

А.А. Стадников и Н.Н. Шевлюк

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Кафедра гистологии, цитологии, эмбриологии (зав. — проф. А.А.Стадников) Оренбургской государственной медицинской академии Росздрава; лаборатория функциональной морфологии клетки (зав. — проф. А.А.Стадников) Института клеточно-го и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, г. Оренбург

В статье дан критический анализ данных литературы последних лет, касающихся роли и значимости стволовых (эмбриональных и прогениторных) клеток в процессах репаративного морфо- и гистогенеза в различных органах организма животных и человека. Обсуждаются возможные негативные последствия использования стволовых клеток с целью стимуляции репаративных гисто- и органогенезов. Обращается внимание на необходимость более осторожного и взвешенного подхода к использованию стволовых клеток для стимуляции восстановительных процессов в организме.

Ключевые слова: *стволовые клетки, пролиферация, цитодифференцировка, морфогенез, регенерация.*

В последние десятилетия предпринимаются попытки существенным образом пересмотреть представления о стволовых клетках в организме млекопитающих животных и человека. Появились большое число публикаций, в которых авторы сообщают об обнаружении стволовых клеток в различных тканях. Одними из факторов, активизирующих попытки поисков стволовых клеток во всех дефинитивных структурах организма, явились полученные в середине XX столетия доказательства генетической идентичности всех соматических клеток конкретного многоклеточного организма. Наиболее изученными к настоящему времени являются гемопоэтические стволовые клетки [3, 4, 7, 13, 15, 16, 20, 23, 24]. При этом, следует подчеркнуть, что путь от гипотетического предшественника всех клеток крови, существование которого было предсказано видным отечественным гистологом, членом-корреспондентом Императорской Петербургской АН А.А.Максимовым, к доказательству существования стволовой гемопоэтической клетки занял около полувека. В последнее десятилетие возросло число публикаций по вопросам биологии нейтральных стволовых клеток, прежде всего, в связи с их участием в процессах репаративной регенерации [1, 8, 9, 14, 18, 19, 21, 22].

Постоянно подогреваемый в том числе и медицинской, и небиологической прессой интерес к проблеме стволовых клеток создал у обывателей (а так же и у части научного сообщества) представление о том, что произошла какая-то переоценка основных догм молекулярной биологии, эмбриологии, цитологии, генетики (что, по существу, может рассматриваться как новая науч-

ная революция в медико-биологических научных дисциплинах).

Хотя наличие стволовых клеток, способных участвовать в формировании любой ткани организма, в настоящее время большинством исследователей не подвергается сомнению, тем не менее, многие аспекты цитофизиологии стволовых клеток, а также их использования в целях регенерации тканевых и органных структур еще далеки от разрешения [2, 8]. Это касается прежде всего морфологической идентификации регуляторных факторов и механизмов, определяющих вступление стволовых клеток в пролиферативный цикл и регулирующих процессы их дифференцировки в том или ином направлении.

Недостаточно разработанными остаются вопросы регенерации тканей и органов на основе стволовых клеток и с позиций их взаимосвязи с процессами эволюции органического мира.

Факты наличия стволовых клеток во всех компартментах такой сложной иерархически организованной биологической системы, каковой является организм высших эукариотических организмов, по крайней мере, для тех случаев, когда наличие стволовых клеток аргументированно доказано, как например, для паравентрикулярных областей головного мозга [8], является серьезным основанием для коррекции концепций, характеризующих процессы регенерации тканей и органов.

Не ставя под сомнение и не пытаясь отрицать возможность существования полипотентных (стволовых) клеток в составе дефинитивных тканей в условиях организма на этапах постнатального онтогенеза (поскольку для ряда тканей наличие таких стволовых клеток убедительно

аргументировано и представлено в большом числе научных публикаций), мы хотим высказать ряд соображений, касающихся как фундаментальных аспектов проблемы стволовых клеток, так и прикладных вопросов их применения в клинической практике для стимуляции тканевой и органной регенерации.

