



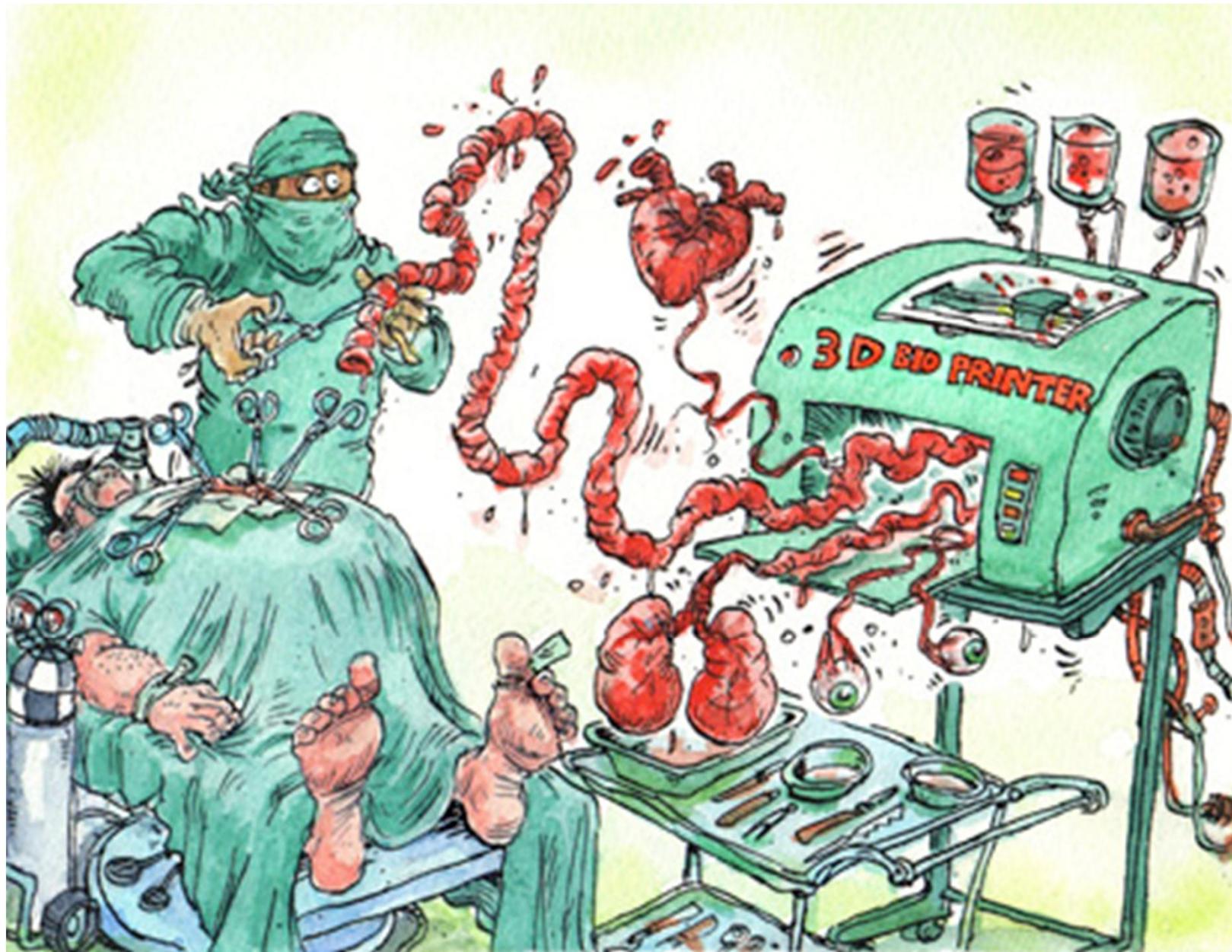
. . .

