекс и ударный объем выросли на 20-30%, конечный диастолический объем при нагрузке снизился на 30%.

Польские клиницисты трансплантировали СК 10 больным с острым инфарктом миокарда. Авторы констатируют безопасность процедуры и отмечают, что спустя 5 месяцев после инфаркта миокарда у всех больных наблюдали увеличение фракции выброса левого желудочка. Авторы подчеркивают, что представленные материалы являются недостаточными для оценки эффективности и касаются только переносимости предлагаемого метода лечения.

Применение СК в неврологии и нейрохирургии.

Длительное время доминировало представление о том, что нервные клетки в головном мозге взрослой особи не делятся. И только в последние несколько лет доказано, что СК взрослого головного мозга могут формировать три главных типа клеток - астроциты, олигодендроциты и нейроны. Большое значение придают СК (в частности, стромальным) при лечении различных нейродегенеративных и неврологических заболеваний: болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, хореи Гентингтона, мозжечковых атаксий, рассеянного склероза и др. Болезнь Паркинсона вызывается прогрессирующей дегенерацией и потерей допамин-продуцирующих нейронов (ДП - нейронов), что приводит к развитию тремора, ригидности и гипокинезии. В нескольких лабораториях с успехом применяют методы, индуцирующие дифференцировку ЭСК в клетки со многими свойствами ДП - нейронов. После трансплантации СК, дифференцирующихся в ДП - нейроны, в головном мозге крыс с моделью болезни Паркинсона наблюдалась реиннервация головного мозга с высвобождением допамина и улучшением моторной функции.. Steinberg и соавт. из отдела нейрохирургии Стенфордского университета у крыс с моделью мозгового инсульта изучали выживаемость, миграцию, дифференцировку и функциональные свойства человеческих зародышевых нервных СК, вводимых животным в три разных участка тела, отличающихся по расстоянию от пораженного участка коры головного мозга. Через 5 недель после введения СК наблюдали миграцию клеток в область повреждения и их дифференцировку в нейроны. Результаты этого исследования свидетельствуют о потенциальной возможности использования СК в лечении мозгового инсульта.

В работах (Института биологии гена РАН, Институт биологии развития РАН, Институт акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН) выделены региональные нейтральные стволовые клетки плода человека, дана их подробная иммуно-гистохимическая характеристика, в том числе на проточном флюориметре. В опытах с трансплантацией стволовых нейральных клеток человека в мозг крыс была показана их приживляемость, миграция на достаточно большие расстояния и способность к дифференцировке. Последняя в значительной степени определяется микроокружением, в которое попадает трансплантат. Так, при трансплантации нейральных стволовых клеток человека, в ту область мозжечка крысы, где расположены клетки Пуркинье, они дифференцируются в направлении именно этого типа клеток, о чем свидетельствует синтез в них белка калбиндина, специфического продукта клеток Пуркинье.

Применение СК в эндокринологии.

Региональные СК существуют в поджелудочной железе в панкреатических протоках и островках Лангерганса. В нескольких последних сообщениях указывается, что СК, экспрессирующие нестин (который обычно рассматривается как маркер нервных клеток), могут генерировать все типы островковых клеток.

В настоящее время существует несколько подходов к созданию клона инсулин - продуцирующих клеток. В качестве исходного материала используют выделенные из человеческого трупа или полученные при биопсии поджелудочной железы в клетки и прогениторные клетки из панкреатических протоков.

Наиболее перспективным для получения инсулин-продуцирующих клеток считают использование эмбриональных клеток.

Испанские исследователи с помощью генной инженерии получили инсулин-продуцирующие клетки, которые трансплантировали мышам с диабетом. Через 24 ч содержание глюкозы у мышей снизилось до нормы. Спустя 4недели у 60% мышей уровень гликемии оставался нормальным, что свидетельствовало о приживлении трансплантированных клеток. Более того, клетки, продуцирующие инсулин, обнаружены у этих животных в селезенке и печени. Однако проблема заключается в том, что пока удается получить очень небольшое число инсулин - продуцирующих клонов.

Российскими биологами (Института биологии гена РАН, Харьковский институт криобиологии и фирма Вирола) разработана методика индукции в культуре стволовых стромальных клеток дифференцировки в направлении клеток, подобных клеткам островков Лангерганса, синтезирующим инсулин. Синтез этого белка был продемонстрирован с помощью современных методов молекулярной биологии и цитологии.

Интересно, что эти клетки формируют в культуре структуры, напоминающие островки Лангерганса. Они могут быть использованы для лечения диабета.

Применение СК в гепаталогии.