Имея большой опыт культивирования различных клеток, тканей и органов млекопитающих (гипоталамус, гипофиз, гонады, бронхи, миокард, слюнные железы, поджелудочная железа, кожа и др.) в условиях *in vivo* (в том числе в диффузионных камерах) и *in vitro*, мы хорошо сознаем все сложности, возникающие перед исследователями, занимающимися пересадкой чужеродных клеток в другой организм, прежде всего, они касаются вопросов дифференцировки различных клеточных структур в желаемом для исследователя направлении. Ограниченные возможности различных методов культивирования клеток и тканей прежде всего связаны со сложностью (или даже невозможностью) смоделировать естественные условия морфогенетических процессов.

Для реализации морфогенетических процессов в ходе репаративной регенерации (в сущности, повторяющих процессы эмбрионального гистогенеза) в условиях взрослого организма чрезвычайно сложно создать те же условия, которые имеют место при формировании той или иной ткани (того или иного органа) в эмбриогенезе. Это касается процессов индукции, интеграции, клеточного движения и целого ряда других процессов, обеспечивающих генетически детерминированную пространственно-временную организацию морфогенетических процессов, проходящих в ходе репаративной регенерации в условиях сформированного целостного организма.

Если вопросы регуляции пролиферативной активности трансплантированных стволовых клеток в той или иной степени решаются, то в отношении управления последующими этапами морфогенетических процессов, начинающихся в организме после трансплантации стволовых клеток, этого сказать пока еще нельзя. Возникают много противоречий между конкретными экспериментальными задачами и естественными потенциальными возможностями тех или иных клеточных структур. Например, в условиях развивающегося организма высших млекопитающих процесс деления предшественников нервных клеток занимает время, измеряемое десятками минут и часами, тогда как становление морфофункциональных свойств нейронов в этих же организмах (в том числе и в онтогенезе человека) занимает на несколько порядков больше времени (годы и десятилетия).

Одним из важнейших результатов эволюции многоклеточных организмов явилась утрата нейронами способности к размножению после завершения ими цитодифференцировки (либо еще до ее завершения). Данная утрата способности к репродукции у дифференцированных нейронов по существу является платой за приобретение нервной системой управляющих (интегративных, регуляторных) функций на уровне целостного организма. В этой связи наличие в нервной системе нейральных клеток, способных к репродукции, не может трактоваться однозначно только как позитивное явление.

Следует учитывать и тот факт, что в процессе эволюции у высших млекопитающих, к которым относится и человек, для ряда клеточных структур (а так же и для симпластов скелетной мышечной ткани) возросло значение внутриклеточной регенерации, компенсаторной гипертрофии, в противовес регенерации на основе пролиферации и последующей дифференцировки соответствующих клеточных элементов.

Присутствие стволовых клеток в быстро обновляющихся клеточных популяциях обусловлено постоянной гибелью колоссального числа клеточных элементов, хотя основное пополнение численности клеточных популяций идет не на уровне стволовых или полустволовых клеток, а на уровне более дифференцированных клеточных элементов (как это имеет место, например, в гемопоэзе). С этих позиций следует поставить вопрос: столь ли важна роль именно стволовой клетки в процессах репарации тканей и органов, если при естественной (физиологической) регенерации основной прирост численности в клеточных популяциях регенерирующих тканей дают не стволовые клетки, а клетки значительно большей степени дифференцированности.

Многое в вопросах о роли и значимости стволовых клеток в процессах регенерации нуждается в уточнении. До сих пор дискуссионным остается вопрос о том, являются ли стволовые клетки активаторами гистиотипической регенерации либо ее индукторами [2].

Нуждаются в дальнейшей разработке теоретические основы механизмов протекции трансплантированных в другой организм стволовых клеток. Если даже согласиться с существующим среди значительного числа исследователей мнением об отсутствии иммунного конфликта в случае трансплантации в другой организм эмбриональных стволовых клеток (хотя на самом деле это не совсем так), то в отношении региональных стволовых клеток вряд ли можно постулировать предположение о том, что их существование после

пересадки в другой организм не будет зависеть от деятельности иммунцитов реципиента.