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: мифы и реальность

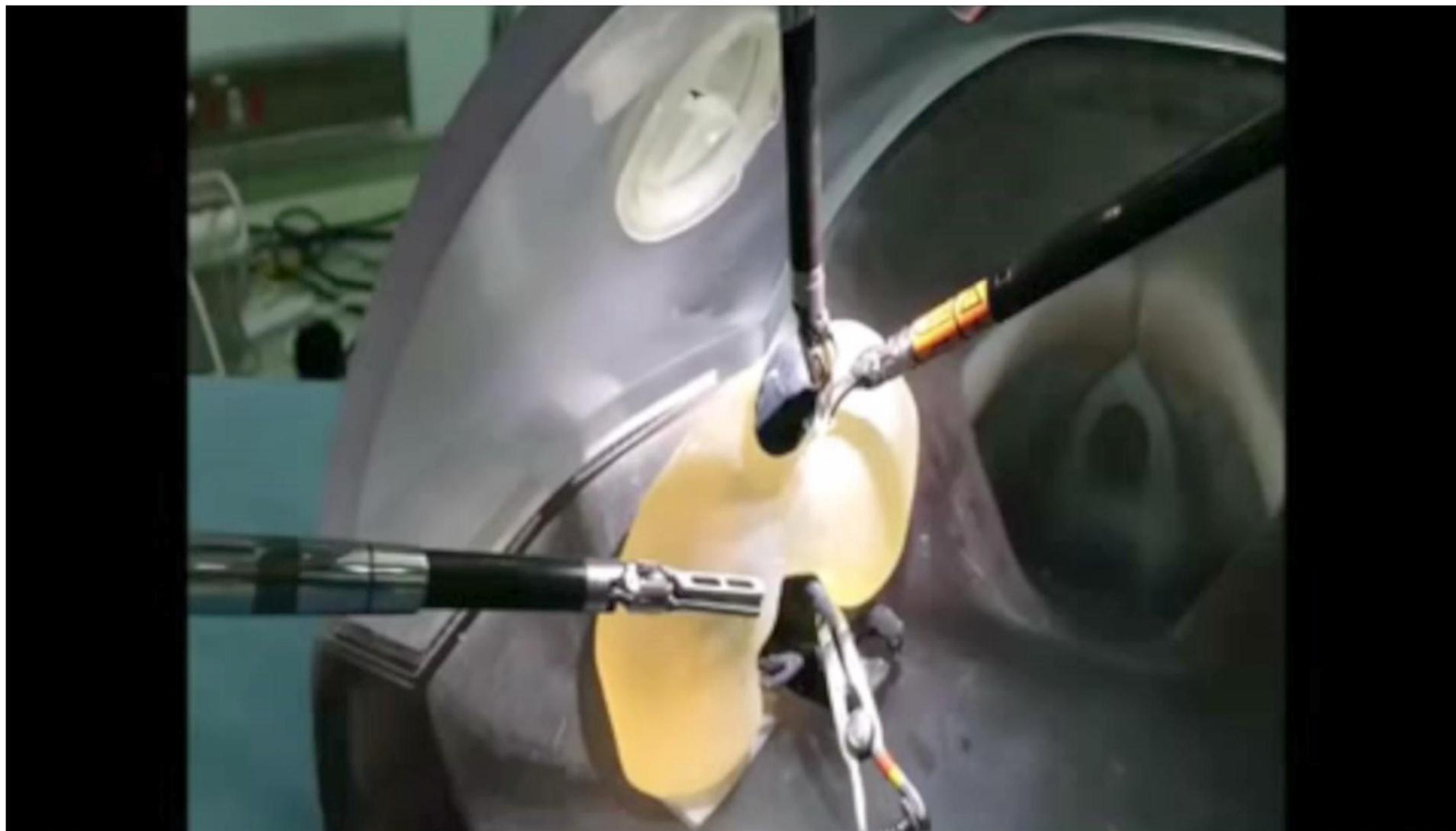
ЦУПИКОВ ОЛЕГ
отдел цитологии

Киев, 2014

3D биопринтеры



3D биопринтеры



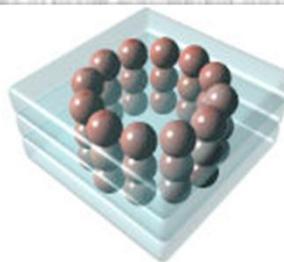
3D биопринтеры



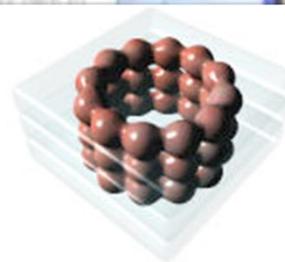
3D биопринтеры



[A]
Bioink spheroids
printed into layer
of biopaper gel



[B]
Additional layers
printed to build
object



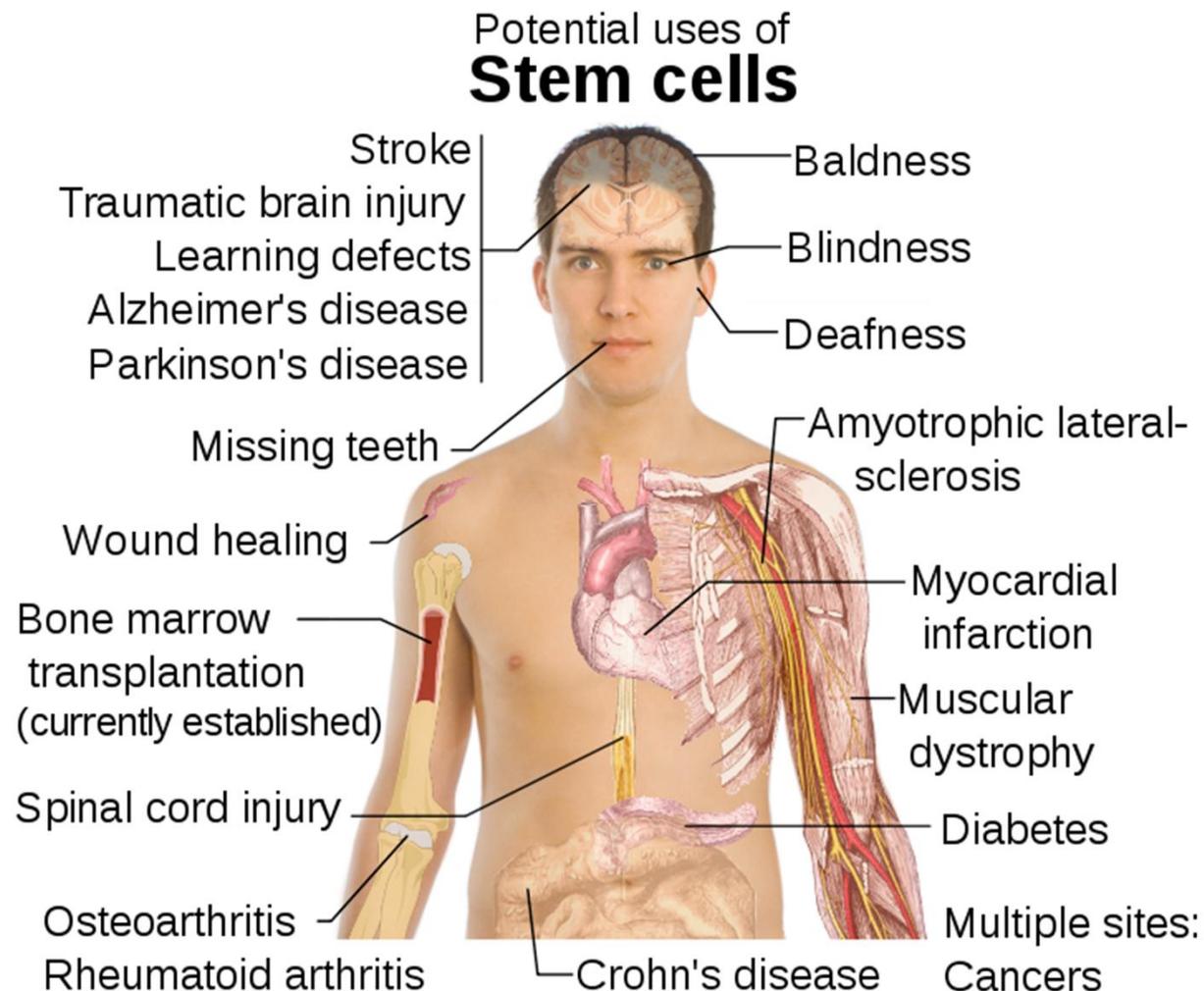
[C]
Bioink spheroids
fuse together and
biopaper dissolves



[D]
Final living
tissue

МИФ.1

Стволовые клетки лечат все болезни



Исследования ведутся в рамках “медицины отчаяния” – лечения тяжелых хронических заболеваний. Именно такое направление клеточной терапии считается наиболее перспективным.

МИФ.2

Стволовые клетки – лекарство против старения

Before

February 2



After
6 months

August 14



Anti-Aging Therapy

Стволовые клетки не могут поворачивать вспять биологическое время и все рассказы об омолаживающем действии клеточной терапии – не более чем миф.

МИФ. 3

**Стволовые клетки гарантируют результат, который
долго сохранится**

**Living to 100 with Anti-Aging and Age
Management Stem Cell Therapy**



**Anti Aging Affordable
Stem Cell Therapy in
India**

\$11,000

**Эффект от применения стволовых клеток очень
недолгий.**

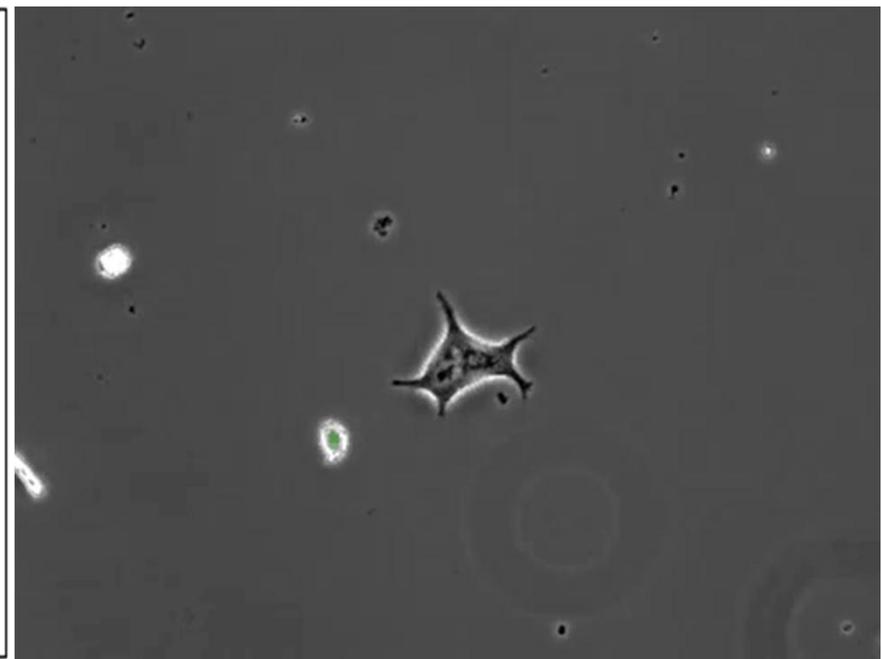
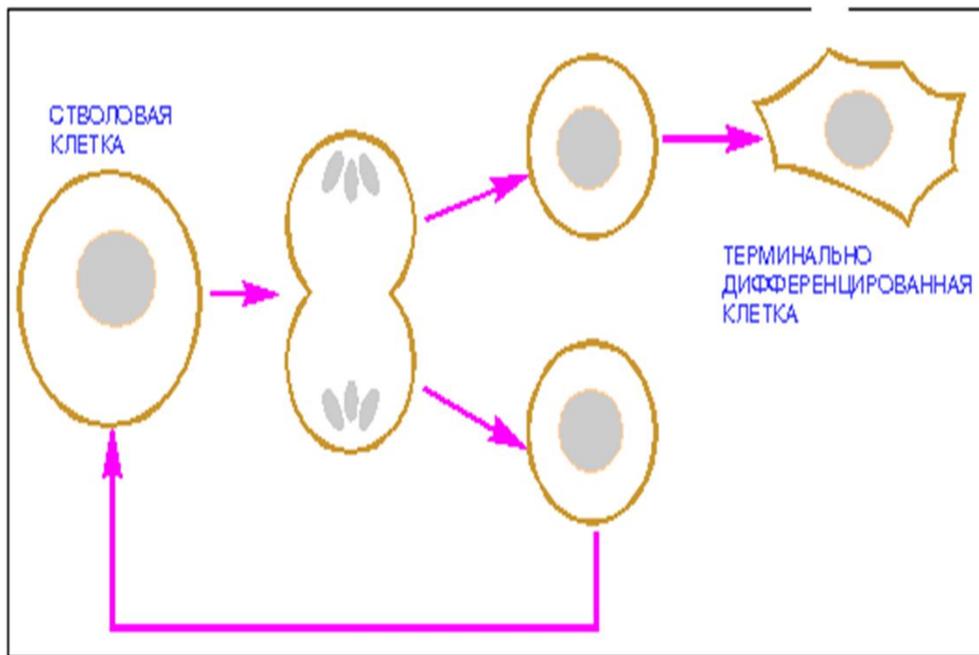
Максимум – 1–1,5 года.

Стволовые клетки

() ,

:

;



Иерархия стволовых клеток

ТОТИПОТЕНТНЫЕ



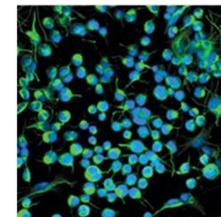
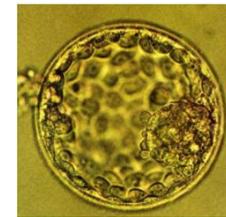
ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ



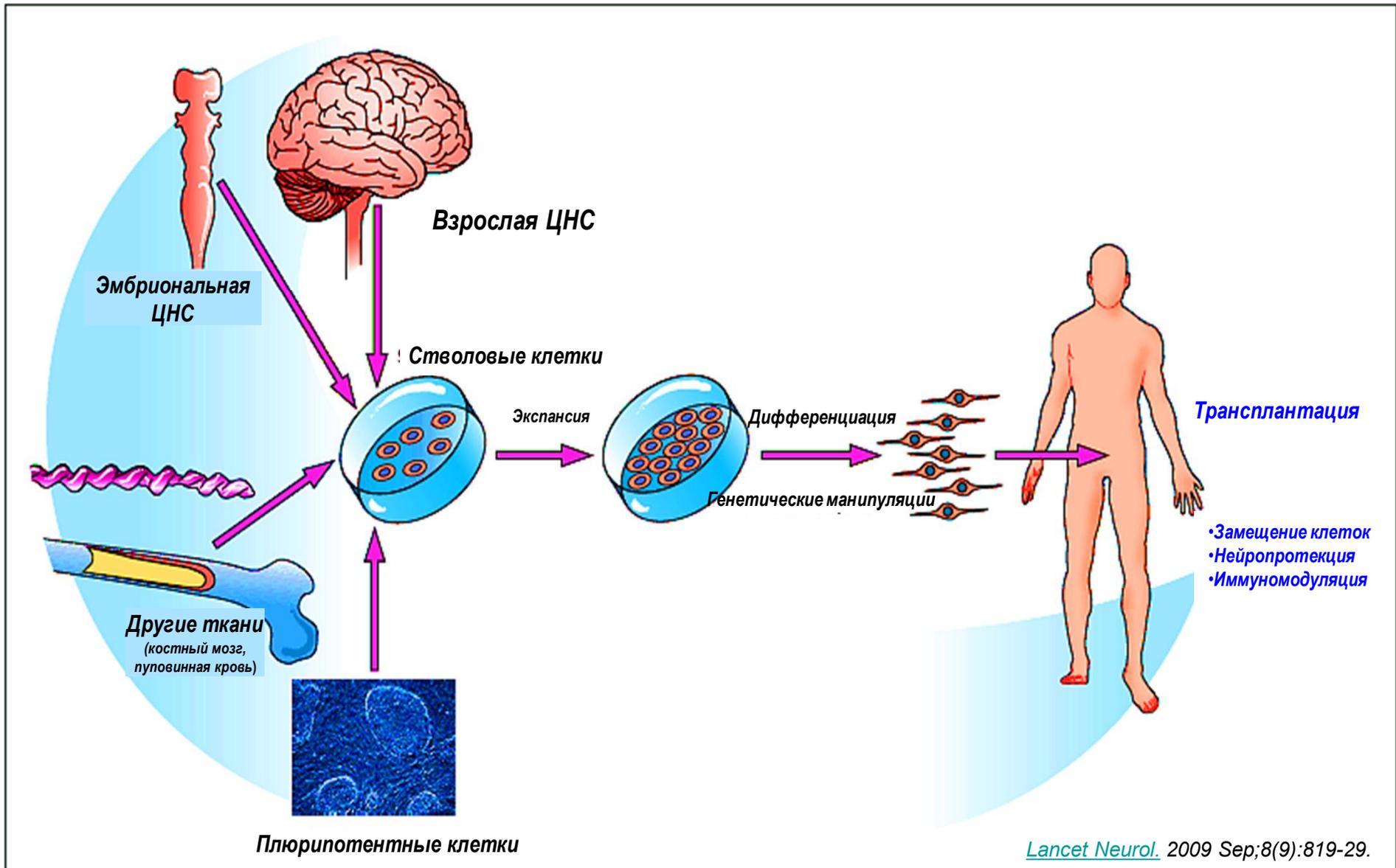
МУЛЬТИ(ПОЛИ)ПОТЕНТНЫЕ



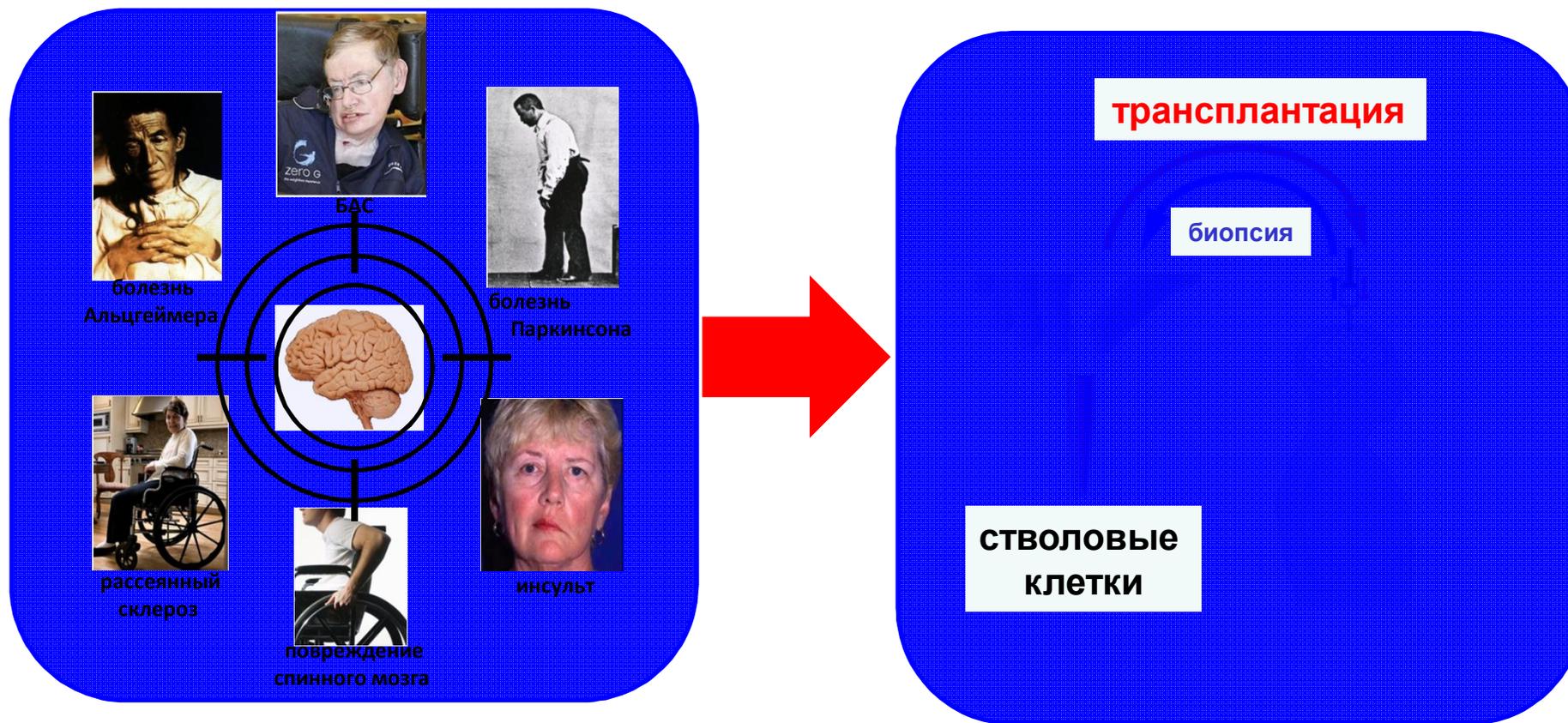
МОНО(УНИ)ПОТЕНТНЫЕ



Источники донорского материала



Использование стволовых клеток при патологии нервной системы



Заболевания нервной системы

Клеточная терапия

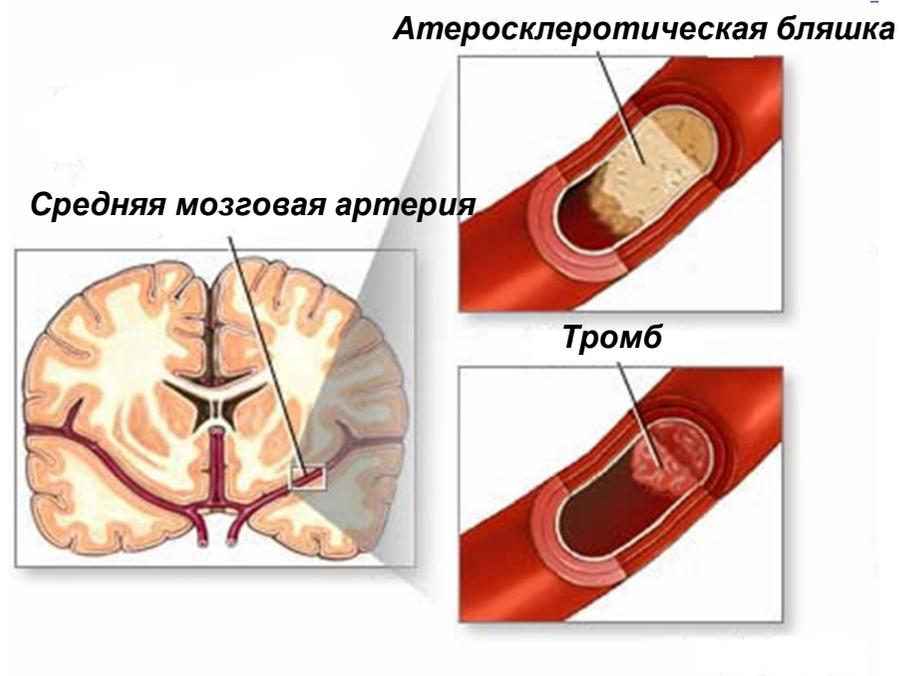
Ишемия головного мозга

Острое нарушение мозгового кровообращения с поражением ткани мозга, нарушением его функций вследствие прекращения кровоснабжения.

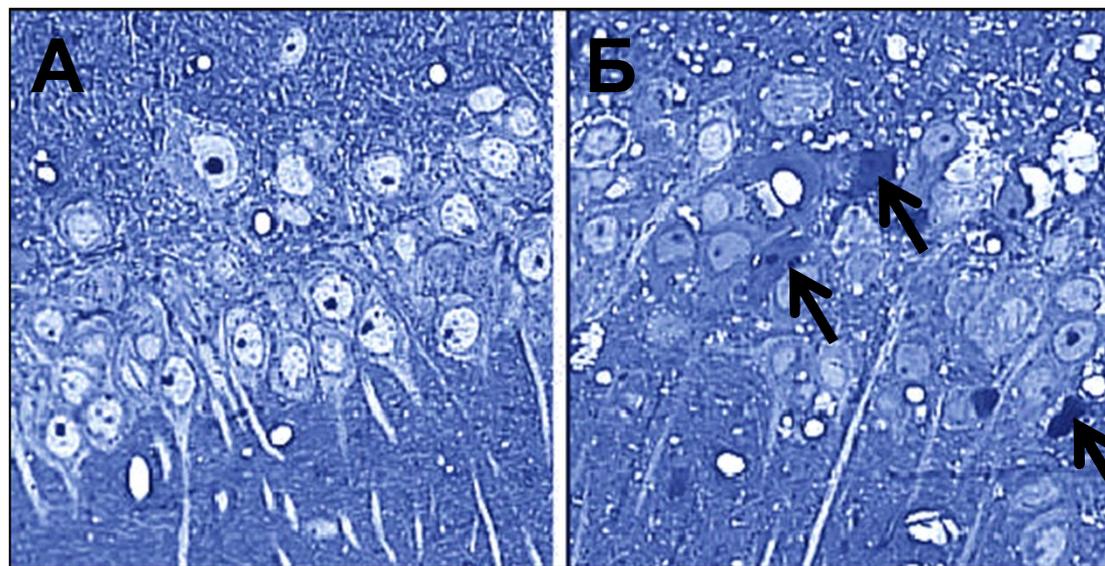
Ишемический каскад:

- прекращение снабжения глюкозы и кислорода
- глутаматная эксайтотоксичность
- внутриклеточное накопление Ca^{2+}
- активация NO-синтазы и катаболических ферментов
- оксидативный стресс
- воспаление, нарушение гемато-энцефалического барьера

