

Стовбурові клітини на тлі проблем і перспектив регенеративної медицини



Геннадій БУТЕНКО,
академік Національної академії
медичних наук України,
член-кореспондент НАН України та РАМН,
директор Інституту генетичної
та регенеративної медицини НАМН України

Нобелівську премію з фізіології та медицини за 2012 рік присуджено Джону ГЕДОНУ (John Gurdon) з Кембриджського університету Великої Британії та Шиньї ЯМАНАЦІ (Shinya Yamanaka) з університету Кіото в Японії за роботи з перепрограмування зрілих клітин багатоклітинних організмів до плюрипотентного стану. У чому полягає актуальність і перспективність цього напрямку, які медичні проблеми він допоможе розв'язати?

Спочатку – про відомі речі. Усі багатоклітинні організми, зокрема й людський, розвиваються з однієї заплідненої яйцеклітини, яка називається зиготою й утворюється шляхом злиття жіночої та чоловічої статевих клітин – гамет. Кожна гамета містить половину розподіленого випадковим способом генетичного матеріалу тієї особи, з якої вона походить. У такий спосіб під час злиття двох гамет – чоловічої та жіночої, утворюється клітина, яка містить подвійну кількість генетичного матеріалу (геному) у вигляді ДНК, що притаманне для всіх багатоклітинних організмів. Після цього зигота в сприятливих умовах починає швидко ділитися: спочатку навпіл, утворюючи 2 клітини, потім 4, 8 і так далі. Інколи на початкових етапах клітини, що поділилися, розходяться, і тоді кожна з них може дати початок новому окремому організму, який за своїм генетичним складом є ідентичним такому ж, що походить із цієї зиготи. Так з'являються, наприклад, однайцеві близнюки.

Таке явище (тотипотентність) спостерігається до етапу 8 клітин. За подальшого поділу й накопичення маси клітин тотипотентність зникає, а клітини вже не схожі одна на одну, бо стають більш спеціалізованими, утворюючи спочатку три специфічні тканинні листки – зовнішній (ектодерму), середній (мезодерму) та внутрішній (ендодерму). На цьому етапі клітини називаються плюрипотентними. З подальшим розвитком організму їхній потенціал стає дедалі обмеженішим, а самі вони більш спеціалізованими, проходячи стадії поліпотентності, ди- та монопотентності, аж поки не перетворюються на диференційовані високоспеціалізовані клітини, кожна з яких має специфічний вигляд та виконує певну, притаманну їй функцію: м'язова клітина – функцію

скоротливості, нервова – проведення сигналу збудження, клітина травної залози – вироблення відповідних ферментів тощо.

У дорослому організмі налічується понад 200 різновидів таких клітин, а загальна їхня кількість, наприклад у дорослої людини, сягає півтрильйона. Усі вони походять з однієї зиготи й, у принципі, мають один і той само набір генетичного матеріалу, який при цьому функціонує не повністю, будучи значною мірою заблокованим. Тож активно працює, експресується лише порівняно невелика частка геному, яка забезпечує утворення тільки обмеженої кількості білкових молекул, необхідних для виконання специфічної функції. Усі інші ділянки геному є заблокованими, репресованими у зв'язку з поєднанням із метильними або ацетильними залишками. Ці високоспеціалізовані клітини не здатні до подальшого поділу або переходу в клітини іншої специфічності.

Проте всі диференційовані клітини під впливом зовнішніх і внутрішніх несприятливих чинників, травм, ушкоджень старіють, гинуть і мають постійно відновлюватися для збереження цілісності та життєздатності організму. З цією метою в організмі для різноманітних тканин зберігаються молоді диференційовані клітини, які під впливом певних сигналів можуть розпочати процес розмноження й диференціації, заміщуючи в такий спосіб утрачені клітини або навіть тканини. Ці клітини до певного часу перебувають у стані спокою, повільно відтворюючи самих себе, й дістали назву стовбурових клітин та клітин-попередників. Як видно з викладеного раніше, їхній потенціал залежно від здатності до диференціювання може коливатися від тотипотентності до монопотентності. Нині доведено, що такі клітини-попередники

існують практично в усіх тканинах для утворення всіх спеціалізованих клітин – від швидкозаміщуваних (таких, як клітини крові, покривного епідермісу, клітини травного тракту) до таких, що уявлялися незмінними (клітини нервової системи або серцевого м'яза).