Что же касается наличия стволовых клеток в стабильных клеточных популяциях (например, в популяциях нейронов), то эти стволовые клетки могут также являться и источником различных новообразований, в том числе и злокачественных. Нет сведений о том, что применение стволовых клеток для стимуляции процессов регенерации в различных тканях и органах не приведет к образованию тератоидных опухолей (как например, это имеет место в случае формирования эмбриональных тератом из гонобластов, являющихся стволовыми клетками для спермато- и овогенеза).

Нуждаются в дальнейшем уточнении процессы неонейрогенеза на основе стволовых клеток во взрослом организме. Так, Н.П.Шиханов и соавт. [17], отмечая неонейрогенез в гиппокампе при моделировании эпилепсии у взрослых крыс, полагают, что одним из источников нейрогенеза у взрослых крыс могут быть зрелые, дифференцированные клетки.

Имеются, например, данные об успешной посттравматической регенерации спинного мозга и без использования стволовых клеток. Так, В.И.Зябловым при изучении репаративной регенерации органов ЦНС [5, 6] в экспериментах на собаках, которым перерезали на уровне каудальных грудных сегментов спинной мозг, была показана возможность его регенерации. Автором в поврежденном сегменте спинного мозга в первые сутки эксперимента обнаружено большое количество регенерирующих нервных волокон. По его данным, функции тазовых органов и задних конечностей заметно восстанавливались уже к концу 3-й недели после операции, а через 3–6 мес после нанесения травмы некоторые животные практически не отличались от нормальных.

Для реализации морфогенетических процессов в регенерирующих тканях и органах одних полипотентных стволовых клеток недостаточно. Необходимыми условиями нормального морфогенеза являются и формирование соответствующих рецепторов на этих клетках, и продукция регуляторных веществ в организме, и много других условий, возникающих в процессе соответствующих взаимодействий со всеми элементами микроокружения в процессе пролиферации и последующей дифференцировки потомков стволовых клеток. Нарушение любого из процессов пространственно-временной организации морфогенеза (детерминация, пролиферация, цитодифференцировка, клеточные перемещения, клеточная гибель и др.) может привести к непредсказуемым последствиям для регенерирующей ткани в частности и для организма в целом.

Весьма существенным фактором, который может нарушать процессы пролиферации и цитодифференцировки потомков стволовых клеток в ходе репаративной регенерации тканей и органов, являются процессы развития соединительной ткани в зоне повреждения ткани, органа. Регенерация соединительной ткани в зоне дефекта, как правило, идет значительно быстрее, чем, например, рост отростков нейронов или гистиоцитическая регенерация скелетной мышечной ткани.

Наконец, следует подчеркнуть, что практически ничего не известно об отдаленных последствиях всех этих недостаточно теоретически обоснованных вмешательствах в сложнейшую биологическую систему, каковой являются высшие млекопитающие (см. например, информацию А.И.Никитина [12] о многократном возрастании случаев онкозаболеваний органов репродуктивной системы женщин, которым с целью экстракорпорального оплодотворения и последующей имплантации зародыша в матку проводили гормональную стимуляцию организма с целью вызывания суперовуляции яйцеклеток в яичниках).

Нет пока еще никаких гарантий защиты от различных нежелательных трансформаций стволовых и прогениторных клеток в условиях их трансплантации в организм человека для активизации тех или иных регенераторных процессов. Известно, что даже в условиях естественных генетически детерминированных морфогенетических преобразований в целостном развивающемся организме возможны сбои в реализации генетической программы стволовых клеток (например, это имеет место при формировании эмбриональных тератом на основе гонобластов).