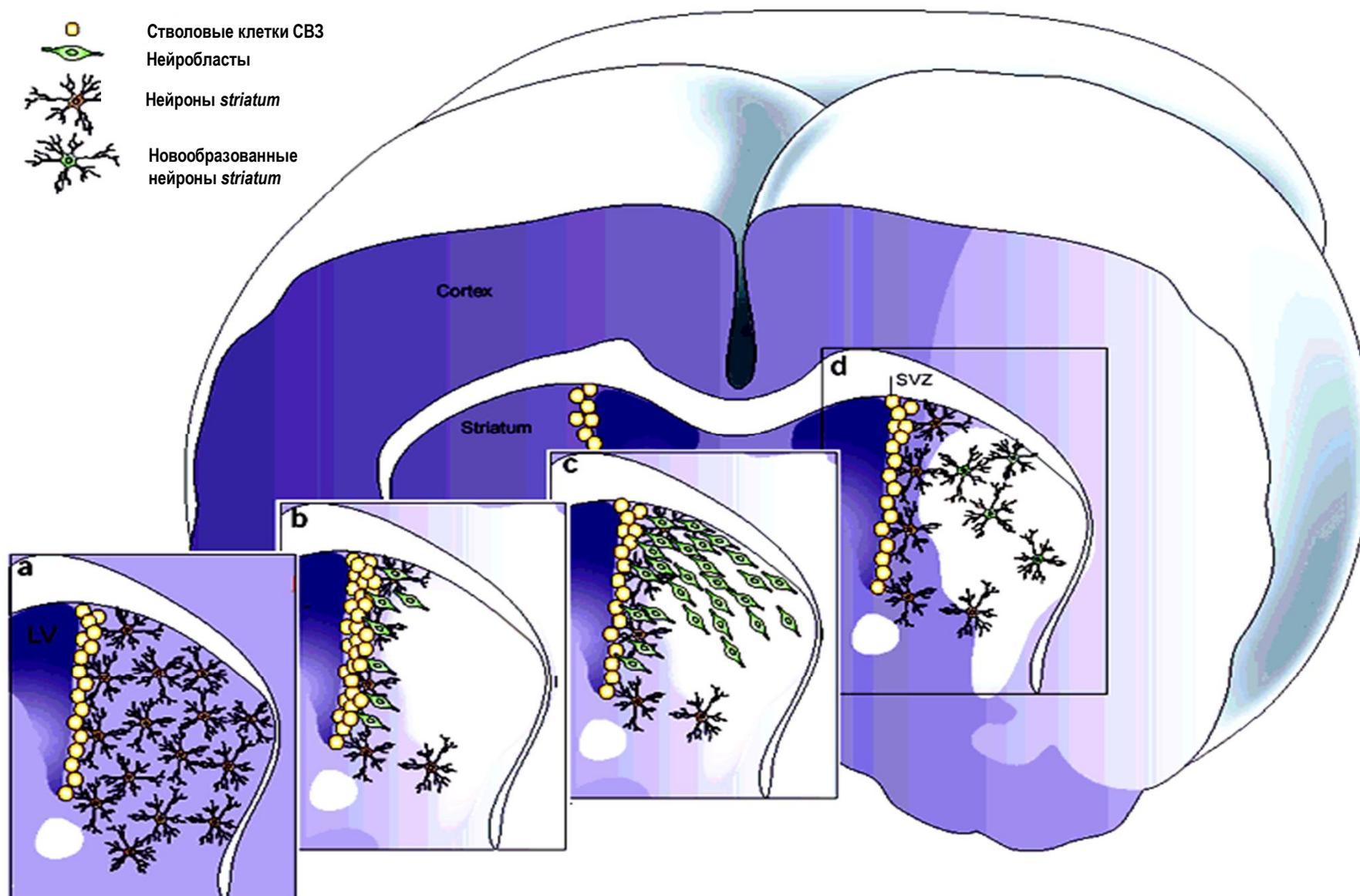
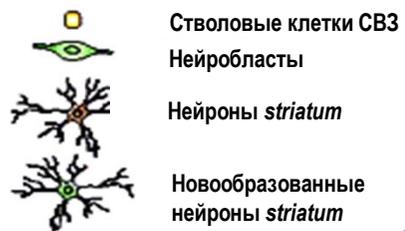
Ишемический каскад приводит к необратимым поврежднениям нервной ткани и гибели клеток по механизмам некроза или апоптоза.



Дегенеративные изменения пирамидных нейронов в постишемическом гиппокампе (Б)



Образование нейронов в *striatum* из эндогенных стволовых клеток после инсульта



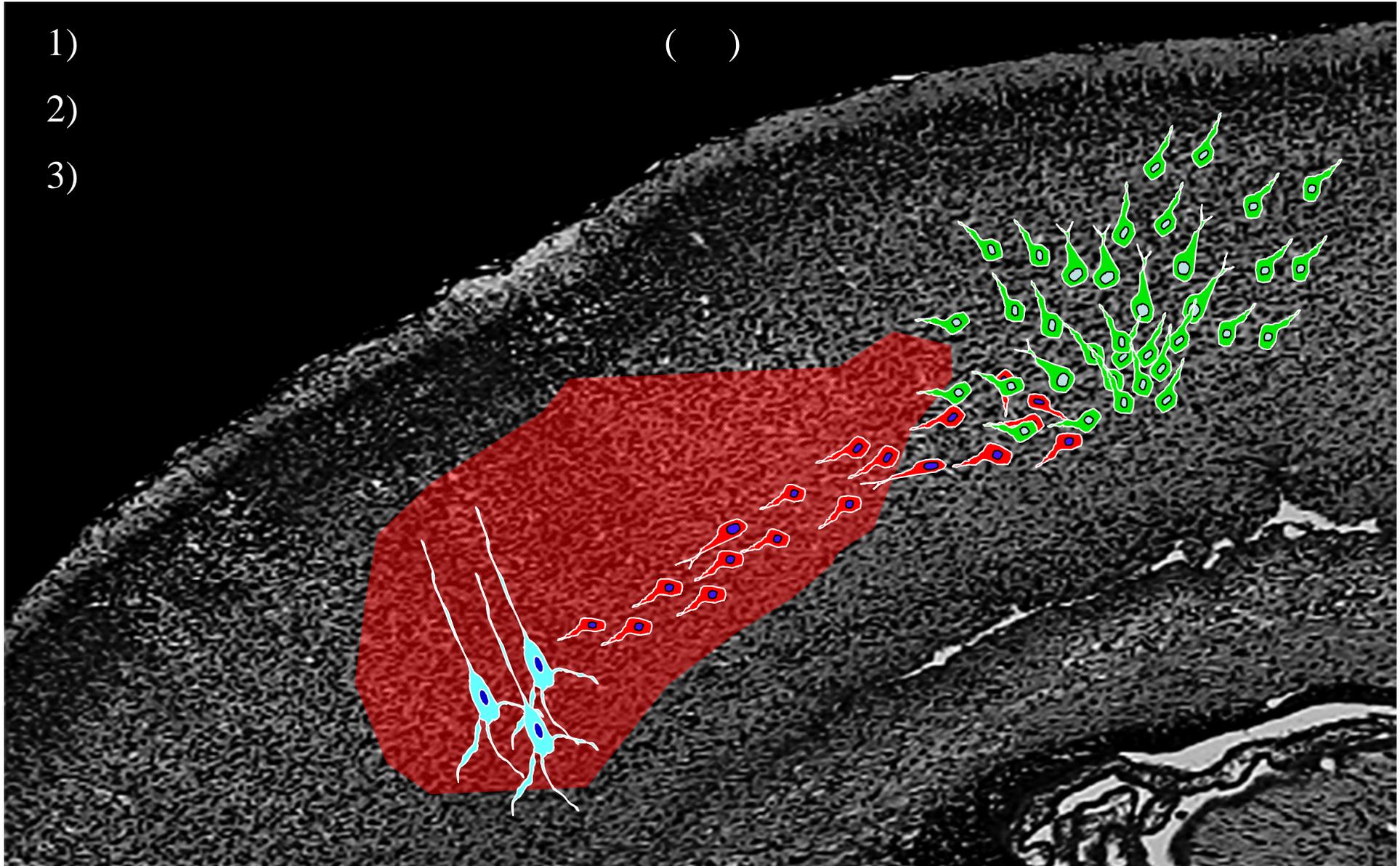
Клеточная терапия при патологии нервной системы

1)

()

2)

3)

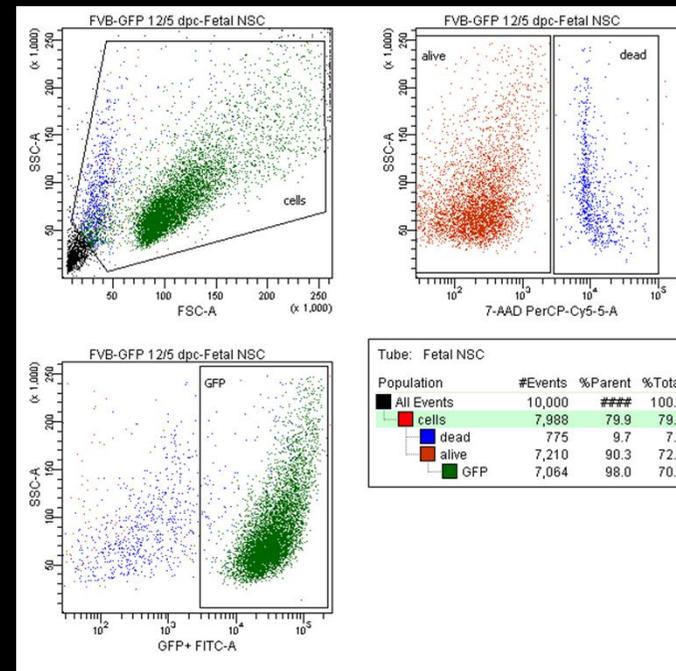


Трансплантация **GFP**-положительных нейральных стволовых клеток (НСК)

(-actin/GFP)