Досить довго дослідники вважали, що під час диференціювання клітини проходять своєрідну точку неповернення, за якої ядерний генетичний матеріал цілковито втрачає властивість активувати в нормальних умовах ті частини геному, які стали заблокованими. Але 1962 року Джон Гедон в експерименті на земноводних показав, що ядро, вилучене з диференційованої клітини кишечника при пересадці в запліднену ікринку (зиготу) жаби, з якої було видалено власне ядро, активується й цілковито відновлює свої тотипотентні властивості з розвитком в цілісний організм, ідентичний організму донора ядра. Так було доведено, що в ядрі диференційованої клітини зберігається вся генетична інформація про організм її хазяїна, яка може бути відтворена за певних умов. Тим самим було створено нову технологію отримання клонуваних організмів при застосуванні ядер різноманітних диференційованих клітин.

Одним із найвідоміших було клонування в 1996 році овецьки Доллі, а потім й інших тварин – мишей, щурів, телят і навіть макак. Щоправда, ефективність такого клонування досить низька: наприклад, овецьку Доллі клонували тільки після 277 невдалих спроб пересадки ядер диференційованих клітин у яйцеклітину, що свідчить про високу вартість технології. Стосовно клонування людини, то це заборонено з етичної, релігійної та юридичної точок зору. Було розглянуто й можливість так званого терапевтичного клонування людини, щоб



Джон Гедон



Шин'я Яманака

отримати стовбурові клітини пацієнта для його лікування, але цей підхід також виявився неперспективним через його малоефективність.

Водночас стрімко розвивається практика застосування стовбурових клітин для лікування низки захворювань, які раніше не піддавалися терапії. Так з'явилася нова галузь під назвою регенеративна медицина, яка ставить за мету створення клітинних і тканинних конструкцій із використанням стовбурових клітин, що проходять спеціалізацію в штучних умовах поза організмом і диференціюються в необхідні структури під впливом контрольованих сигналів різного спрямування. Як стовбурові використовують ембріональні та фетальні клітини, що можуть бути отримані з ембріонів, котрі залишаються під час штучного екстракорпорального запліднення, або з частин абортів плодів. Однак в обох випадках для їх отримання треба зруйнувати інший організм, тому тут виникають дуже жорсткі юридичні, моральні та релігійні перепони. З цією метою можна використовувати також стовбурові клітини з пуповинної крові, самої пуповини, плаценти або отримані з різних джерел дорослого організму – крові, кісткової мозку, підшкірної жирової клітковини та інших місць. Але й тут під час застосування донорських клітин, окрім браку достатньої кількості необхідного матеріалу, постає ще й проблема тканинної несумісності, що також обмежує застосування таких технологій.

У світі нині налічується більш як 200 інститутів регенеративної медицини, яка по праву вважається медициною майбутнього. Більшість таких закладів сконцентровано в південно-східній Азії (Китай, Південна Корея, Таїланд, Сінгапур), а також у США, Великій Британії, Німеччині та інших країнах Європи. Для прикладу, лише Каліфорнійський інститут регенеративної медицини в Сан-Франциско (США) за 10 років профінансовано на суму понад 6 мільярдів доларів. За

цей час було виведено постійні лінії стовбурових клітин, які підтримуються в культурах і можуть бути використані з метою як вивчення, так і застосування. Завдяки цьому визначено гени, що необхідні для збереження «стовбуровості» цих клітин і що заблоковані в диференційованих клітинах.