Вопросы регуляции дифференцировки трансплантированных стволовых клеток еще только начинают разрабатываться. Экспериментальные модели, позволяющие направлять процессы цитодифференцировки трансплантированных стволовых клеток в желаемом направлении, пока еще находятся только на начальном этапе экспериментальных разработок (исключение составляют стволовые гемопоэтические клетки, успешное изучение которых ведется уже несколько десятков лет). На основе многолетних экспериментов созданы внедренные в клиническую практику методы регуляции пролиферации и дифференцировки клеток гемопоэтических дифференцированных красного костного мозга, направленные на лечение ряда патологий гемопоэза у человека.

Наконец, совершенно не разработаны вопросы взаимодействия трансплантированных стволовых клеток с прокариотическими эндосимбионтами

макроорганизма, тогда как в последние десятилетия появились убедительные доказательства активизации этой микрофлоры в условиях воздействия на организм различных дестабилизирующих факторов (каковым не может не являться трансплантация любых чужеродных клеток в организм).

В последнее время появилось много публикаций, в которых авторы сообщают о своих успехах в деле использования трансплантированных стволовых клеток для лечения тех или иных патологий либо об открытии методов активизации собственных стволовых клеток организма [10, 11]. Не касаясь ненаучной фантастики этих авторов, посвященной проблемам антропогенеза (эти вопросы лежат вне поля научных дискуссий), остановимся на ряде революционных выводов известного офтальмохирурга Э.Р.Мулдашева, посвященных вопросам регенерации тканей и органов. Не достигнув успеха в предпринятых им попытках ревизии и ниспровержения современных научных концепций антропогенеза, Э.Р.Мулдашев решил произвести переворот в области клеточной и тканевой биологии. По меньшей мере сомнительным является утверждение Э.Р.Мулдашева [10, 11] о том, что им достигнута возможность управлять процессами пролиферации и цитодифференцировки в нужном направлении стволовых клеток в организме пациентов с самыми различными патологиями. Так, Э.Р.Мулдашев и соавт. в работе, касающейся проблем пластической и реконструктивной хирургии, не приводя никаких аргументированных морфологических доказательств, утверждают: «...технологии Аллоплант, избирательно воздействуя на стволовые клетки, запускают механизмы регенерации на субклеточном, клеточном, тканевом и надтканевом уровнях организации, в итоге приводя к формированию структурно и функционально адекватного регенерата» [11, с. 109]. В другой работе Э.Р.Мулдашев пишет: «Более четверти века в Центре (имеется в виду руководимый им Центр в г. Уфе) ведутся исследования процессов замещения различных биоматериалов Аллоплант. Однако, независимо от вида используемого биоматериала, уже в ранние сроки в тканевом ложе трансплантата появляются малодифференцированные (юные, полустволовые, стволовые) клетки, которые дают начало формированию различных клеточных дифферонов» [10, с. 6]. Автор заключает: «...имеющийся в нашем распоряжении материал позволяет рассматривать биоматериалы Аллоплант как инструмент мобилизации стволовых клеток и включения механизмов их коммитированного деления в направлении различных дифферонов» [10, с. 6].

Подобные сведения никак не согласуются с устоявшимися представлениями об иерархических уровнях организации биологических систем.

Выстроенная Э.Р.Мулдашевым бездоказательная концепция о привлечении с помощью вещества «Аллоплант» в очаг регенерации стволовых клеток из различных регионов организма принципиально ничем не отличается от развиваемой О.Б.Лепешинской в 40–50-е годы XX в. концепции, рассматривающей в качестве источника новообразования клеток и тканей некое мифическое «живое вещество». Хотя с позиций современных представлений о стволовых клетках по-иному может быть рассмотрена и концепция О.Б.Лепешинской об образовании клеток из «живого вещества». Вероятно, формирование тех или иных тканей в условиях экспериментов О.Б.Лепешинской происходило (если оно действительно имело место) из имевшихся в тканевых структурах стволовых клеток, а не из «живого вещества».