Много исследований посвящено изучению природы СК, которые могут восстанавливать печень взрослых млекопитающих. Работы, выполненные на грызунах, свидетельствуют о том, что СК костного мозга могут находиться в печени после ее повреждения и обнаруживают пластичность, превращаясь в гепатоциты. Е. Lagasse и соавт. вводили мышам с моделью печеночной недостаточности нефракционированные мышиные КСК. Введение этих клеток способствовало восстановлению показателей печеночных функций и увеличению выживаемости.

Применение СК в гематологии.

Одна из популяций костномозговых стволовых клеток - КСК ответственны за продукцию всех типов клеток крови. Эти клетки изучаю туже более 50 лет. К числу первых заболеваний, при которых стали использовать с лечебной целью КСК относятся, гемобластозы, острые лейкозы, хронический миелолейкоз, миеломная болезнь и др.

При перечисленных заболеваниях опухолевые гемопоэтические клетки разрушаются с помощью больших доз химиотерапии или общего облучения с последующим восстановлением нормального гемопоэза путем трансплантации аллогенных КСК.

Применение СК в лечении аутоиммунных болезней.

По аналогии с лечением гемобластозов изучают возможность использования КСК при некоторых аутоиммунных заболеваниях - системной красной волчанке, синдроме Съегрена, ревматоидном артрите, сахарном диабете типа 1 и рассеянном склерозе.

При перечисленных заболеваниях у больных собирались и замораживались КСК, затем пациенты получали высокодозированную химио-радиотерапию, после чего проводилась ауготрансплантация ранее замороженных КСК. После указанной процедуры в течение 3лет наблюдали 7 больных. На протяжении всего периода наблюдения у больных отсутствовали активные проявления болезни, и они не нуждались в иммуносупрессивной поддерживающей терапии.

Чрезвычайно перспективным представляется создание криобанка СК человека и организация соответствующей донорской службы.

Основной задачей криобанка СК человека является: обработка (уменьшение объема замораживаемого образца), удаление не определяющих дальнейшее применение клеточных элементов, смешивание скриоконсервантом и длительное, практически неограниченное во времени, хранение ранее заготовленных СК, вне зависимости от источника их получения.

Наиболее реальный на сегодня и практически неограниченный источник СК - пуповинная кровь.

Существуют криобанки СК с образцами для каждого родившегося ребенка, собранными из его пуповины и замороженными. При заболевании (онкологических, нарушениях иммунной системы, заболеваниях крови, мышц, кожи и т. д.) человек может воспользоваться трансплантацией собственных СК, которая включит механизмы самовосстановления поврежденных органов и систем. Сегодня в мире имеется несколько десятков таких официально зарегистрированных криобанков, примерно половина из них в США

Суммируя представленные данные о роли СК в организме человека, методах их выделения и использования, можно заключить, что изучение СК в любом аспекте представляется крайне актуальной научной проблемой, решение которой способно совершить качественный прорыв в медицине.

**Заключение**

Рассмотрев в данной работе проблемы использования в медицине стволовых клеток, можно сделать следующие краткие выводы.

Открытие стволовой клетки и развитие связанных с этим открытием клеточных технологий в медицине наряду с расшифровкой двойной спирали ДНК и генома, безусловно, относятся к важнейшим событиям, произошедшим в биологии в ХХ веке.

Стволовые клетки таят в себе невиданные возможности: от регенерации поврежденных органов и тканей до лечения заболеваний, не поддающихся лекарственной терапии.

Кроме восстановления утраченных функций органов и тканей, стволовые клетки способны тормозить неконтролируемые патологические процессы, такие как воспаления, аллергии, онкологические процессы, старение и т.д.

Именно клеточные технологии являются основой генной терапии, с которой связаны надежды на разработку индивидуальных схем лечения пациентов с самыми тяжелыми заболеваниями, в том числе наследственными.

Клеточные технологии и генная терапия представляют собой наиболее универсальные современные подходы к лечению. Технология стволовых клеток может привести к новому пониманию развития и дифференциации клеток, как и почему развиваются определенные ткани, почему возникают заболевания и как их лечить. Станет возможным клонирование от отдельных тканей до целых организмов.

Таким образом, наглядно демонстрирующих реальное значение клеточной биологии в решении актуальных проблем медицины XXI века, может быть продолжен.

Вместе с тем уже сейчас становится очевидным, что дальнейший прогресс как самой клеточной биологии, так и медицинской науки в целом будет связан не только и не столько с дальнейшим накоплением фактического знания, сколько с его творческим и этическим осмыслением.

Медицина ХХI века, безусловно, будет основана на фундаментальных достижениях клеточной биологии.