Такою інформацією скористався професор Ш. Яманака, котрий ввів у культуру фібробластів дорослої миші заблоковані гени, поєднані з певними вірусними векторами, що дало можливість цим генам вбудуватися в геном невеликої кількості фібробластів. Вивчивши комбінації більш як 60 відповідних генів, він обрав 4, які перетворили фібробласти на стовбурові клітини. Перша публікація цих досліджень 2006 року викликала неабиякий інтерес науковців і широкої громадськості, тому що було показано перспективу створення омріяних стовбурових клітин з власного організму з можливістю оминати біологічні та етичні перепони.

У такий спосіб було доведено принципову можливість перепрограмування диференційованих клітин у плюрипотентні, які надалі можна примусити розвиватися в бажаному напрямі. Після цього відкриття активізація робіт з перепрограмування клітин набула лавиноподібного характеру. Щоправда, широкому застосуванню розроблених технологій дещо перешкоджало те, що у складі генів, які вводяться, є вірусний вектор, котрий призводить до нестабільності геному, тому клітини можуть стати злоякісними. Окрім того, не завжди відбувається повне повернення клітин до недиференційованого стану, залишаються окремі риси вихідної тканини і менше прогнозована здатність до диференціювання в необхідному напрямі. Але щодня з'являються нові підходи і варіанти методики репрограмування, тому можна сподіватися, що всі перешкоди буде подолано.

Отримання плюрипотентних індукованих стовбурових клітин (скорочено *iPS cells*) у перспективі дасть можливість використовувати їх для

потреб регенеративної медицини, а окрім того, застосовувати щодо них методи генної терапії, коли в генетично дефектні клітини певного пацієнта в умовах *in vitro* будуть уведені нормальні гени, які після повернення клітини в організм компенсують генетичний дефект. Такі ж клітини можуть бути використані для поглибленого вивчення причин і механізмів багатьох захворювань, для розшифрування механізмів розвитку організму, а також для пошуку і випробування лікарських засобів проти цих хвороб.

То як в Україні розвивається напрям, актуальність якого підтверджує цьогорічна Нобелівська премія з медицини й фізіології? 2007 року постановою Кабінету Міністрів у системі Національної академії медичних наук було створено Інститут генетичної та регенеративної медицини з метою розвитку новітніх наукових напрямів, про які йшлося вище. Було визначено основні пріоритетні напрями діяльності цього закладу, обрано співробітників з-поміж найперспективніших і активних науковців, серед яких багато молоді, придбано сучасне наукове обладнання. Також обіцяли найближчим часом надати нам спеціальне приміщення.

Інститут досі не має власного приміщення і працює на розкиданих по території Києва орендованих площах у різних наукових закладах. Ми не маємо належно оснащених лабораторій і можливості придбати сучасне високотехнологічне обладнання.

Попри таке скрутне становище, за п'ять років існування інститут успішно виконав започатковані наукові проекти та здобув визнання вчених багатьох країн світу, про що свідчать активна співпраця та обмін досвідом з провідними науково-дослідними установами Європи, США, Японії, проведення двох науково-практичних конференцій за міжнародної участі та численних семінарів.

За первісним задумом інститут мав стати координаційним, методичним та навчальним центром для багатьох закладів України, зацікавлених у проведенні фундаментальних досліджень та клінічних випробувань у галузі регенеративної медицини, генетичної медицини та сумісних дисциплін (Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України, Інститут невідкладної та відновної хірургії ім. В. К. Гусака НАМН України, Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України, Інститут кріобіології та кріомедицини НАН України, Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, багато клінічних закладів). Щоб реалізувати ці плани, потрібно терміново розв'язати зазначені проблеми, інакше відставання України в цій галузі набуває загрозливого характеру, від чого постраждає не лише вітчизняна медична наука, а й усе українське суспільство, адже ціна питання – його здоров'я.