Здесь уместно привести мнение коллектива авторов во главе с известным отечественным специалистом в области клеточной биологии членом-корреспондентом РАН Л.И.Корочкиным [8], который указывает, что периодически появляющиеся сведения о неограниченной трансформации стволовых клеток, а тем более о процессах трансдифференцировки, часто основаны на недостаточном количестве фактического материала, имеют преувеличенный характер и требуют серьезной проверки. Л.И.Корочкин и соавт. [8], касаясь заключения ряда исследователей о том, что все может превращаться во все, подчеркивают, что к таким заключениям надлежит относиться с крайней осторожностью. По мнению Л.И.Корочкина и соавт. [8], такие «превращения» могут быть не явлениями типа трансдифференцировки, а следствием высокой гетерогенности изучаемой клеточной популяции.

Завершая обсуждение, процитируем положения Рекомендаций Международного совещания «Доказательная медицина: новые подходы к образованию и практике в здравоохранении», организованного Московской медицинской академией им. И.М.Сеченова (с участием представителей других медицинских вузов, УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России и экспертов Всемирной организации здравоохранения), прошедшего 13–14 октября 2005 г. в Москве. В рекомендациях этого совещания отмечено, что доказательная медицина — это «сознательное, четкое и беспристрастное использование лучших из имеющихся доказанных фактов для принятия решений о помощи конкретным боль-

ным». Как подчеркивается в «Рекомендациях», принцип доказательности относится практически ко всем сферам деятельности медицины, включая и осуществление научных исследований и разработок. Рекомендации научных исследований, не учитывающие принципов доказательности, не могут быть востребованы в дальнейшем медицинским сообществом.