НСК

Nestin+GFP



Трансплантация
GFP-положительных НСК

7 дней

14 дней

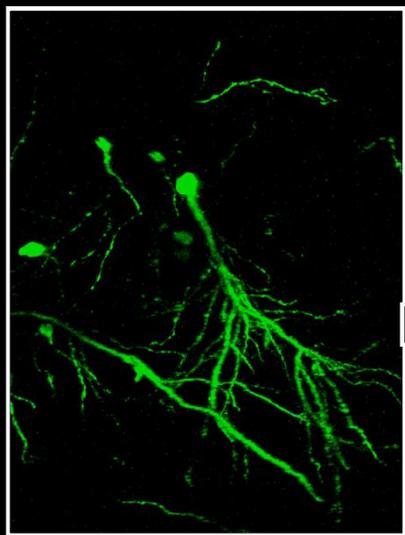
30 дней

90 дней

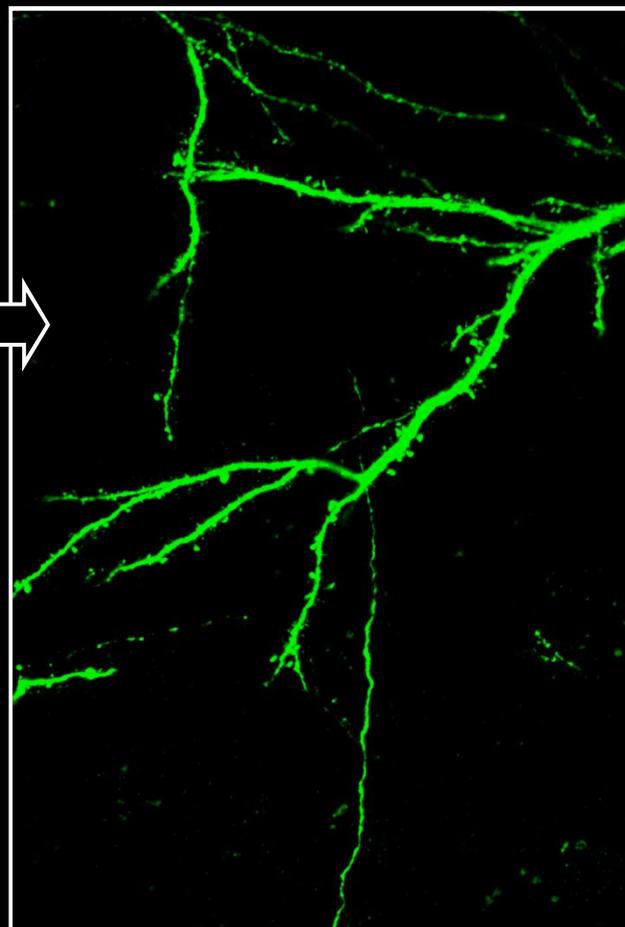
Иммуногистохимия:
GFP, GFAP, Iba-1, NeuN, nestin

200 000 **GFP**-положительных НСК/ 20 μ l

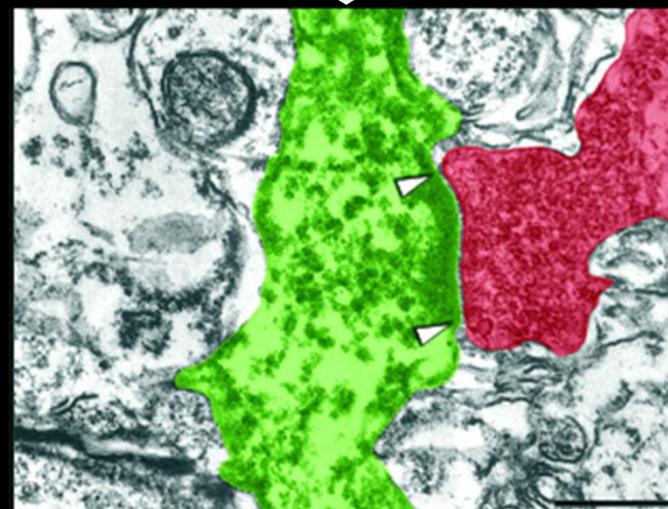
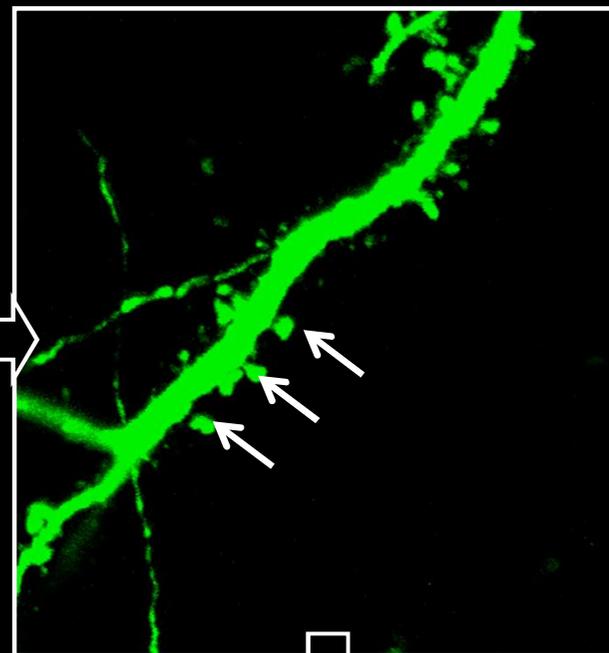
90 дней после трансплантации



x 20



x 60



GFP-положительные нейроны

Аутологичная трансплантация МСК больным после инсульта

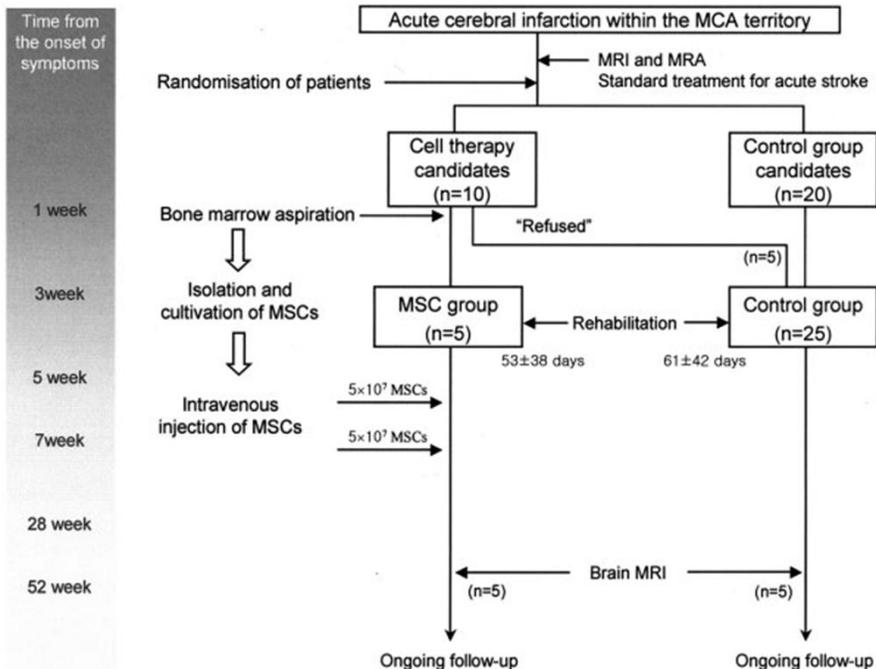
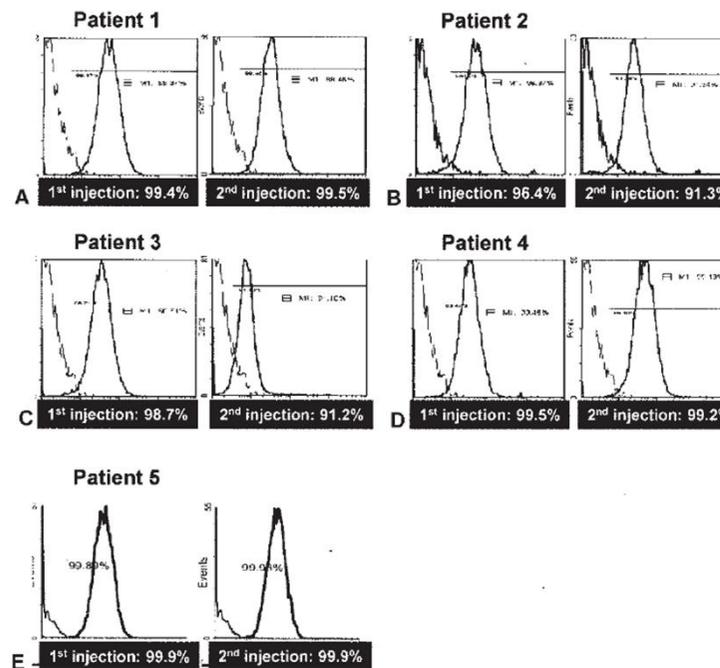
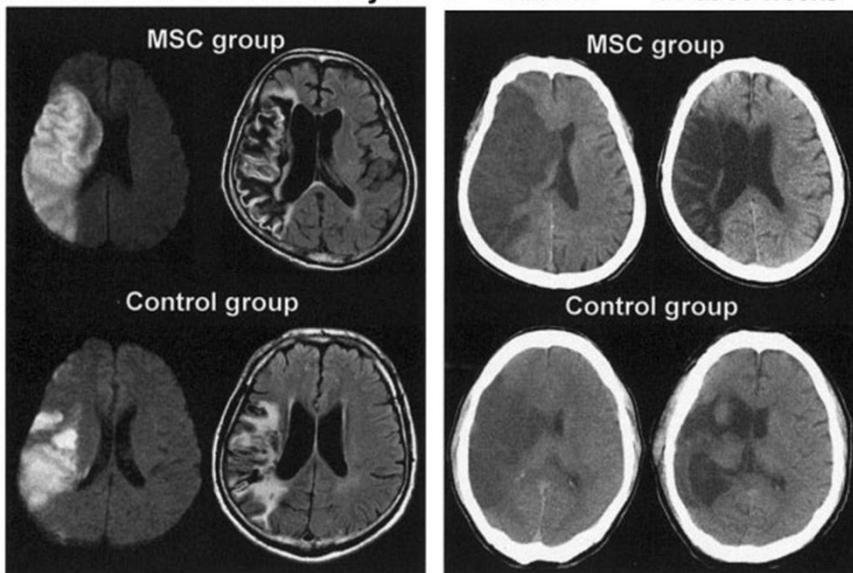


Схема эксперимента



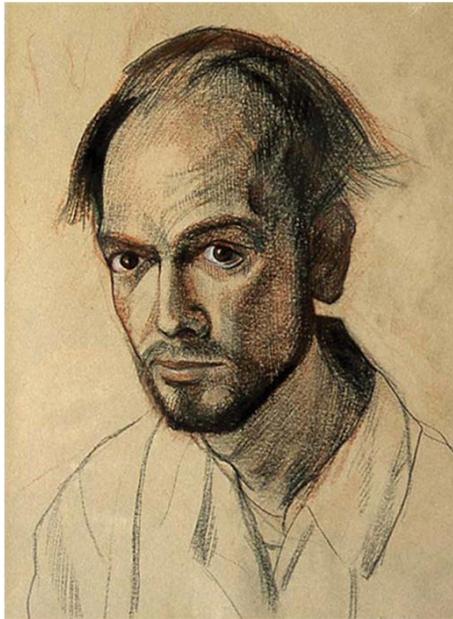
Анализ мезенхимальных клеток при помощи проточной цитометрии

A Initial DWI FLAIR at one year B Initial CT CT at 36 weeks

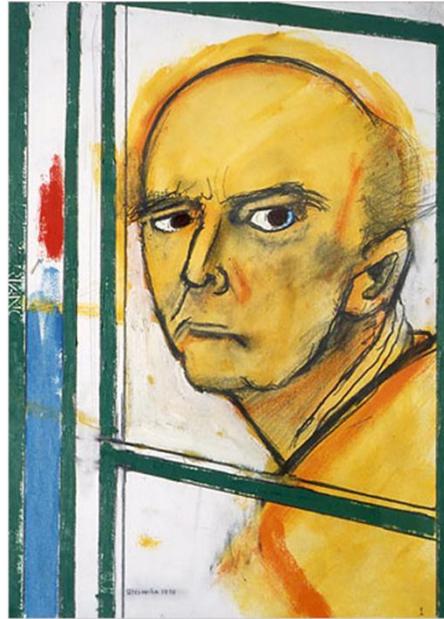


Аутологичная трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (1×10^8) улучшала неврологические показатели больных, уменьшала атрофию у периинфарктной зоне, но не уменьшала зону инфарктного поражения. Возможный механизм положительного действия аутологичной трансплантации МСК – продукция трофических факторов.

Болезнь Альцгеймера



1967



1996



1997



2000

1995

(2007 .)

·

·

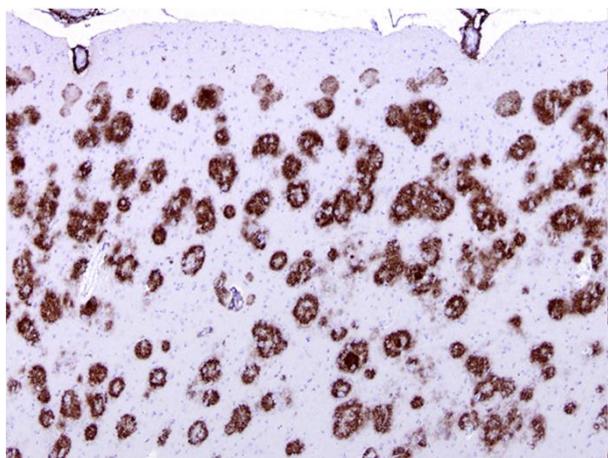
·

Болезнь Альцгеймера

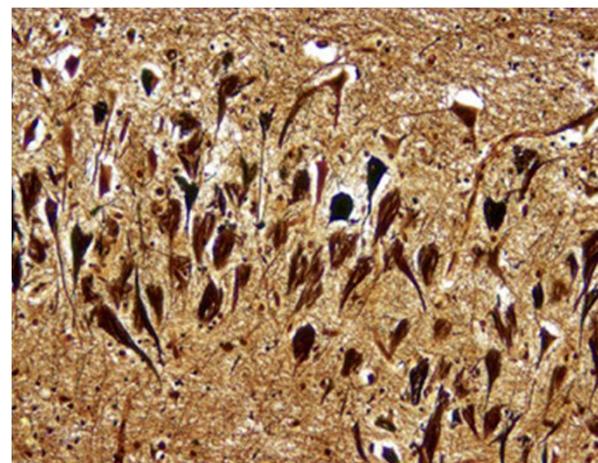
Протеинопатия, связанная с агрегацией в тканях мозга нерастворимых белков с аномальной конформацией:

- экстрацеллюлярное отложение бета-амилоида в виде сенильных бляшек**
- накопление тау-белка в телах и отростках нейронов в виде нейрофибриллярных клубков.**

Амилоидные бляшки в основном наблюдаются в ассоциативной коре, нейрофибриллярные клубки – в энторинальной коре и гиппокампе, неокортексе.

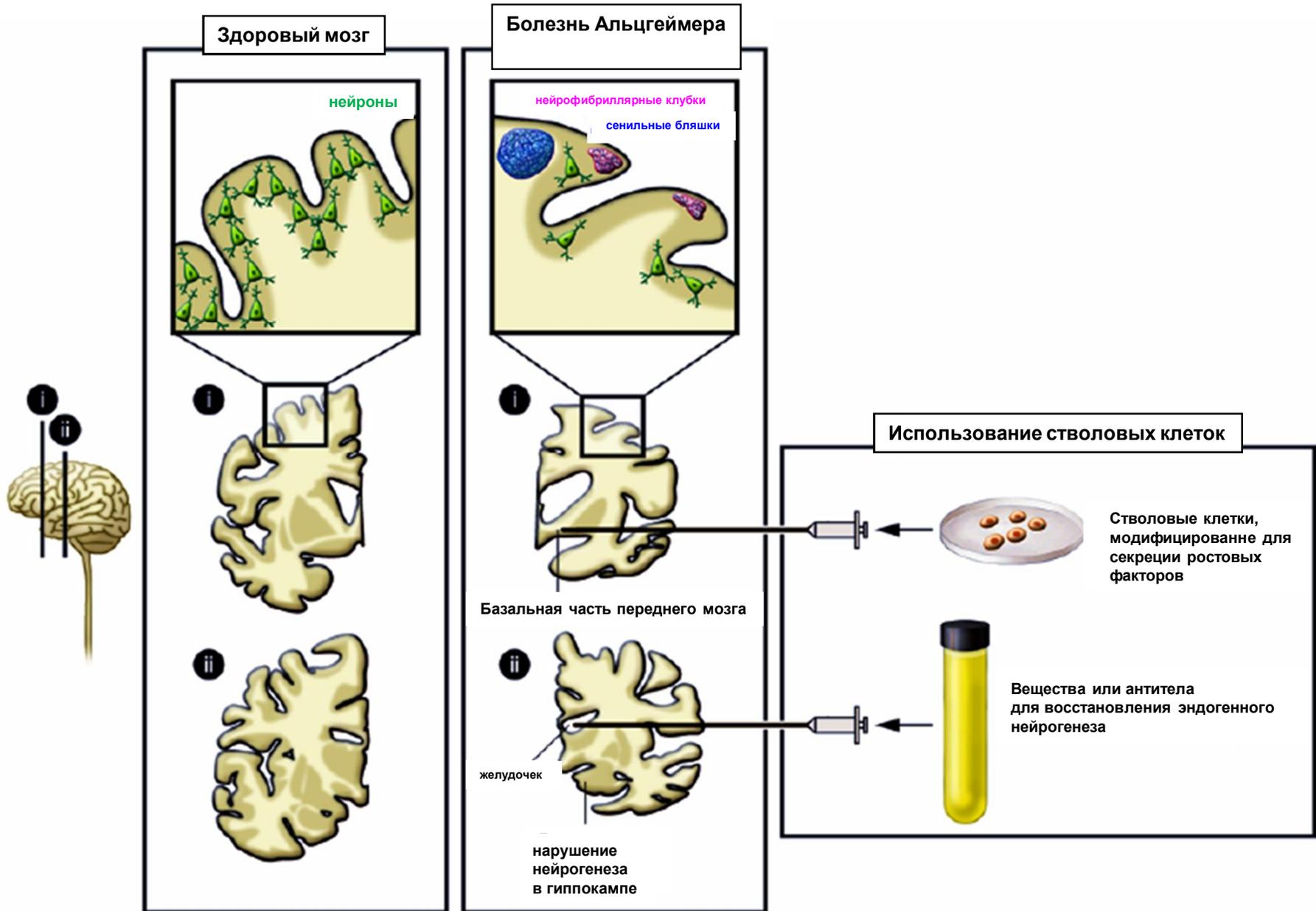


Амилоидные бляшки. Иммуноокрашивание

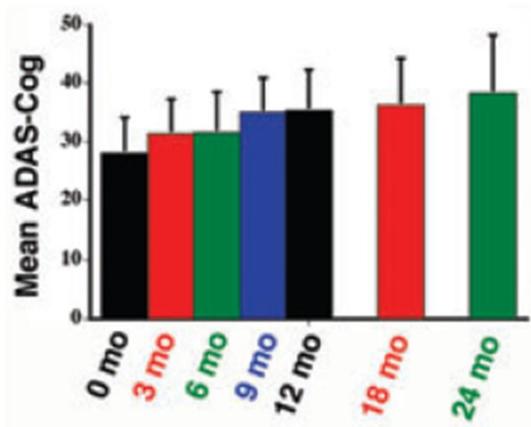


**Нейрофибриллярные клубки.
Окраска по Bielschowski**

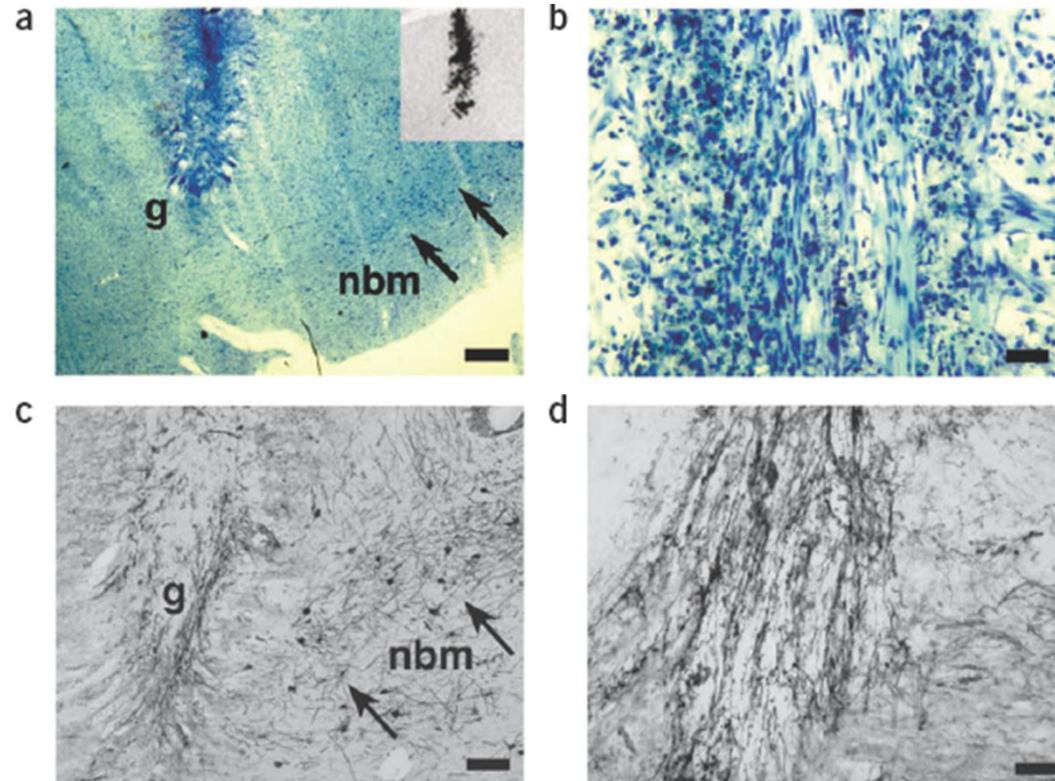
Схема клеточной терапии при болезни Альцгеймера



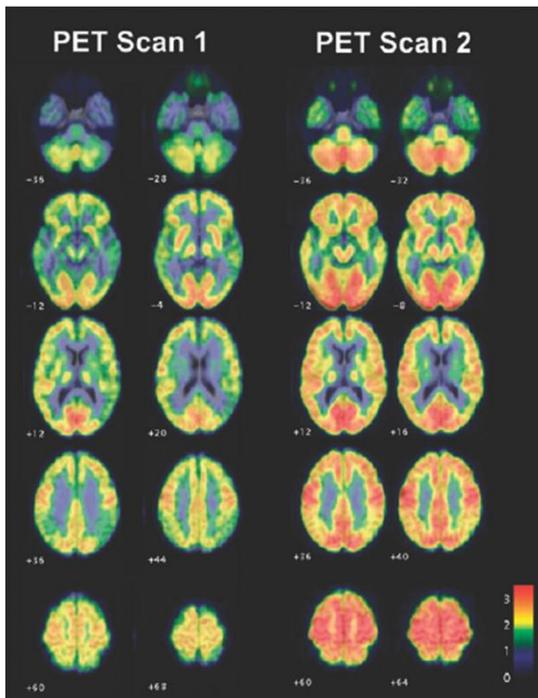
Клеточная терапия при болезни Альцгеймера



ADAS-Cog ()



Изображение NGF-продуцирующих клеток (g). a, b - окраска по Нислю; c, d – иммуногистохимическое окрашивание на холинергические нейроны (p75). nbm - базальное ядро Мейнерта



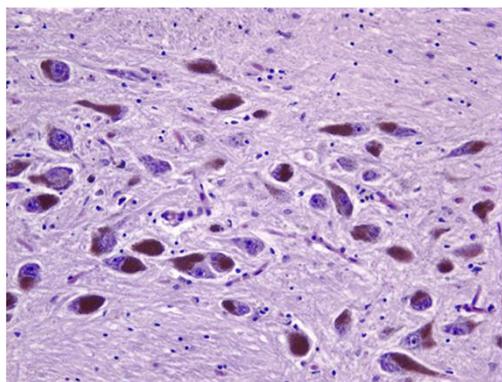
ПЭТ изображение поглощения флуордеоксиглюкозы-18 (FDG)

Двусторонняя аутологичная трансплантация (8 больных) фибробластов (2x 500 тыс. кл.), модифицированных с помощью ретровирусного вектора для синтеза фактора роста нервов (NGF), не приводила к формированию опухолей и не имела токсического эффекта.

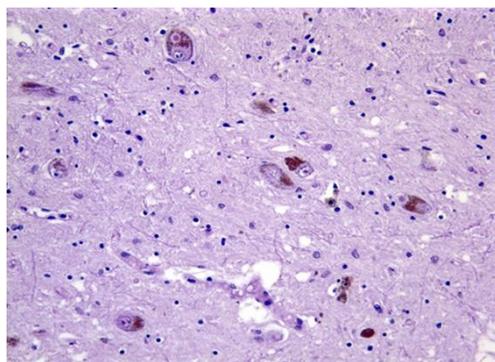
Такая трансплантация улучшала когнитивные показатели больных, увеличивала поглощение флуордеоксиглюкозы-18 (особенно в кортикальных структурах и мозжечке), что свидетельствует об улучшении метаболизма.

Болезнь Паркинсона

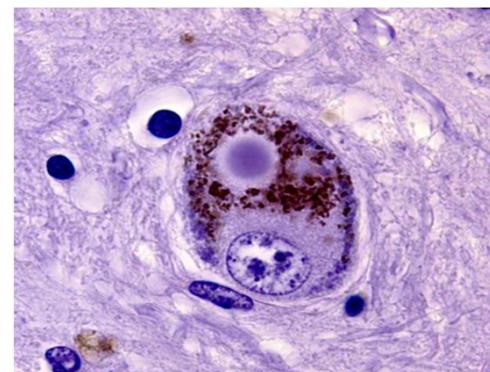
- При болезни Паркинсона в первую очередь поражаются дофамин-продуцирующие нейроны *Substantia nigra*.
- Фибриллы из нерастворимого полимеризованного α -синуклеина накапливаются в телах нейронов, формируя округлые цитоплазматические включения, т.н. тельца Леви.
- α -синуклеин также накапливается в отростках нейронов, астроцитах и олигодендроцитах.
- Агрегация телец Леви приводит к дегенерации и гибели нейронов.
- Развитие ригидности, брадикинезии и тремора коррелирует с дегенерацией дофаминергического nigrostriatalного пути.



Зона *Substantia nigra* в норме

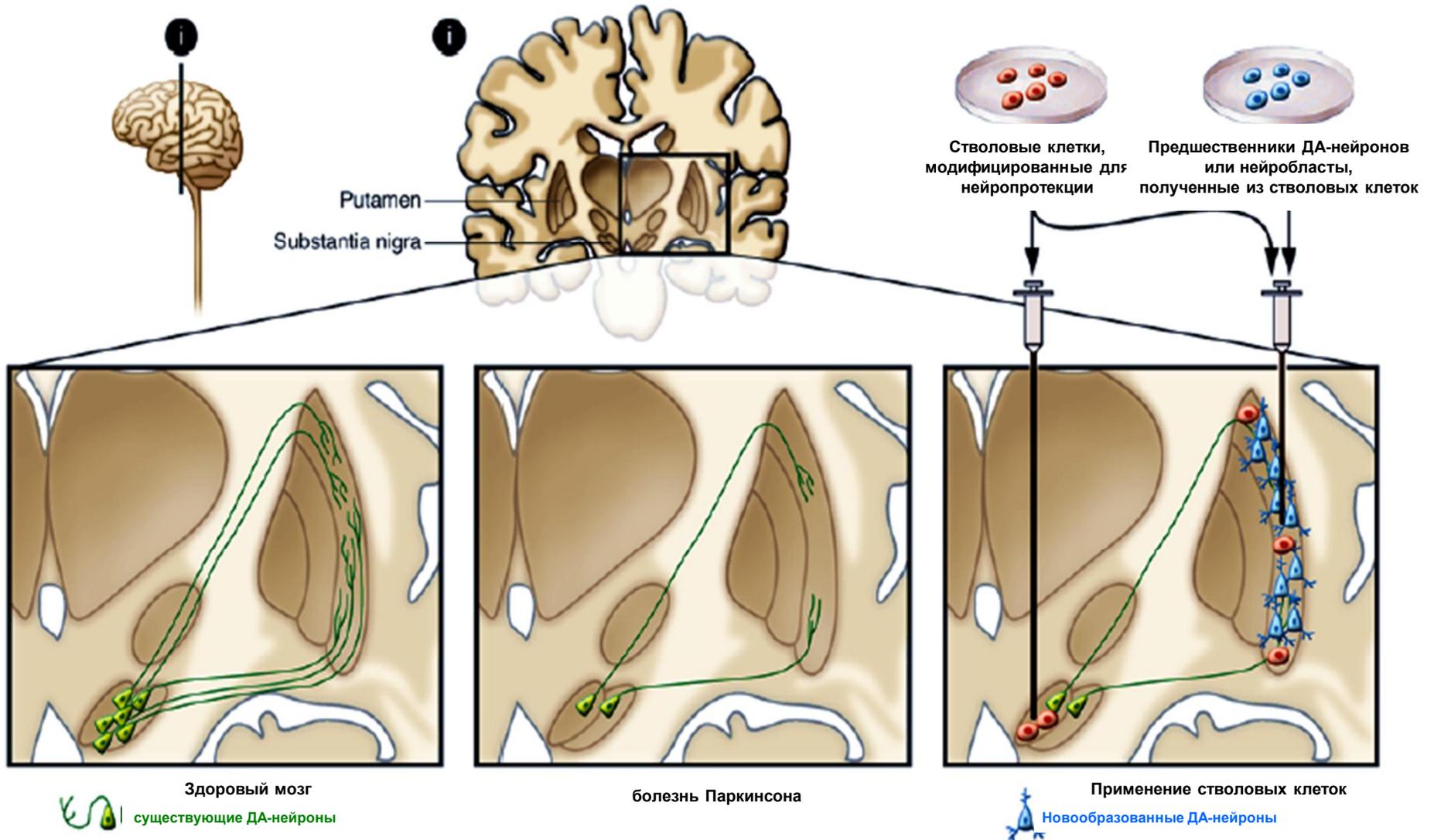


Зона *Substantia nigra* при болезни Паркинсона



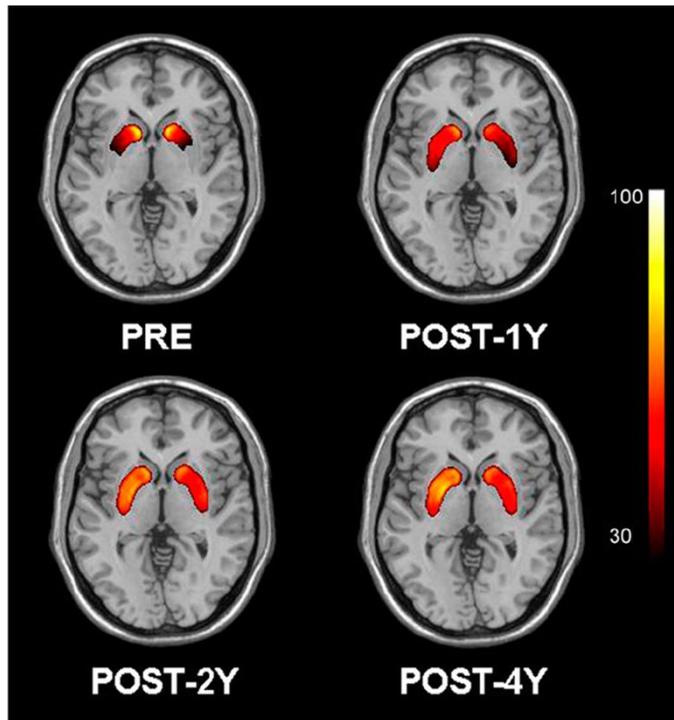
Формирования телец Леви при болезни Паркинсона

Схема клеточной терапии при болезни Паркинсона



Клеточная терапия при болезни Паркинсона

Показатели UPDRS до и после трансплантации



Subject group	Pre	Post 1 y	Post 2 y	Post 4 y
All	38.3 ± 2.0*	32.6 ± 2.6	26.5 ± 2.8	28.1 ± 2.7
Young (≤60 y)	38.5 ± 2.6	29.6 ± 3.6	21.4 ± 2.9	29.5 ± 4.0
Older (>60 y)	38.1 ± 3.2	36.0 ± 3.5	31.7 ± 4.3	25.4 ± 2.3
Men	38.4 ± 3.1	28.5 ± 3.9	25.9 ± 4.3	28.1 ± 4.3
Women	38.2 ± 2.7	35.9 ± 3.3	27.0 ± 3.7	28.2 ± 3.5

Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)

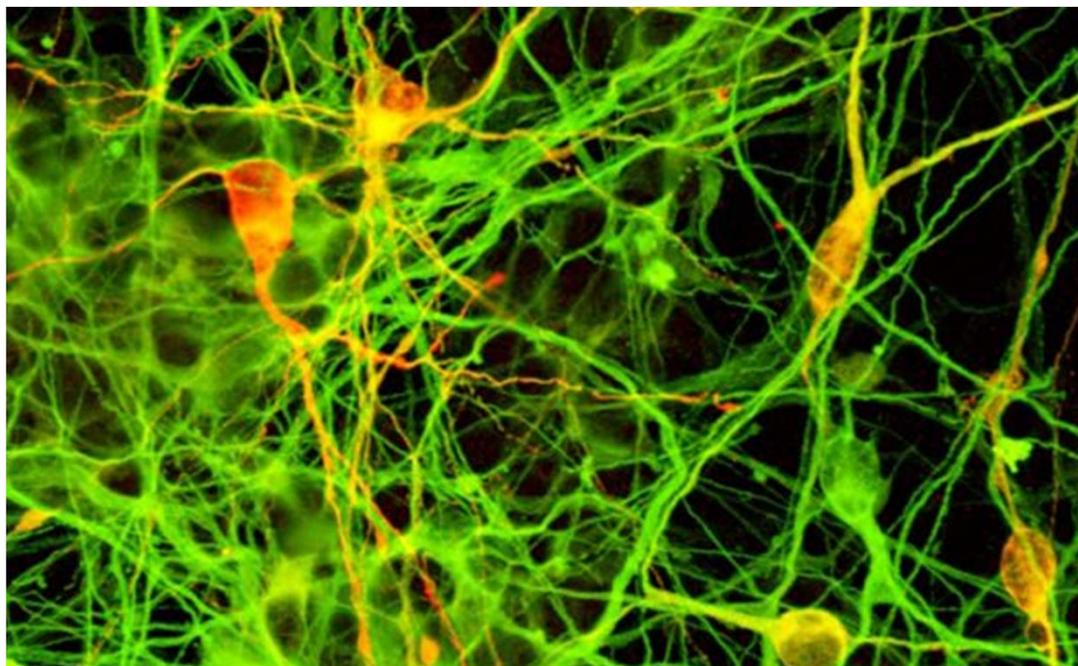
Поглощение 18F-FDOPA до и после трансплантации

Subject group	Pre	Post 1 y	Post 2 y	Post 4 y
All	0.50 ± 0.02*	0.65 ± 0.03	0.69 ± 0.04	0.74 ± 0.05
Young (≤60 y)	0.50 ± 0.03	0.63 ± 0.04	0.66 ± 0.05	0.74 ± 0.07
Older (>60 y)	0.50 ± 0.03	0.66 ± 0.05	0.73 ± 0.05	0.74 ± 0.11
Men	0.51 ± 0.03	0.66 ± 0.04	0.75 ± 0.05	0.77 ± 0.07
Women	0.50 ± 0.02	0.63 ± 0.04	0.65 ± 0.05	0.70 ± 0.09

Двусторонняя трансплантация эмбриональных дофаминергических клеток уменьшала двигательные нарушения и увеличивала поглощение 18F-FDOPA (18F-fluorodopa) даже через 4 года после трансплантации, что свидетельствует о выживании трансплантата.



Лауреатами Нобелевской премии по медицине и физиологии стали японский ученый Синья Яманака и британец Джон Гердон за работы по изучению стволовых клеток.

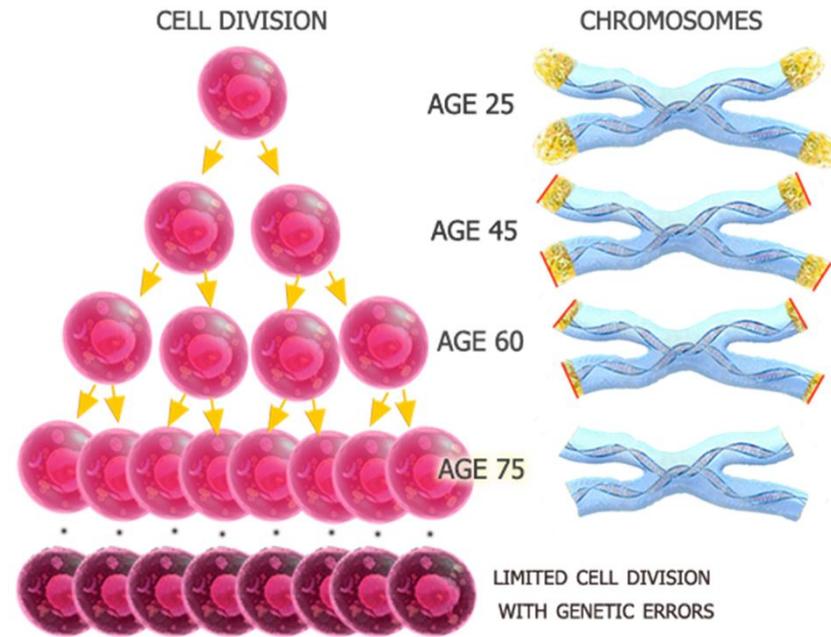


Дофаминергические нейроны, полученные из плюрипотентных клеток человека.

Как дожить до 115 лет?

115-

:



Хендрике ван Андель-Шиппер .

1890

2005

115



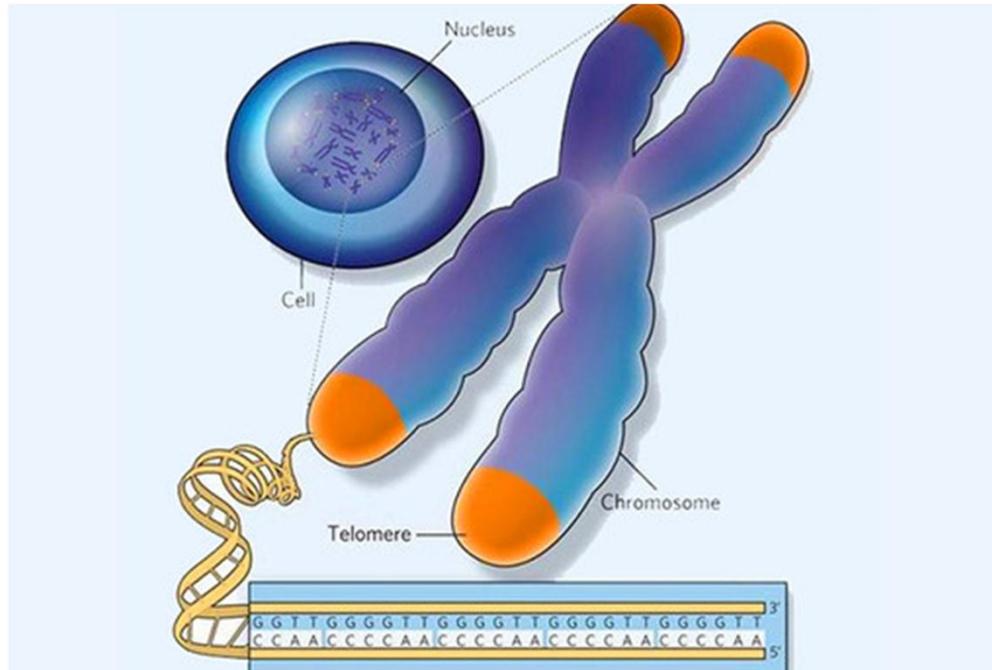
Somatic mutations found in the healthy blood compartment of a 115-yr-old woman demonstrate oligoclonal hematopoiesis

Henne Holstege, Wayne Pfeiffer, Daoud Sie, et al.

Genome Res. published online April 23, 2014
Access the most recent version at doi:10.1101/gr.162131.113

Как дожить до 115 лет?

2009



10%.

Рецепт удлинения теломеров: правильная диета, физическая активность, контроль стресса и социальная поддержка.

Выводы

- “ Исследование стволовых клеток – фундамент радикально новой терапии неизлечимых на сегодня заболеваний.**
- “ В последние годы наблюдается значительный прогресс в развитии технологий получения клеток человека, необходимых для клеточной терапии.**
- “ Механизм действия стволовых клеток состоит не только в структурном замещении поврежденных клеток, а также в иммуномодуляции, трофическом действии, стимуляции ангио-, синапто- и нейрогенеза.**
- “ Для эффективного использования стволовых клеток в клинической практике нужно провести больше фундаментальных исследований механизмов регуляции пролиферации, миграции, дифференциации, выживания и функционирования стволовых клеток.**

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