ЛИТЕРАТУРА

- Александрова М.А. и Сухих Г.Т. Нейральные стволовые клетки эмбрионов человека в культуре тканей и после трансплантации. В кн.: Сб. науч. трудов VII Всеросс. конф. по патологии клетки. М., Медицина для всех, 2005, с. 7–8.
- Бабаева А.Г. и Зотиков Е.А. Клеточная терапия: источник или индуктор регенерации? В кн.: Сб. науч. трудов VII Всеросс. конф. по патологии клетки. М., Медицина для всех, 2005, с. 13–15.
- Билько Н.М. Новый метод культивирования гемопоэтических клеток. Цитология, 1994, т. 36, № 6, с. 515–516.
- Дыбан П.А. Новый подход к получению стволовых эмбриональных клеток при культивировании ранних зародышей мыши в диффузионных камерах. Морфология, 2004, т. 126, вып. 4, с. 44.
- Зяблов В.И. К вопросу о восстановлении проводимости спинного мозга после его перерезки. В кн.: Морфогенез и регенерация. Харьков, 1975, т. 60, с. 11–14.
- Зяблов В.И. Проблемные вопросы регенерации нервной системы. Симферополь, изд. Крымск. мед. ин-та, 1986.
- Козлов В.А., Журавкин И.Н. и Цырлова И.Г. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ. Новосибирск, Наука, 1982.
- Корочкин Л.И., Ревущин А.В. и Охотин В.Е. Нейральные стволовые клетки и их значение в восстановительных процессах в нервной системе. Морфология, 2005, т. 127, вып. 3, с. 7–16.
- Марей М.В., Полтавцева Р.А., Подгорный О.В. и др. Сравнительный анализ культур нейральных стволовых клеток человека при краткосрочном и длительном культивировании. В кн.: Сб. науч. трудов VII Всеросс. конф. по патологии клетки. М., Медицина для всех, 2005, с. 78–79.
- Мулдашев Э.Р. Предисловие к книге: Очерки трансплантации тканей. Уфа, Полиграфкомбинат, 2003, с. 4–6.
- Мулдашев Э.Р., Муслимов С.А., Нигматуллин Р.Т. и др. Регенеративная хирургия на основе трансплантационных технологий Аллоплант. Морфология, 2002, т. 121, вып. 2–3, с. 109.
- Никитин А.И. Супероуляция и репродуктивный процесс. В кн.: Гистогенетический анализ изменчивости и регенерации тканей: Материалы науч. совещ., посвящ. 100-летию со дня рождения Н.Г.Хлопина. СПб., изд. ВМА, 1997, с. 14–15.
- Орловская И.А., Дубинина Л.В., Халдожиди С.К. и Козлов В.А. Изменения в возрастной структуре стволовых кроветворных клеток старых мышей под влиянием фактора, ингибирующего их пролиферативную активность. Цитология, 1994, т. 25, № 3, с. 26–32.
- Подгорный О.В., Марей М.В., Александрова М.А. и др. Иммуногистохимическое исследование культур нейральных стволовых клеток эмбрионального мозга человека. В кн.: Сб. науч. трудов VII Всеросс. конф. по патологии клетки. М., Медицина для всех, 2005, с. 96–97.
- Свиридова И.К., Маршутина Н.В., Сергеева В.С. и др. Иммунофенотип стволовых стромальных клеток костного мозга и липосакта человека на этапах культивирования. Морфология, 2004, т. 126, вып. 4, с. 110–111.
- Фриденштейн А.Я. Стволовые клетки тканей с медленным обновлением клеточного состава. Цитология, 1994, т. 36, № 6, с. 507.
- Шиханов Н.П., Сосунов А.А., Иванов Н.М. и др. Нейрогенез в гиппокампе при экспериментальных моделях эпилепсии. Морфология, 2002, т. 121, вып. 2–3, с. 183.
- Ярыгин В.Н., Банин В.В. и Ярыгин К.Н. Биомедицинские терапевтические технологии на основе стволовых и прогениторных клеток: от клеточной биологии к биологии тканевых клеточных систем. В кн.: Сб. науч. трудов VII Всеросс. конф. по патологии клетки. М., Медицина для всех, 2005, с. 140–142.
- Ярыгин В.Н., Банин В.В. и Ярыгин К.Н. Регенерация спинного мозга после торакальной сегментэктомии: восстановление анатомической целостности спинного мозга. Морфология, 2005, т. 127, вып. 2, с. 39–43.
- Gonis H., Bungart B. and Loeffler M. Migration of stem cells and progenitors between marrow and spleen following thiamphenicol treatment of mice. Exp. Hematol., 1990, v. 18, № 5, p. 406–407.
- Ourednik V., Ourednik J. and Flax J.D. Segregation of human neural stem cells in the developing primate forebrain. Science, 2001, v. 293, p. 1820–1824.
- Paniker M. and Rao M. Stem cells and neurogenesis. In: Stem cell biology. New York, Cold Spring Harbor Lab. Press, 2001, p. 399–438.
- Tejaro C., Testa N.G. and Lord B.I. The cellular specificity of hemopoietic stem cell proliferation regulators. Brit. J. Cancer, 1984, v. 50, p. 335–341.
- Van Zant G., Holland B.P., Eldridge P.W. and Chen J.J. Genotype-restricted growth and aging pattern in hematopoietic stem cell populations of allophenic mice. J. Exp. Med., 1990, v. 17, № 5, p. 1547–1566.

Поступила в редакцию 13.04.2006 г.

STEM CELLS AND REPARATIVE REGENERATION IN POSTNATAL ONTOGENESIS OF MAMMALS

A.A. Stadnikov and N.N. Shevliuk

This paper presents the critical analysis of the data published in recent literature, which concern the role and significance of stem cells (embryonic stem cells and progenitor cells) in the processes of reparative morpho- and histogenesis in the different animal and human organs. Possible negative effects of the application of stem cells for the stimulation of reparative histogenesis and organogenesis are discussed. Special attention is drawn to the necessity of more cautious and balanced approach to the use of stem cells for stimulation of repair processes in the organism.

Key words: stem cells, proliferation, cytodifferentiation, morphogenesis, regeneration.

Department of Histology, Cytology and Embryology, Orenburg State Medical Academy, Laboratory of Functional Morphology of the Cell, RAS Ural Branch Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg.