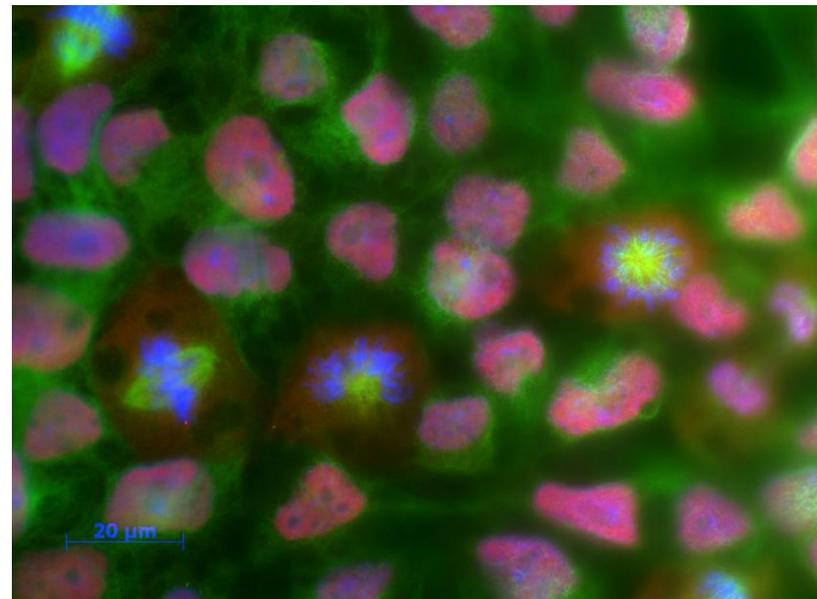
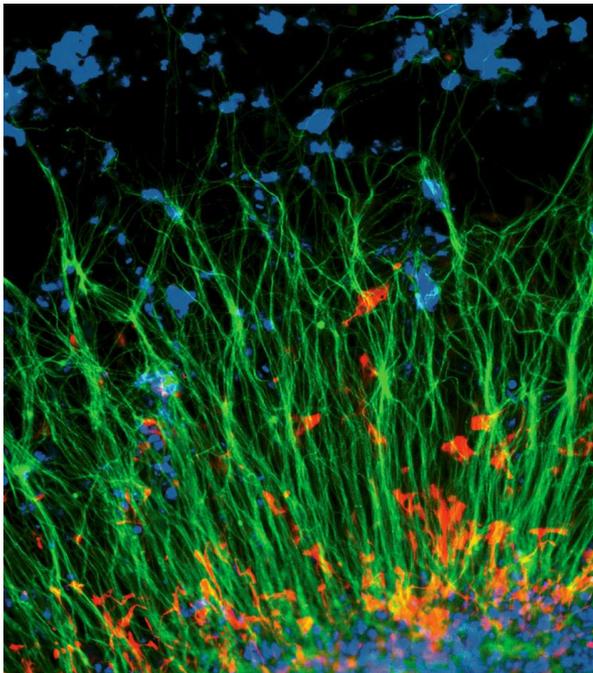


Такие разные стволовые клетки- как обеспечивается обновление органов и тканей?

Лагарькова Мария Андреевна



- Регенерация (восстановление) — способность живых организмов со временем восстанавливать повреждённые ткани, а иногда и целые потерянные органы.





Общее правило:
снижение
способности к
репаративной
регенерации с
повышением
сложности
организма



Чемпион по регенерации среди
позвоночных – саламандра.



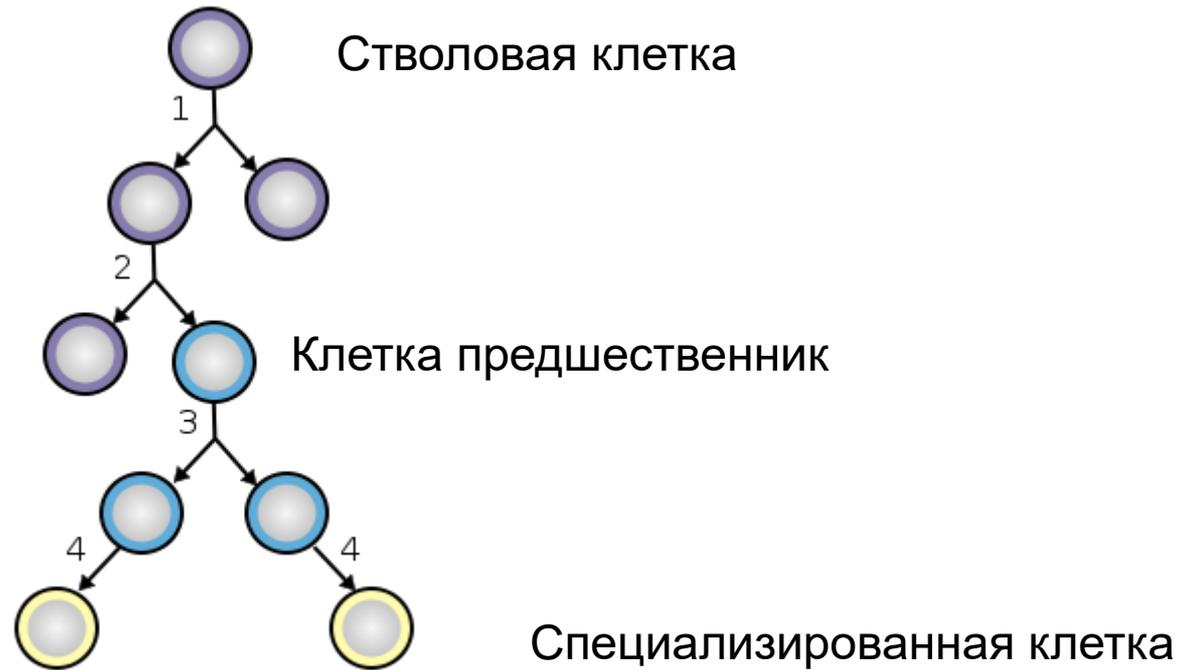
Как на клеточном уровне обеспечивается целостность организма?

- 1. Как правило, клетки имеют более короткий жизненный цикл, чем весь организм
- 2. Только некоторые ткани, видимо, практически не восстанавливаются в течение жизни
- 3. Такие ткани как кожа, кишечник, кроветворная система продуцируют в течение жизни огромное количество клеток, суммарный вес которых во много раз превышает вес организма

То есть, происходит физиологическая регенерация



Возобновление специализированных клеток происходит за счет стволовых

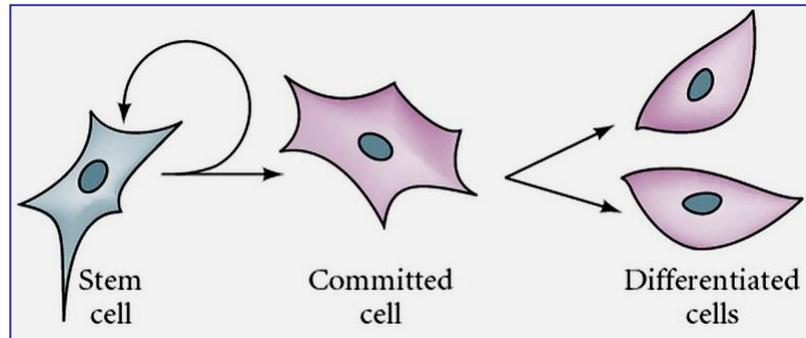


- Клетки, способные к самообновлению
- Клетки, способные давать начало многим другим типам клеток



**Если мы научимся за ними наблюдать, то сможем узнать,
как мы развиваемся и от чего болеем.**

**Если научимся ими манипулировать, то сможем себя
ЧИНИТЬ**



PubMed

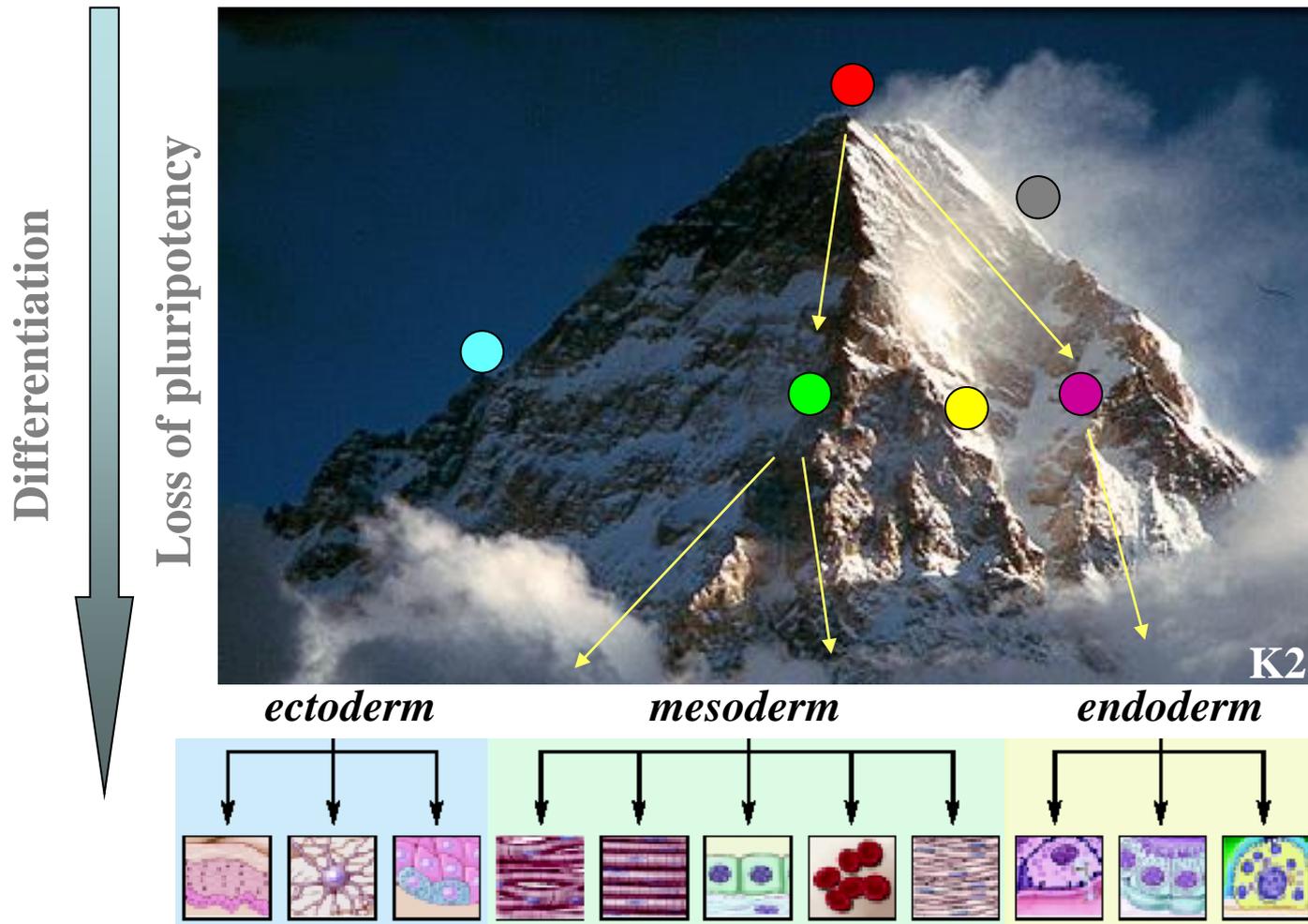
National
Library
of Medicine 

385571

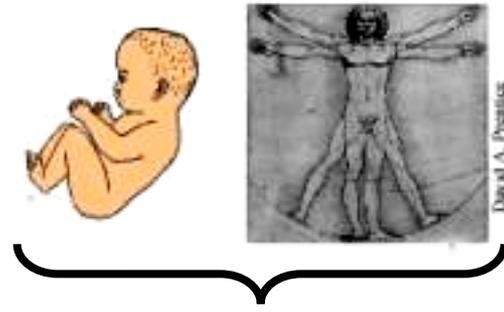
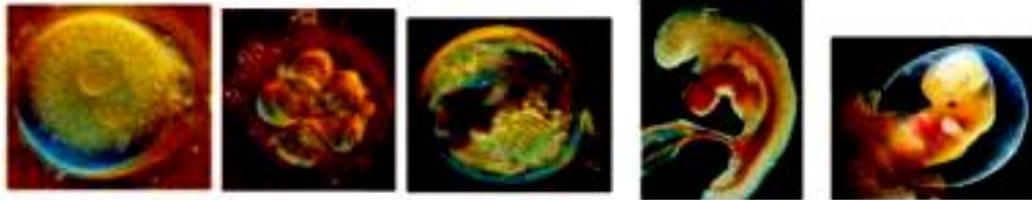


В процессе развития организма реализуется программа **разнообразия типов клеток организма**, в результате выполнения которой клетки постепенно утрачивают **потенциал дифференцировки**.

ДОГМА 1. Процесс развития однонаправлен.



Не бывает просто «стволовых клеток»! они разные по происхождению и потенциалу



↓
Тотипотентные
(полностью, лат) –
оплодотворенная яйцеклетка

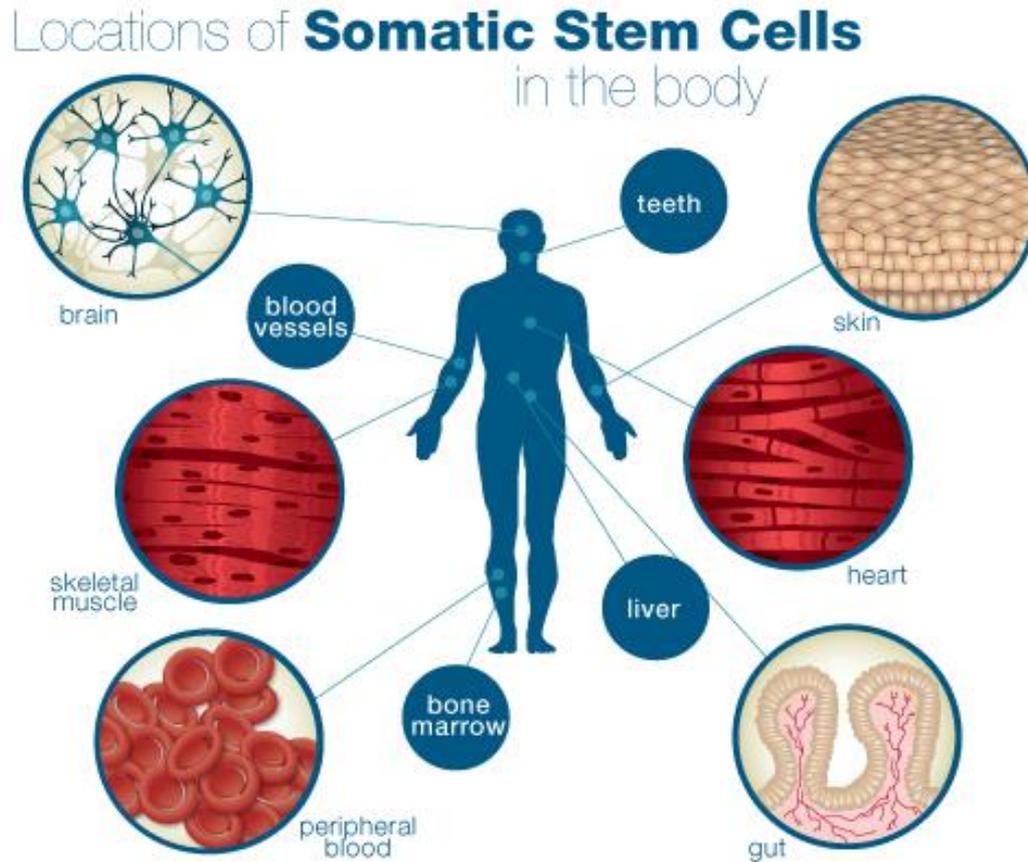
↓
Плюрипотентные
(много, греч.) –
эмбриональные
стволовые клетки

↓
Мультипотентные
(много, лат.)
олигопотентные
дифференцировка в
ткани внутри
зародышевых
листков или внутри
ткани, из которой они
произошли

↓
Предшественники
дифференцировка в
определенные
клетки в пределах
определенной ткани



Стволовые клетки взрослого организма (adult stem cells)



Кроме того, СК обнаружены в молочной железе, подкожном жире, протоках печени, поджелудочной железы...



*Кто первый придумал термин
«стволовая клетка»*

Унитарная гипотеза о
происхождении клеток
крови



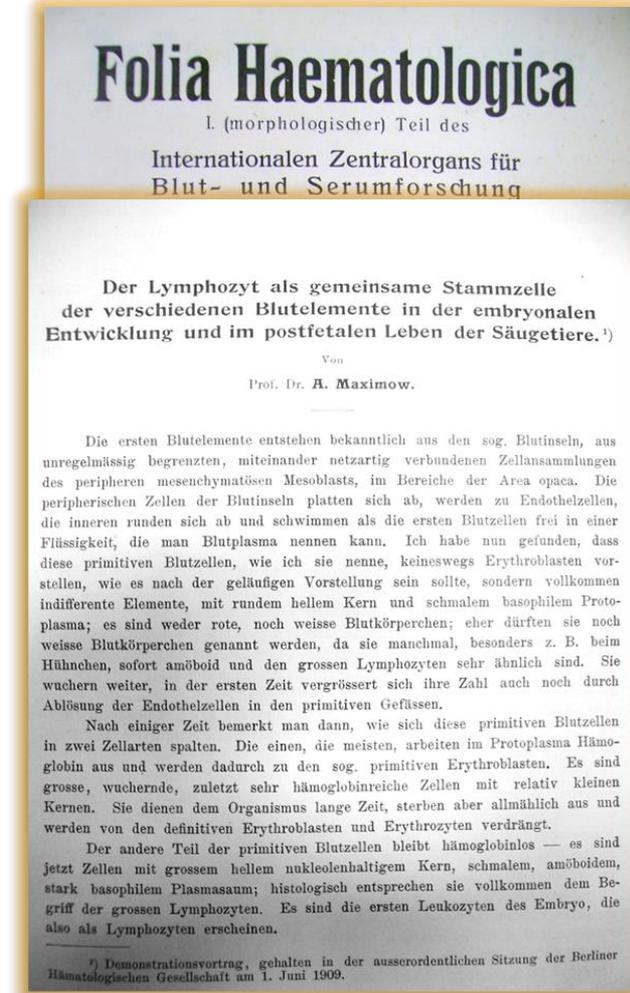
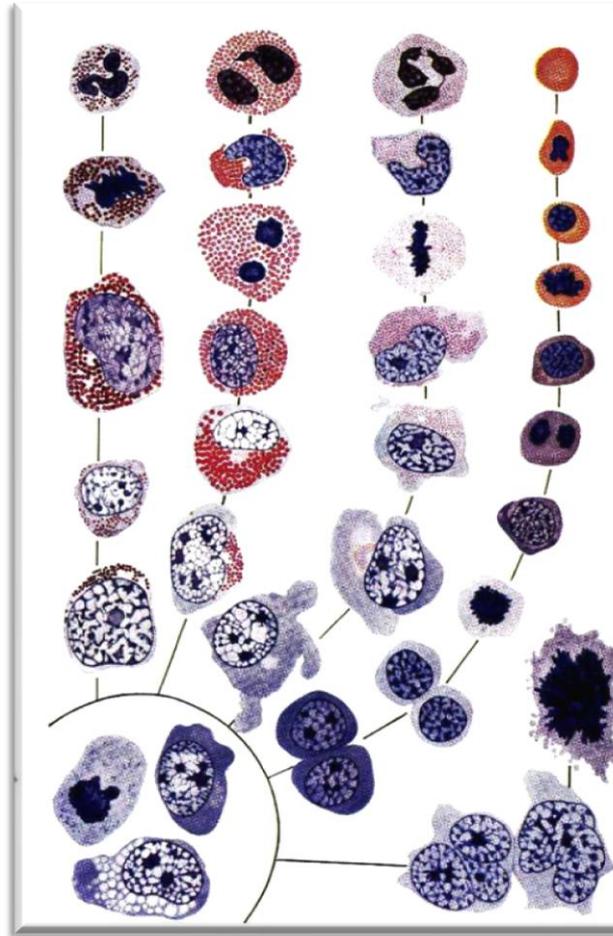
Valentin Hacker (1864 -1927)
1892 термин Stammzelle



**Александр Александрович
Максимов
(1874–1928)**
1908



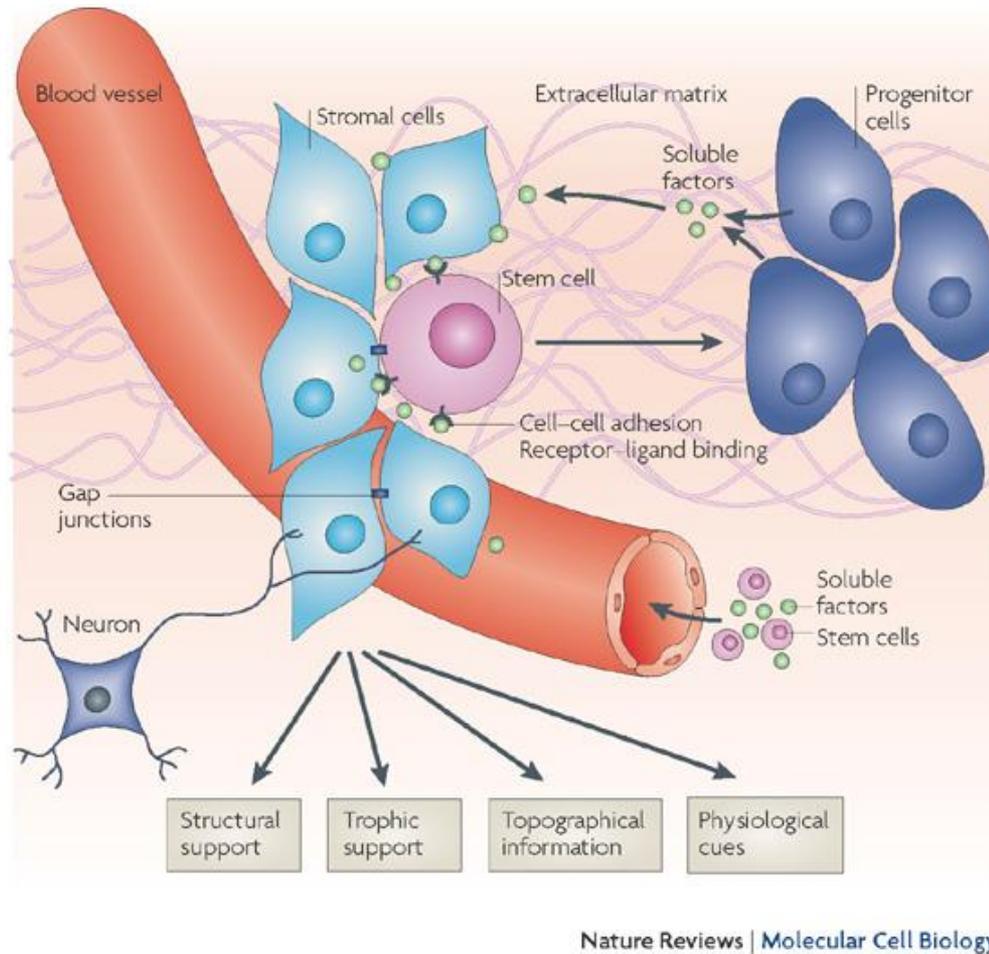
«За какой бы биологический вопрос не взялся бы исследователь... - всюду, в конце концов, ему придется считаться с клетками, составляющими организм»



«Лимфоцит, как общая стволовая клетка разнообразных элементов крови в эмбриональном развитии и постфетальной жизни млекопитающих»



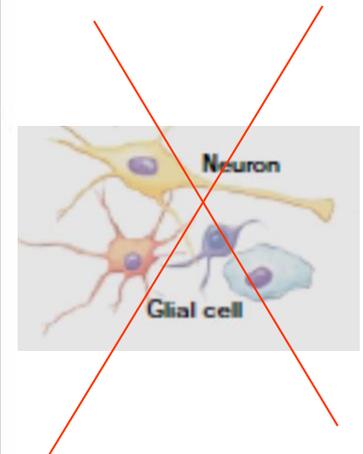
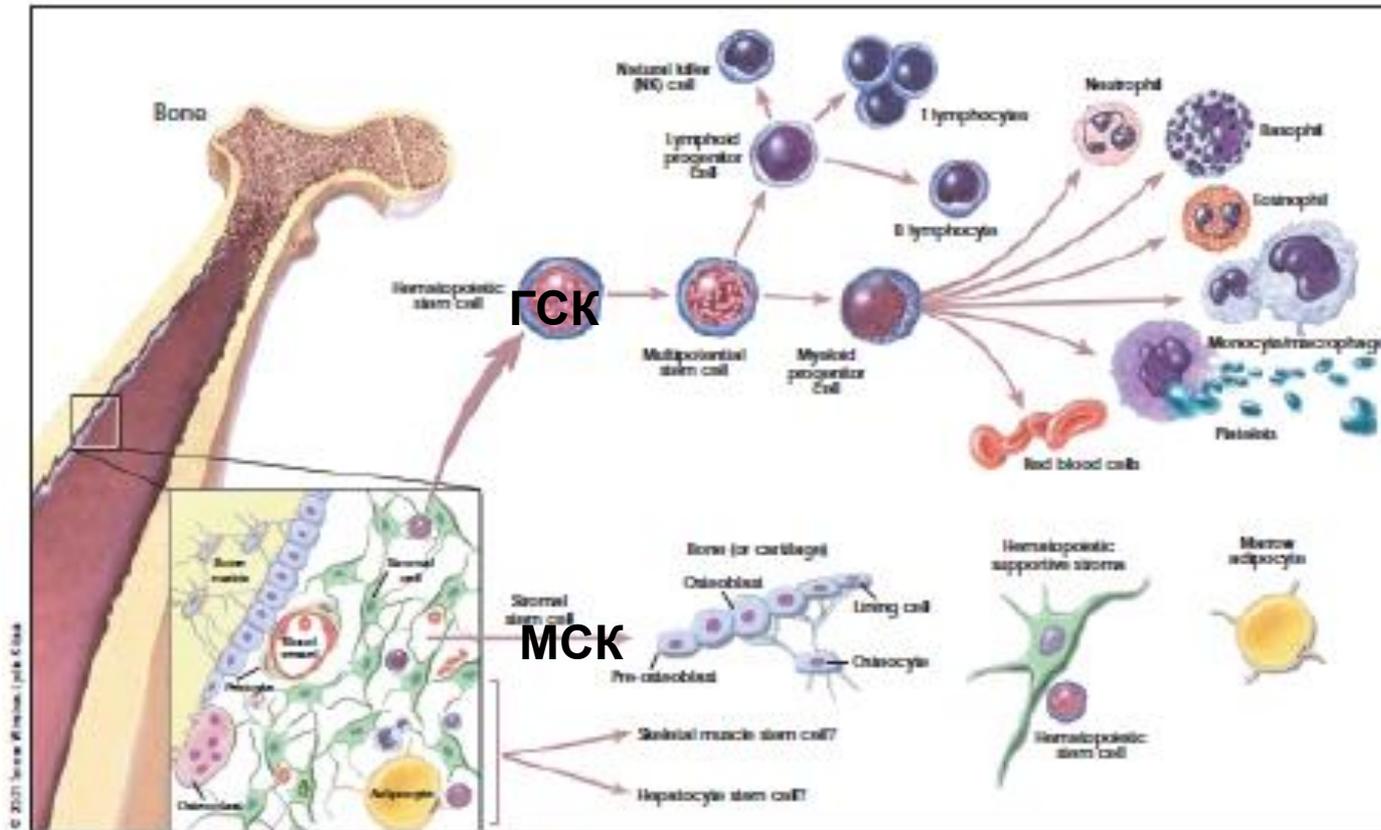
Стволовые клетки живут в нишах



Ниша является сложной и динамичной структурой, которая передает и принимает сигналы через клеточные и бесклеточные компоненты. : гипотетическая ниша содержит стволовые клетки, стромальные (поддерживающие) клетки, растворимые факторы, внеклеточный матрикс, нейроны, сосудистую сеть и компоненты клеточной адгезии.



Стволовые клетки костного мозга



А нейронов не будет
Нейральные стволовые клетки – в своих нишах, в мозге, но не в костном! 🗣️

Из стволовой клетки крови будет кровь, из мезенхимальных стволовых клеток – хондроциты, остеобласты, адипоциты...

Кровь – (из википедии)

Кровь — жидкая и подвижная соединительная ткань внутренней среды организма. Состоит из жидкой среды — плазмы — и взвешенных в ней форменных элементов (клеток и производных от клеток): эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов.

Циркулирует по замкнутой системе сосудов под действием силы ритмически сокращающегося сердца и не сообщается непосредственно с другими тканями тела из-за гистогематических барьеров.

У позвоночных кровь - красная из-за наличия в эритроцитах гемоглобина, переносящего кислород. У человека насыщенная кислородом кровь (артериальная) ярко-красная, лишённая его (венозная) более тёмная. У некоторых моллюсков и членистоногих кровь (точнее, гемолимфа) голубая за счёт гемоцианина.

В среднем у мужчин в норме объём крови составляет 5,2 л, у женщин — 3,9 л, у новорожденных — 200—350 мл. Массовая доля крови в теле взрослого человека составляет 6—8 % .

У человека кровь образуется из кроветворных стволовых клеток, количество которых составляет около 30 000, в основном, в костном мозге.



Продолжительность жизни клеток крови

- **Эритроциты 90-120 дней**
- **Тромбоциты 10-14 дней**
- **Гранулоциты 8-10 часов**
- **Лимфоциты от 2 дней до многих лет**



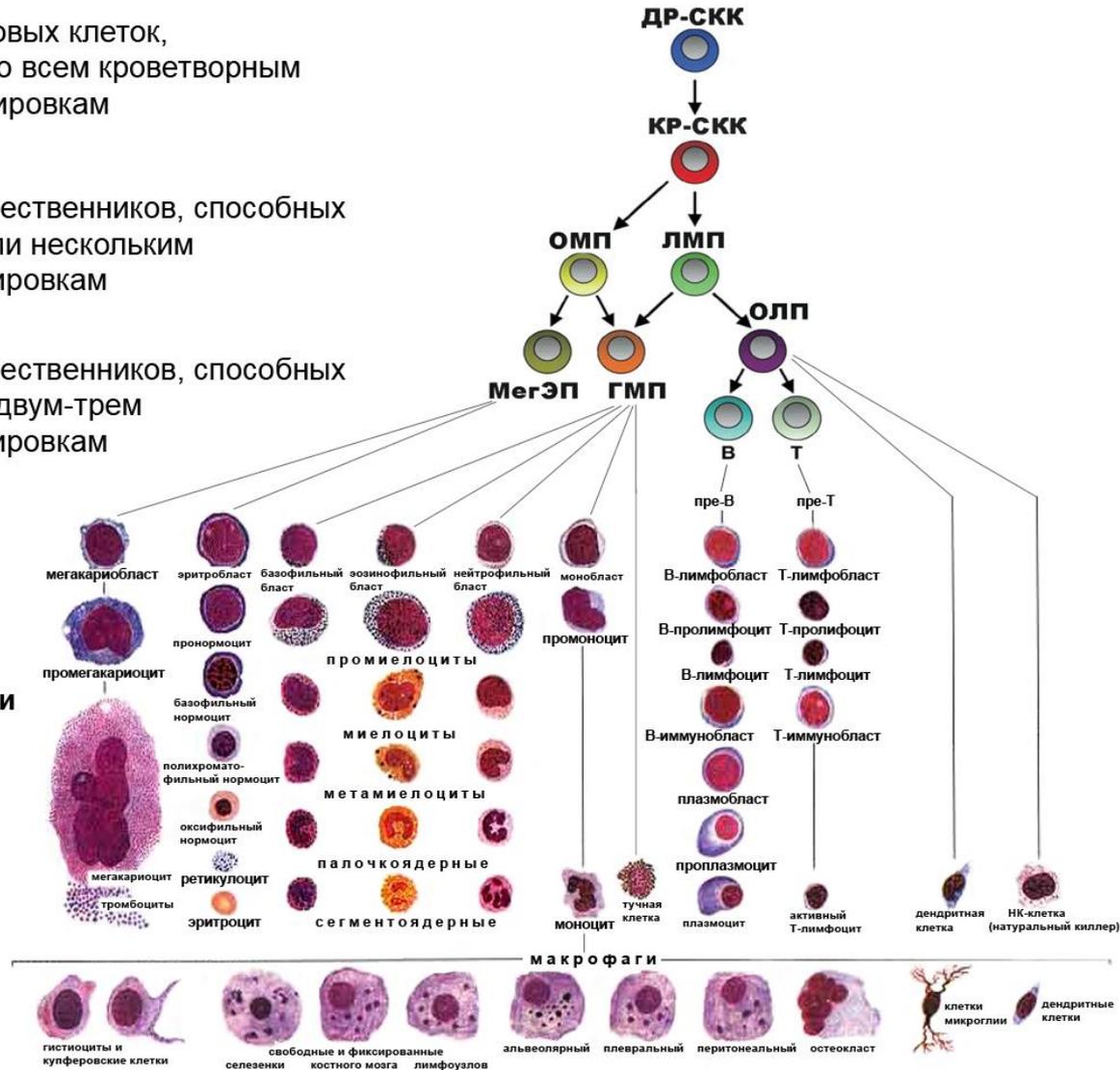
Схема кроветворения

отдел стволовых клеток, способных ко всем кроветворным дифференцировкам

отдел предшественников, способных ко многим или нескольким дифференцировкам

отдел предшественников, способных к одной или двум-трем дифференцировкам

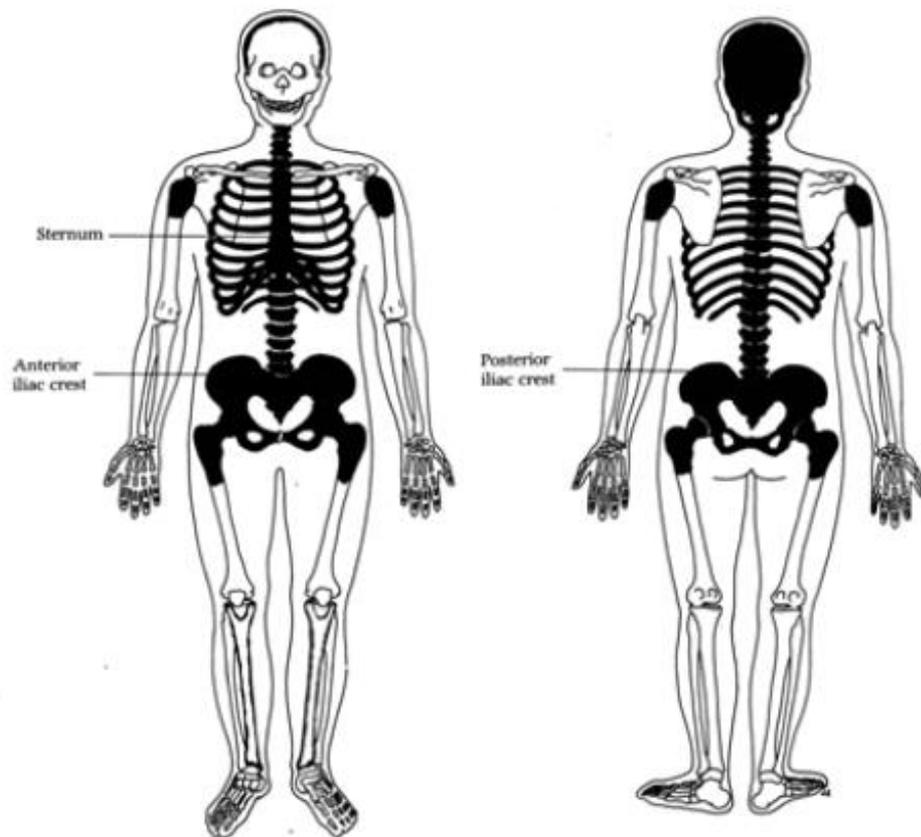
отдел морфологически узнаваемых клеток



СКК - стволовые кроветворные клетки, **ДР** - длительно репопулирующие, **КР** - коротко репопулирующие
ОМП - общий миелоидный предшественник, **ЛМП** - лимфомиелоидный предшественник,
ОЛП - общий лимфоидный предшественник, **МегЭП** - мегакариоцитарно-эритроидный предшественник,
ГМП - гранулоцитарно-макрофагальный предшественник.



Места кроветворения у взрослых



Ткани, участвующие в кроветворении

- В костном мозге – продуцируется большинство клеток крови
- В лимфатических узлах, тимусе и селезенке – продуцируется большинство лимфоцитов
- Печень, селезенка и костный мозг – хранилище железа
- Почки – продуцируют эритропоэтин
- Клетки сосудов, клетки воспаления – продуцируют множество стимуляторов кроветворения
- Кишечник – источник питания



Функции крови

Дыхательная функция — кровь переносит дыхательные газы — кислород (O_2) и углекислый газ (CO_2) — как в физически растворенном, так и химически связанном виде. Кислород доставляется от легких к потребляющим его клеткам органов и тканей, а углекислый газ — наоборот, от клеток к легким.

Этим занимаются **Эритроциты**



Функции крови

Кровь состоит из плазмы и клеточных элементов

Функции плазмы

Транспортная функция — заключается в транспорте кровью различных веществ (энергии и информации, в них заключенных) и тепла в пределах организма.

Питательная функция — кровь переносит также питательные вещества от органов, где они всасываются или депонируются, к месту их потребления.

Выделительная (экскреторная) функция — при биологическом окислении питательных веществ, в клетках образуются, кроме CO_2 , другие конечные продукты обмена (мочевина, мочевая кислота), которые транспортируются кровью к выделительным органам: почкам, легким, потовым железам, кишечнику. Кровью осуществляются также транспорт гормонов, других сигнальных молекул и биологически активных веществ.

Терморегулирующая функция — благодаря своей высокой теплоемкости кровь обеспечивает перенос тепла и его перераспределение в организме. Кровью переносится около 70% тепла, образующегося во внутренних органах в кожу и легкие, что обеспечивает рассеяние ими тепла в окружающую среду.

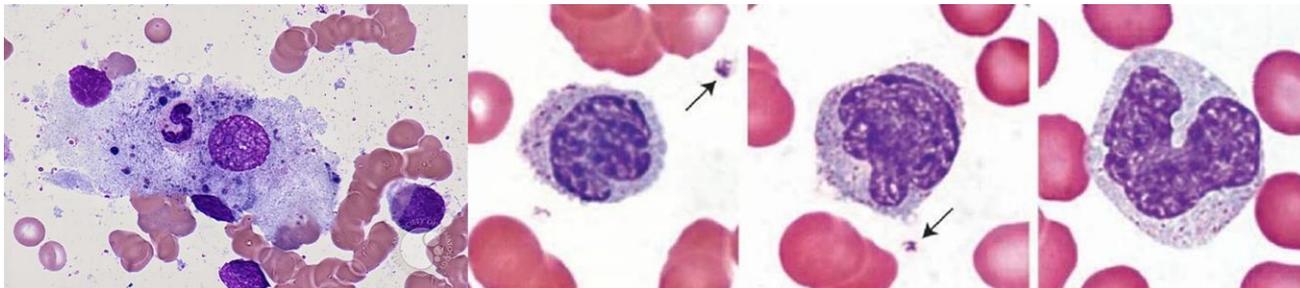
Гомеостатическая функция — кровь участвует в водно-солевом обмене в организме и обеспечивает поддержание постоянства его внутренней среды — гомеостаза.



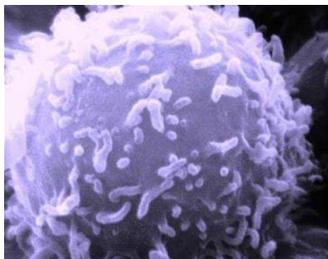
- **Защитная** функция заключается прежде всего в обеспечении иммунных реакций, а также создании кровяных и тканевых барьеров против чужеродных веществ, микроорганизмов, дефектных клеток собственного организма.
- Этим занимаются 1. клетки врожденного иммунитета- **нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, моноциты (макрофаги)**



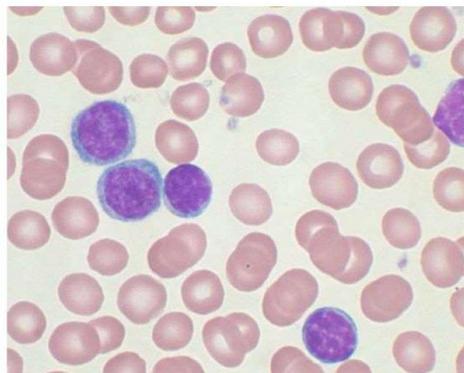
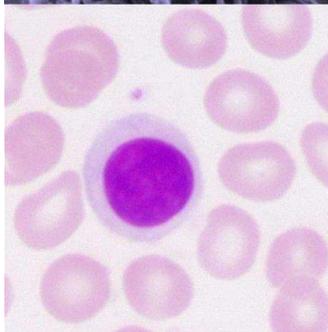
Макрофаг и моноциты



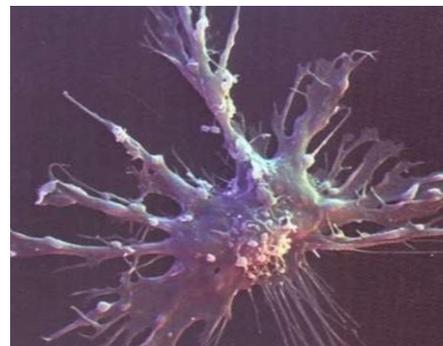
- 2. клетки адаптивного иммунитета – **Т и В лимфоциты, дендритные клетки.**



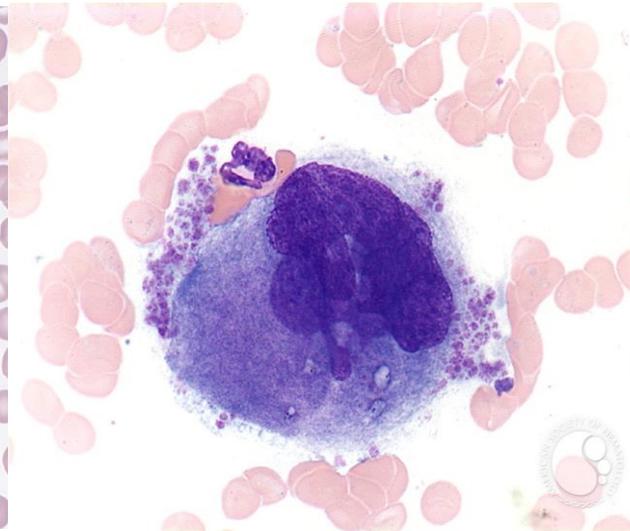
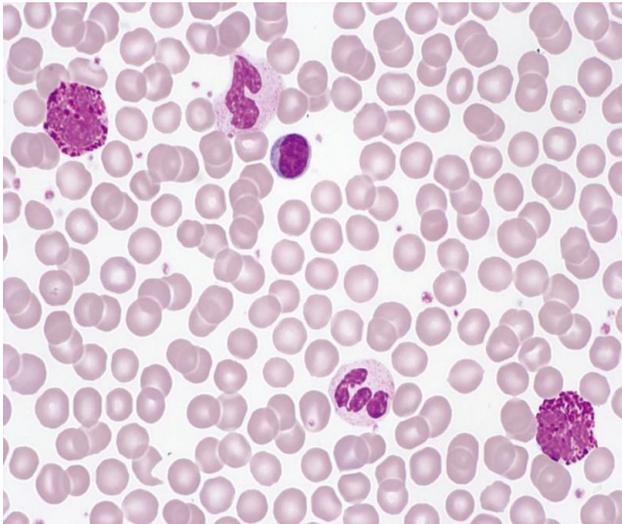
Лимфоцит



Дендритная клетка



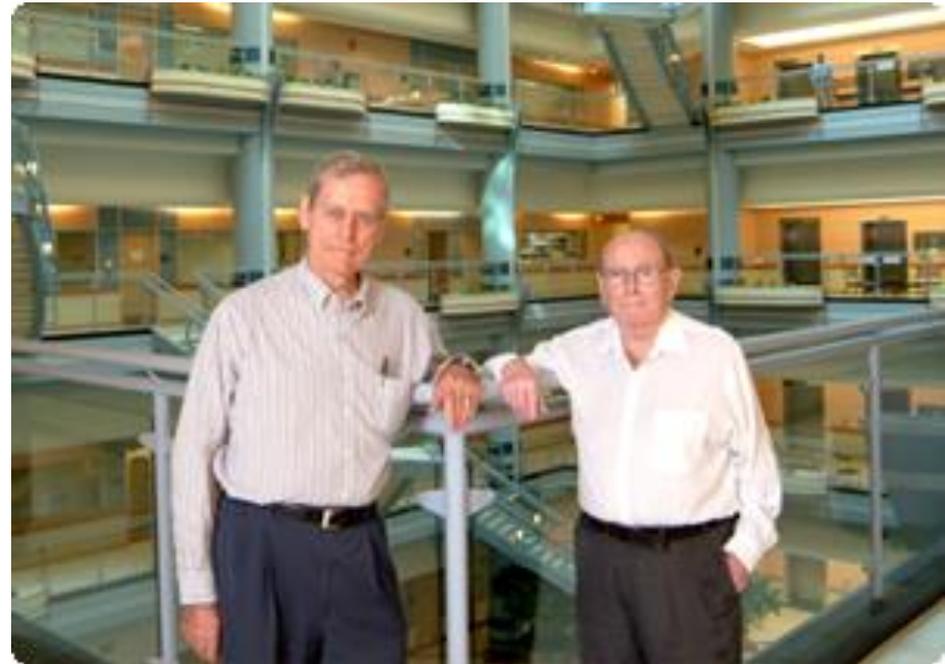
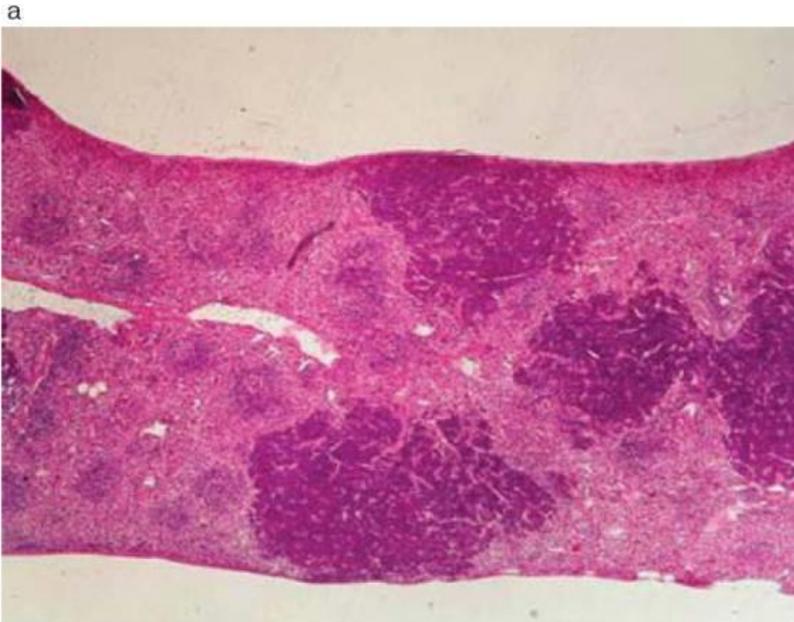
- Вторым проявлением защитной функции крови является ее участие в поддержании своего жидкого агрегатного состояния (текучести), а также остановке кровотечения при повреждении стенок сосудов и восстановлении их проходимости после репарации дефектов.
- Этим занимаются **тромбоциты**.



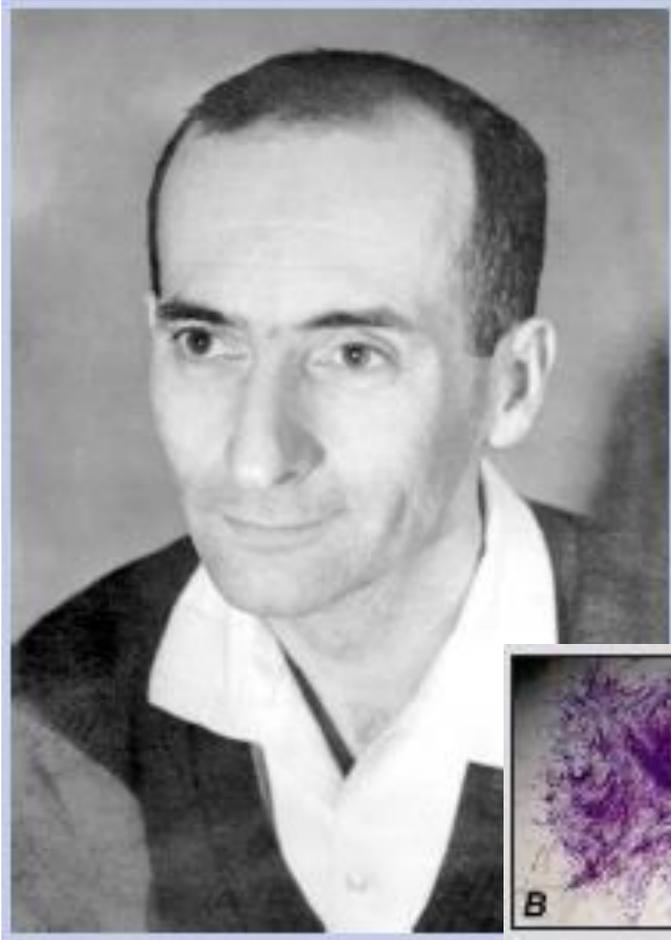
Первые экспериментальные доказательства существования стволовых клеток

A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. Till, J. E., & McCulloch, E. A. *Radiation Res.* 14, 213-222 (1961)

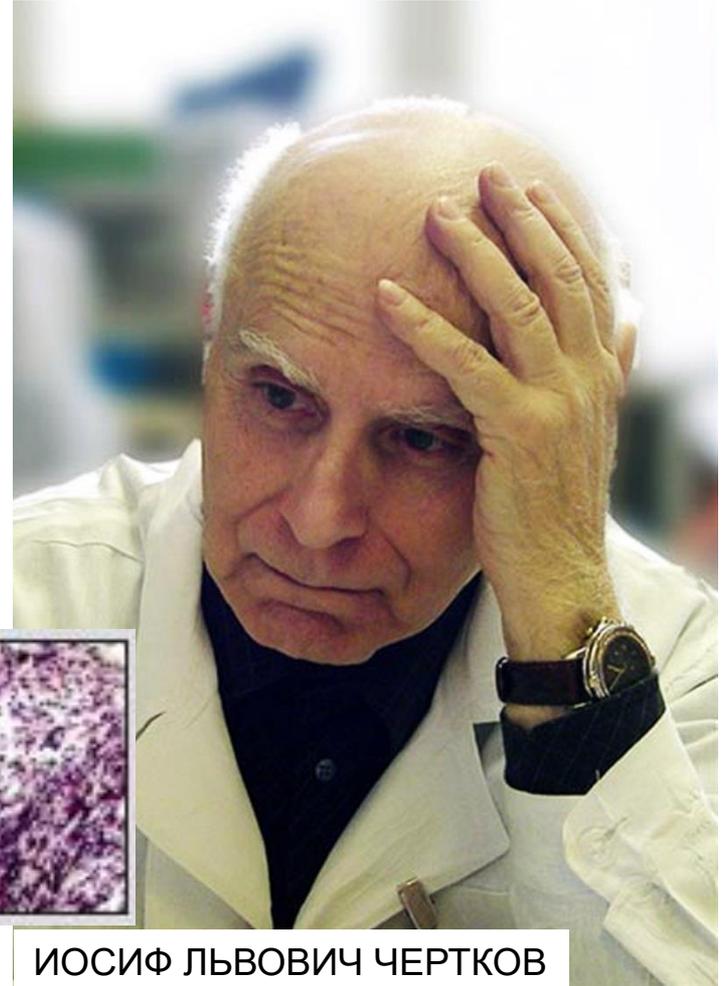
Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. Becker, A. J., McCulloch, E. A. & Till, J. E. *Nature* 197, 452-454 (1963)



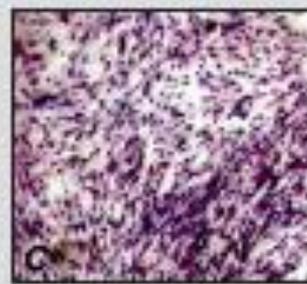
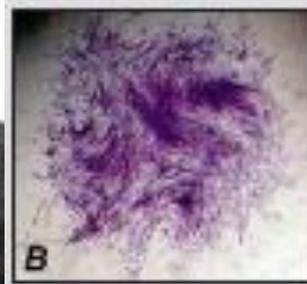
Стволовые стромальные клетки = мезенхимальные стволовые клетки.



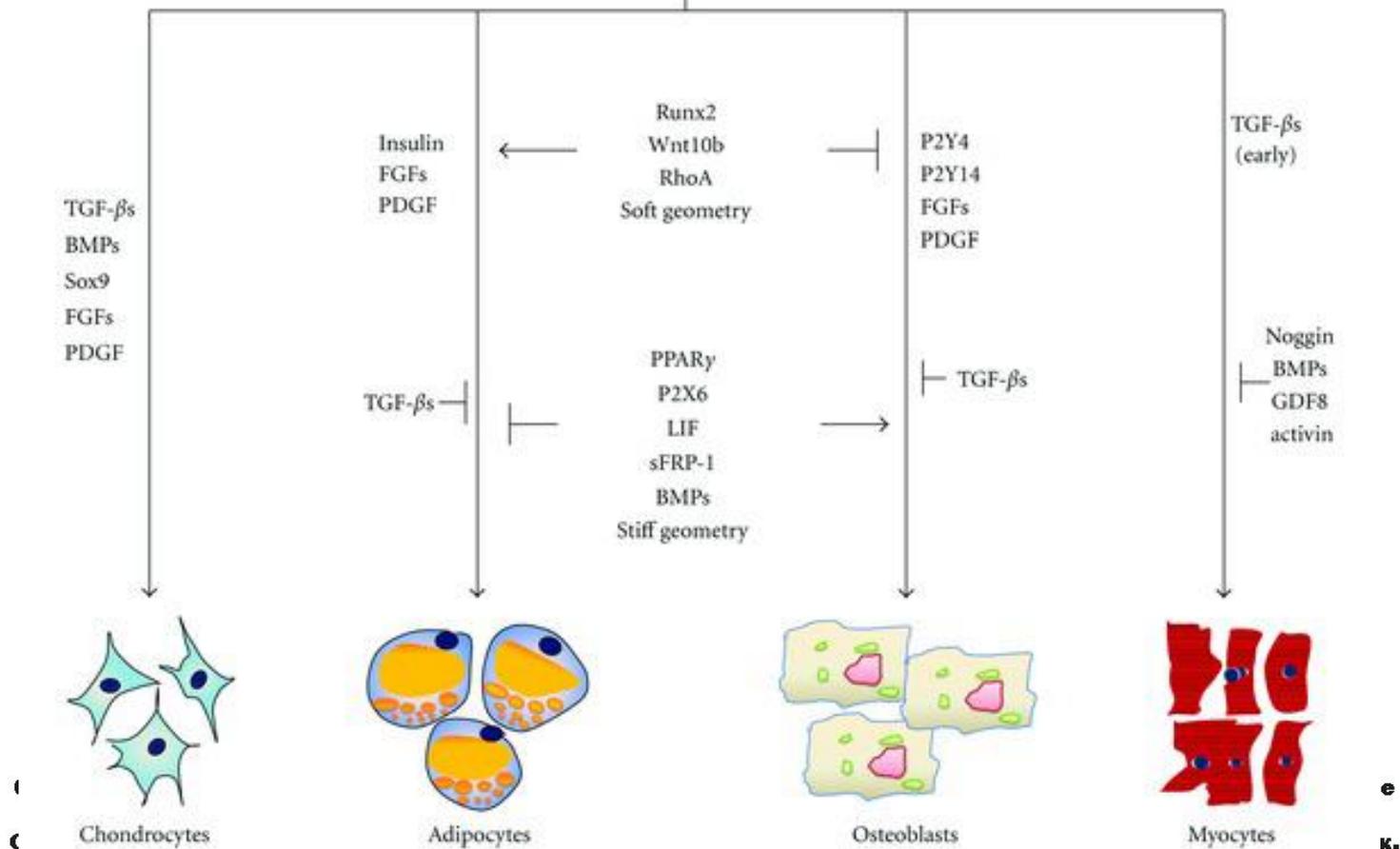
АЛЕКСАНДР ЯКОВЛЕВИЧ ФРИДЕНШТЕЙН



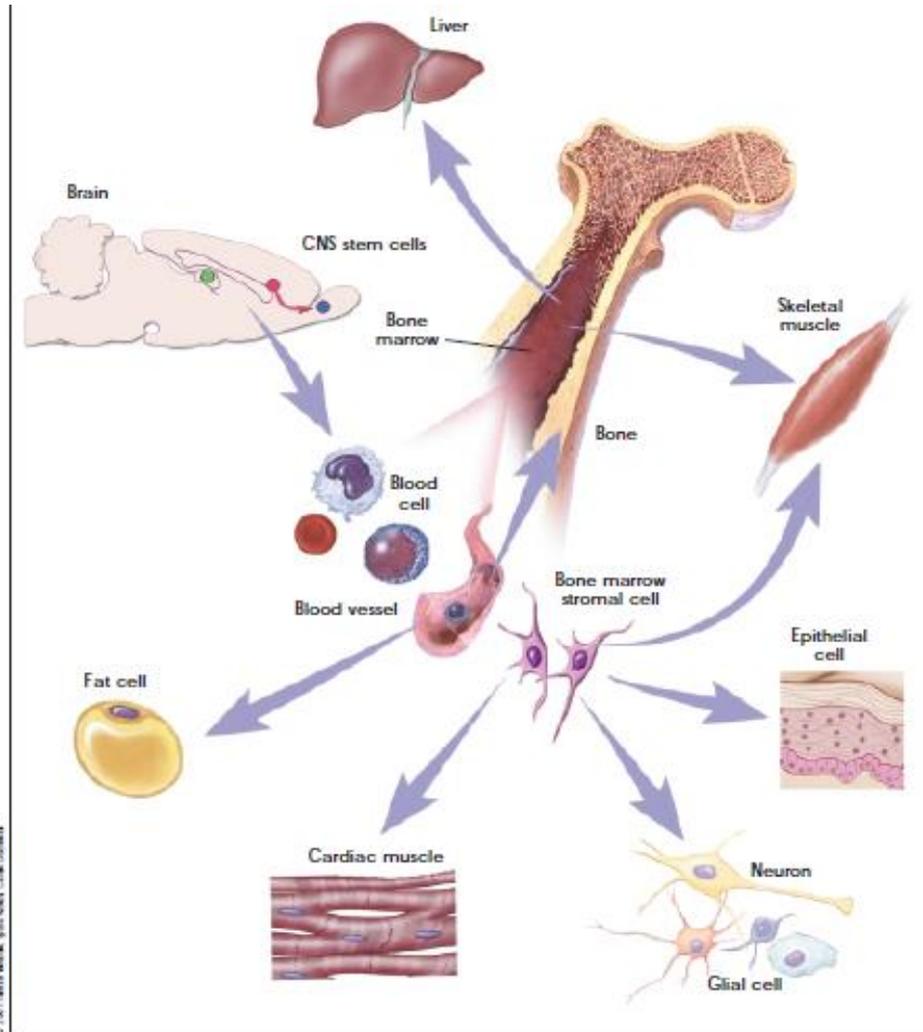
ИОСИФ ЛЬВОВИЧ ЧЕРТКОВ



Mesenchymal stem cell



Модная тема 2001-2005 – пластичность взрослых стволовых клеток – «все дифференцируется во все»



K.Verfaillie et al., 2002
MAPC– mesenchymal adult
pluripotent cells

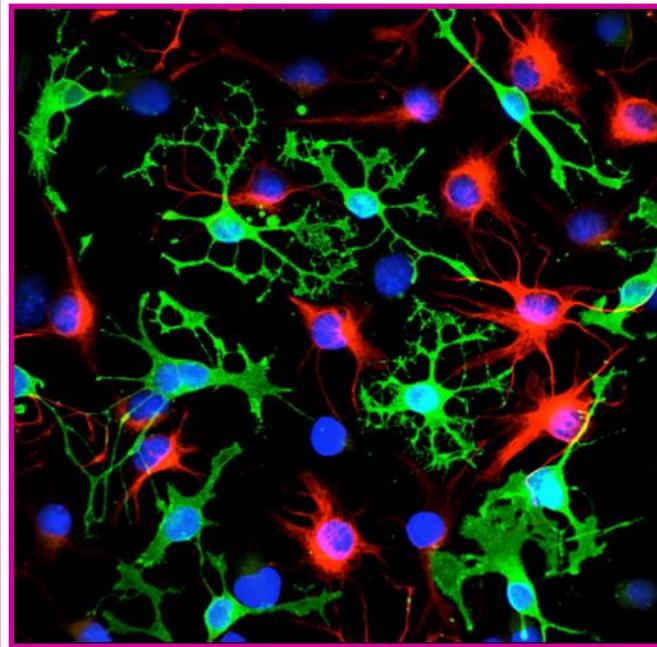
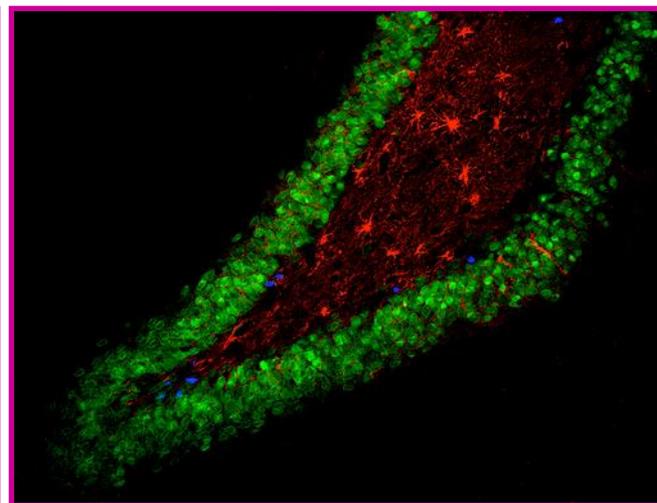
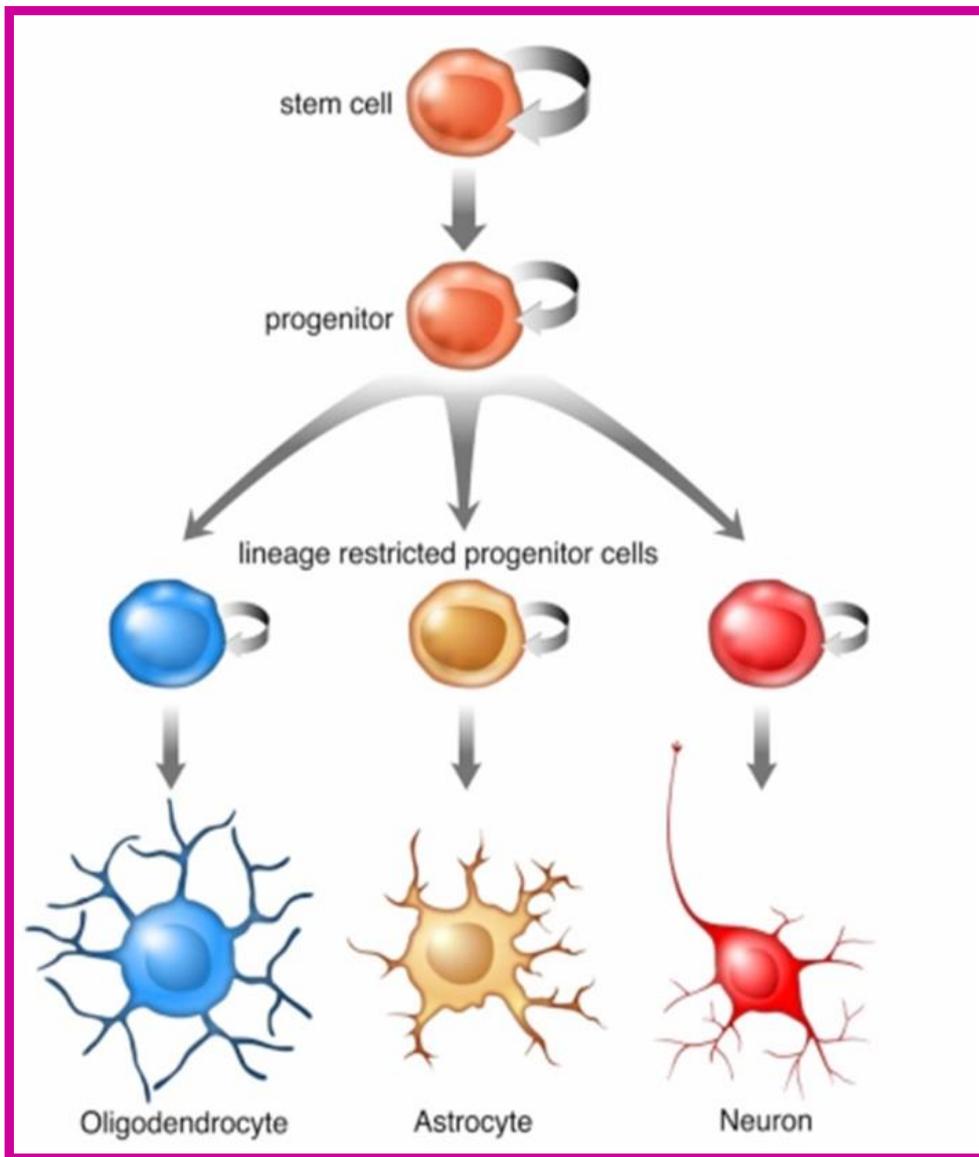
Все искали, кто-то даже
находил – MIAMI cells, etc

Ни в одной из ведущих
лабораторий мира повторить
эти работы не удалось.

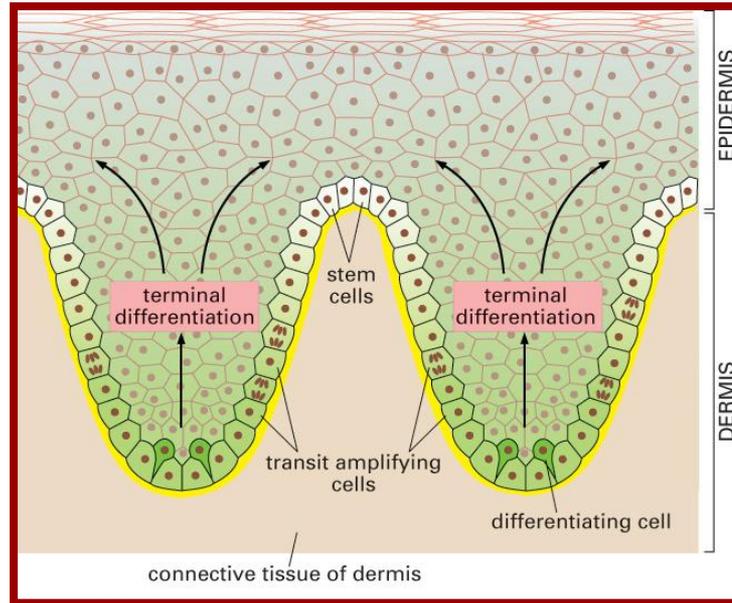
Сложные артефакты привели к
неверным выводам



Стволовые клетки взрослого мозга. Они есть!



СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КОЖИ



СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ВОЛОСА

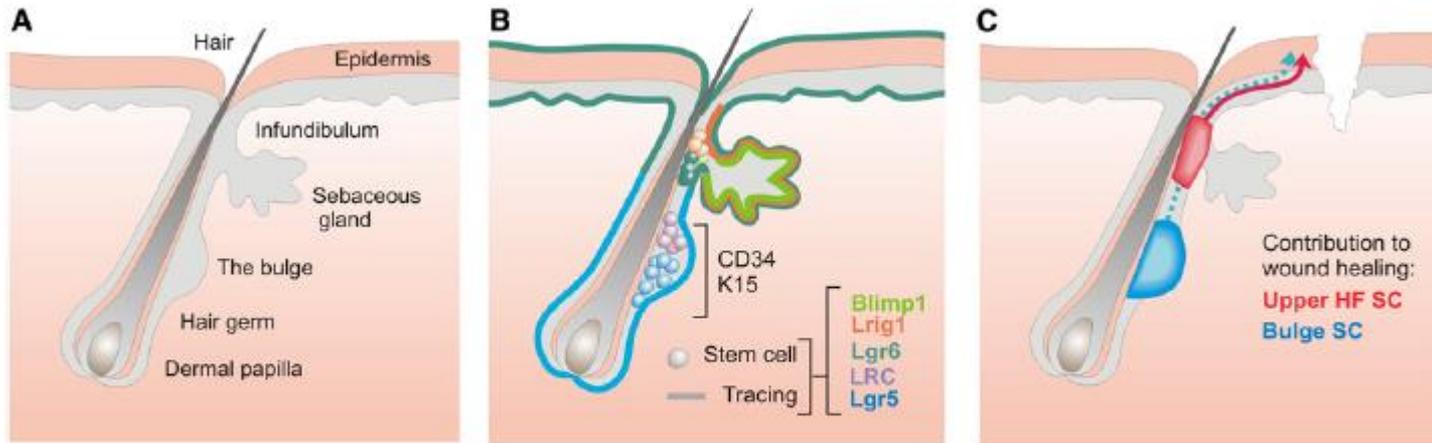
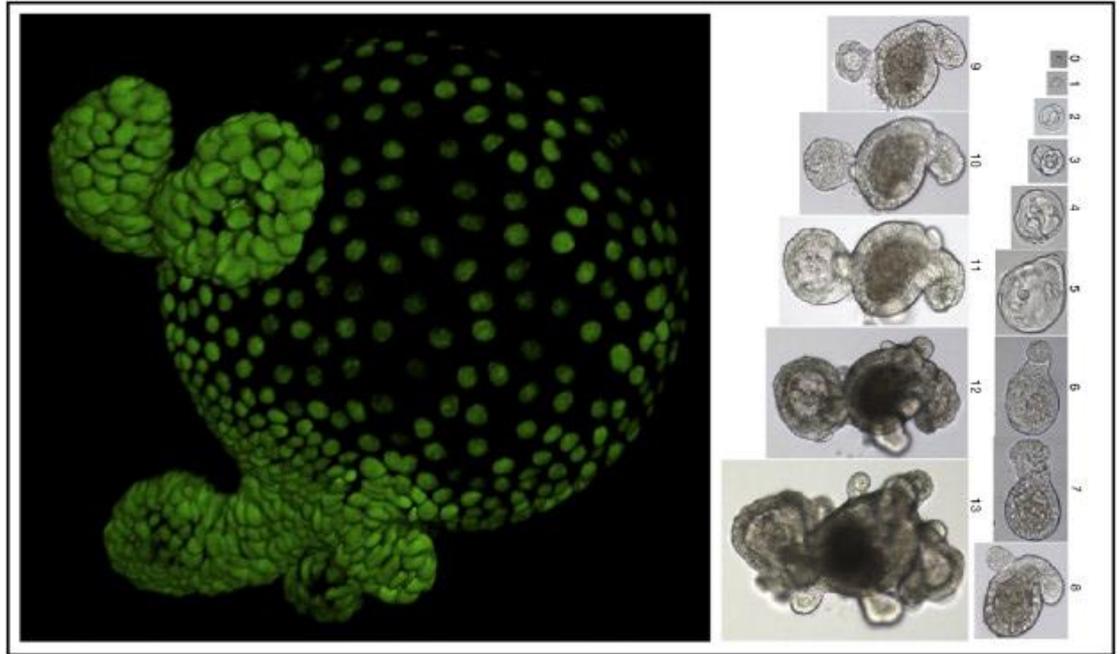
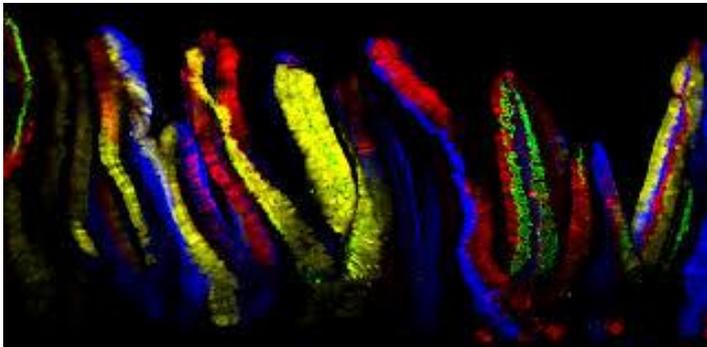
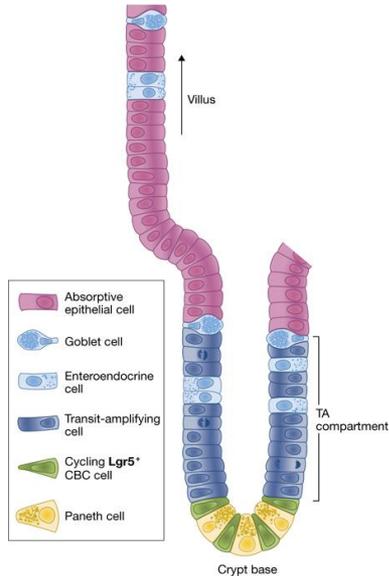


Figure 3. Adult Stem Cell-Driven Epithelial Renewal in the Skin under Physiological Conditions and Following Injury



Стволовые клетки кишечника, желудка

ИЗ ОДНОЙ СТВОЛОВОЙ КЛЕТКИ КРИПТЫ МОЖНО ВЫРАСТИТЬ МИНИ-КИШКУ (ОРГАНОИД) IN VITRO



Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (LGR5)-
маркер стволовых клеток кишечника



Плюрипотентные стволовые клетки

Плюрипотентные – *(много, греч.)*

способны к дифференцировке в ткани эмбриона и постэмбриональные ткани всех трех зародышевых листков

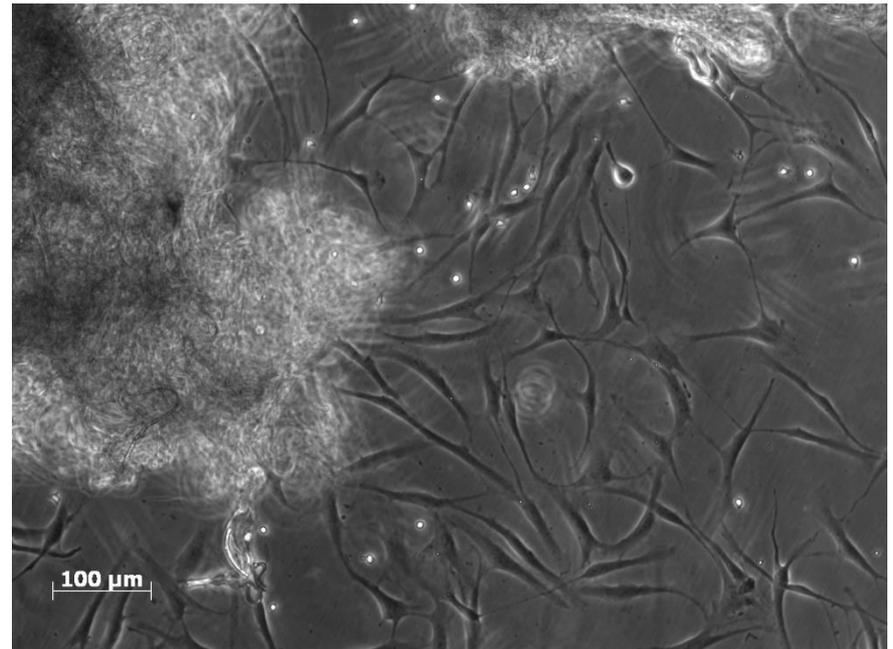
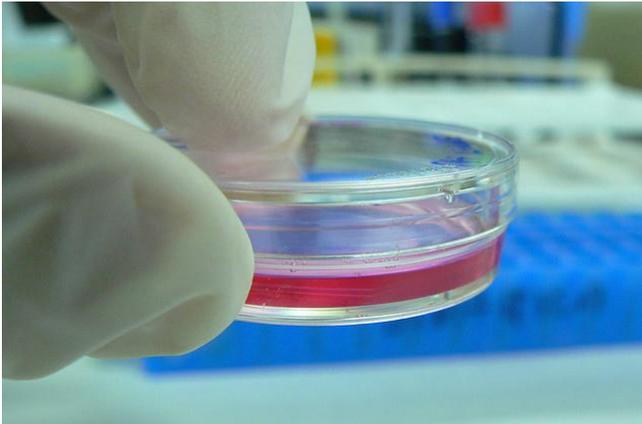
Стволовые – способны к

самовозобновлению без потери способности к дифференцировке

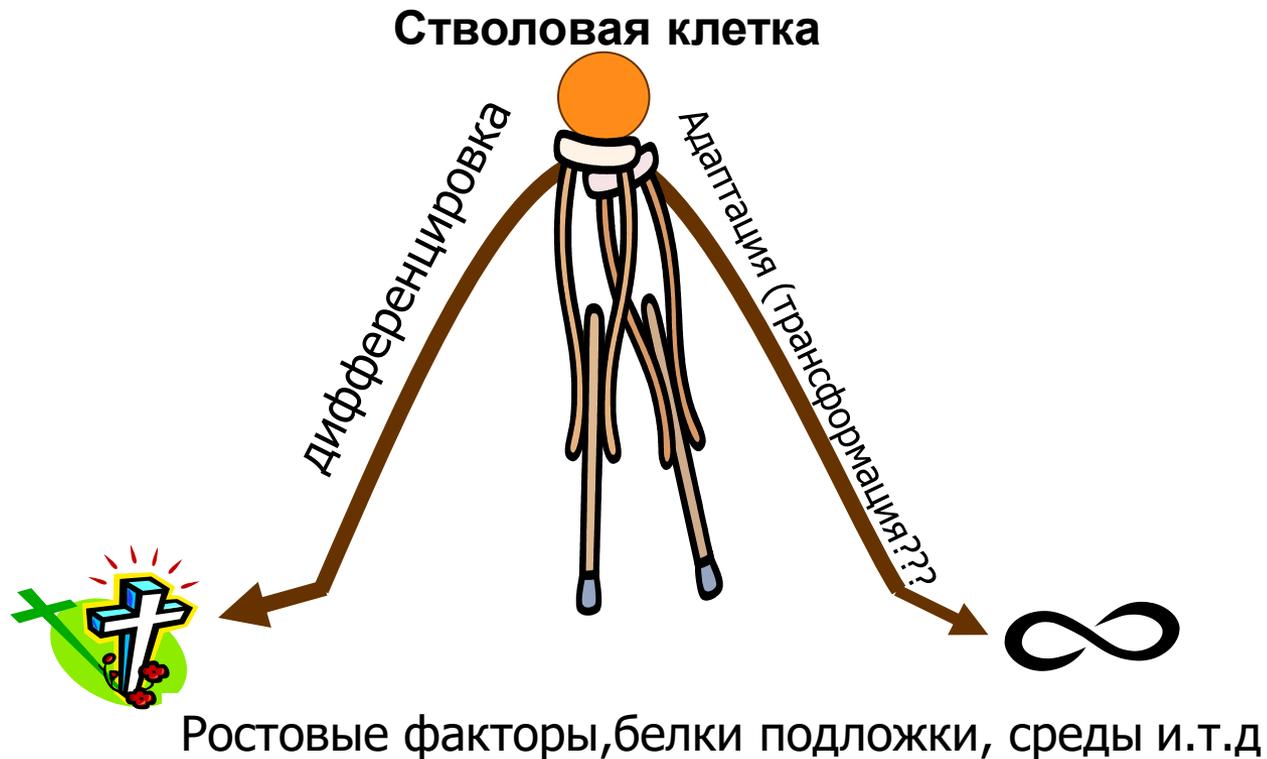


КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК

- Общий термин, означающий выделение клеток, тканей или органов от животного или растения и их последующее помещение в искусственной среде, благоприятную для роста.
- Может использоваться для подготовки временных или длительных клеточных культур
- Культура клеток биохимически и физиологически похожа на материнскую ткань



Умеем ли мы моделировать нишу?



ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

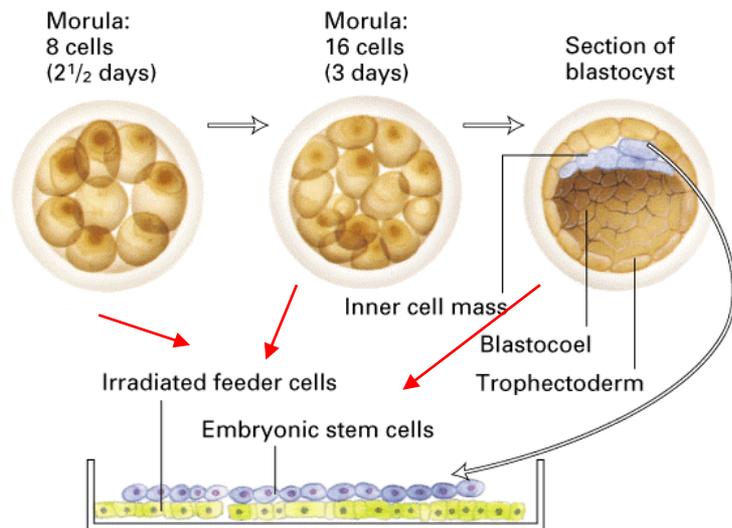
Эмбриональные
стволовые клетки (ЭСК)
1981 мышь
1998 человек

ЭСК, полученные
при переносе соматического
ядра в ооцит

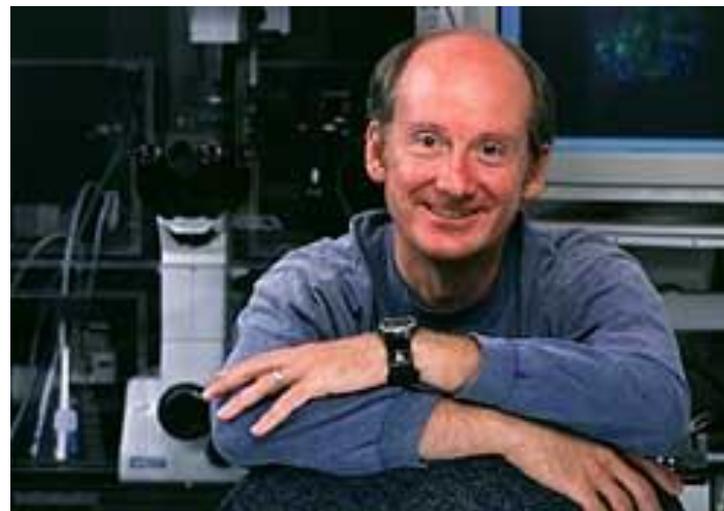
Межклеточные гибриды
эмбриональных
стволовых и соматических клеток

Индукцированные
плюрипотентные
стволовые клетки
2006

Получение эмбриональных стволовых клеток



В 1999 году Science назвал получение
линий ЭСК величайшим достижением
биологии XX века

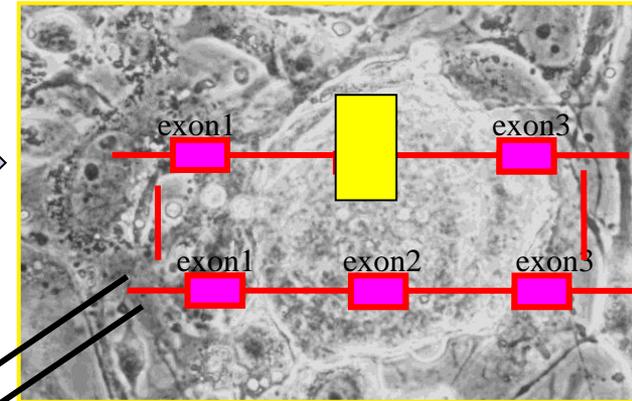
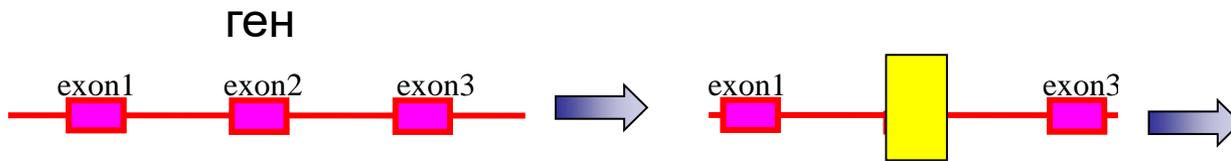


**James Thomson 1998 University of
Wisconsin-Madison**

- ЭСК произошли из внутренней клеточной массы бластоцисты
- способны к неограниченному числу делений без дифференцировки,
- имеют полный (диплоидный) набор хромосом и сохраняют кариотип.
- плюрипотентны – способны дифференцироваться во все типы клеток организма.



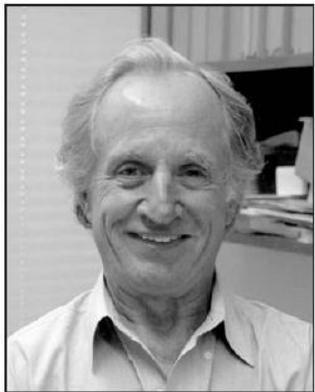
Генетический нокаут (knock-out)



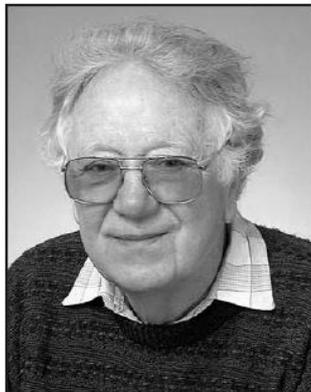
Гомологичная рекомбинация в ЭСК



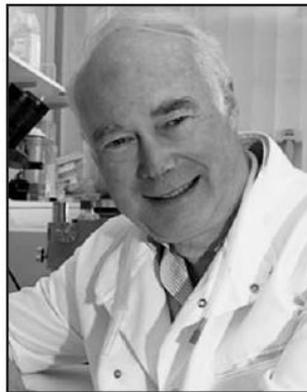
Нобелевская премия по медицине 2007



М.Капеччи



О.Смитис

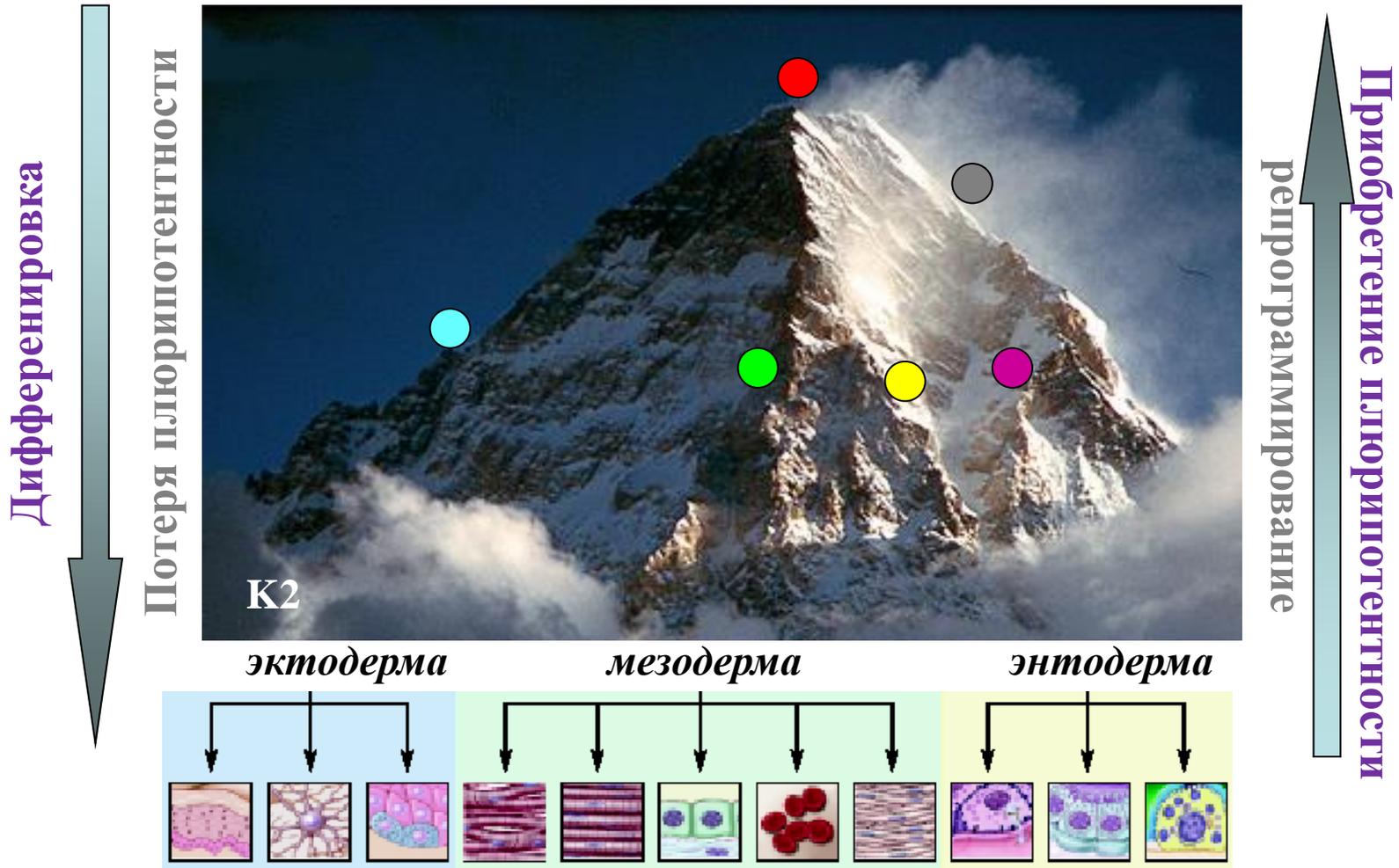


М.Эванс

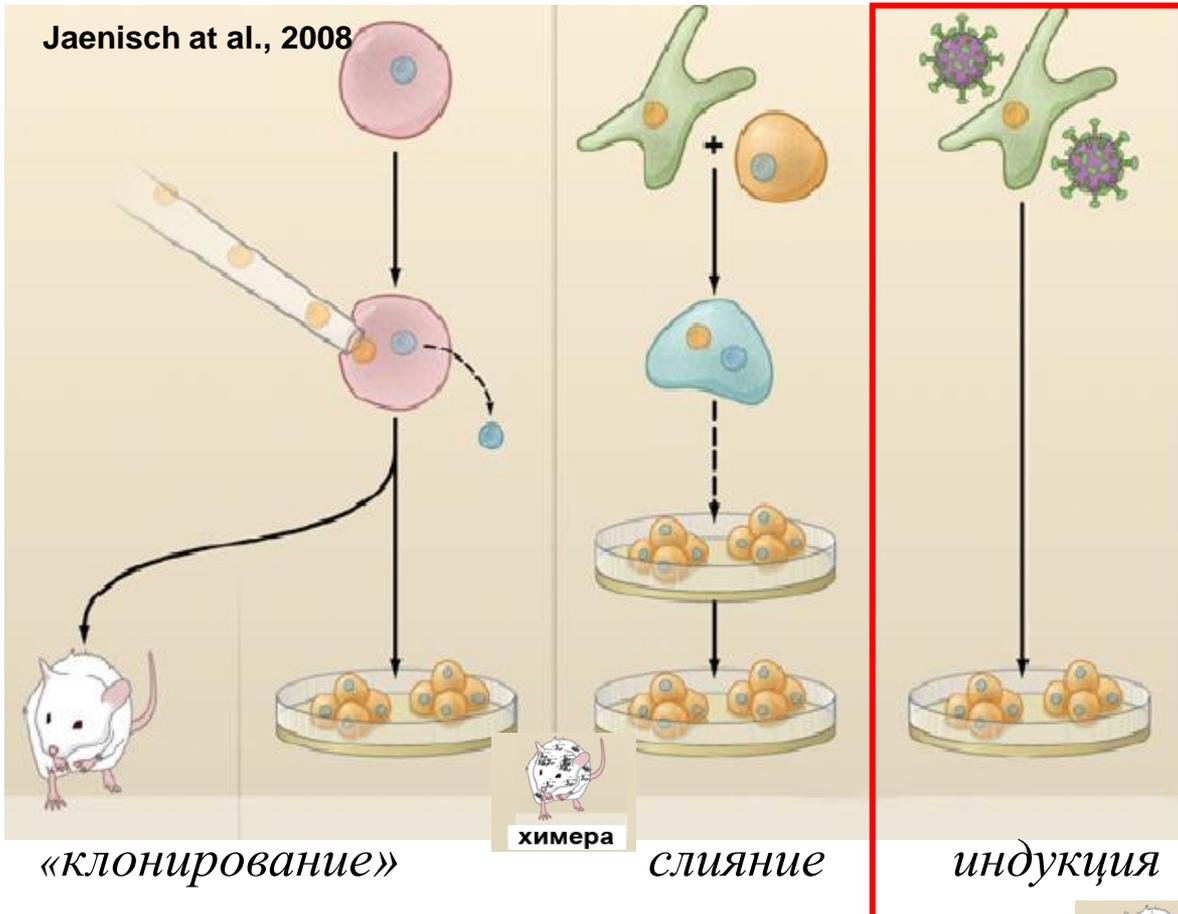


Процесс развития однонаправлен...

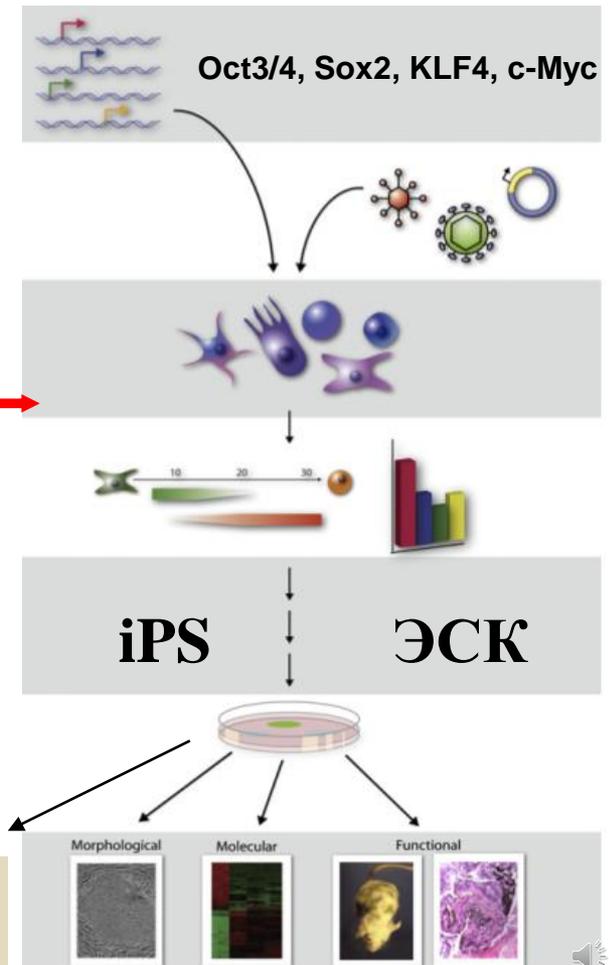
А не ошиблись ли мы с этой первой догмой? Можно ли вернуть дифференцированную клетку в эмбриональное (плюрипотентное) состояние?



Технологии «репрограммирования»



Индукция плюрипотентности

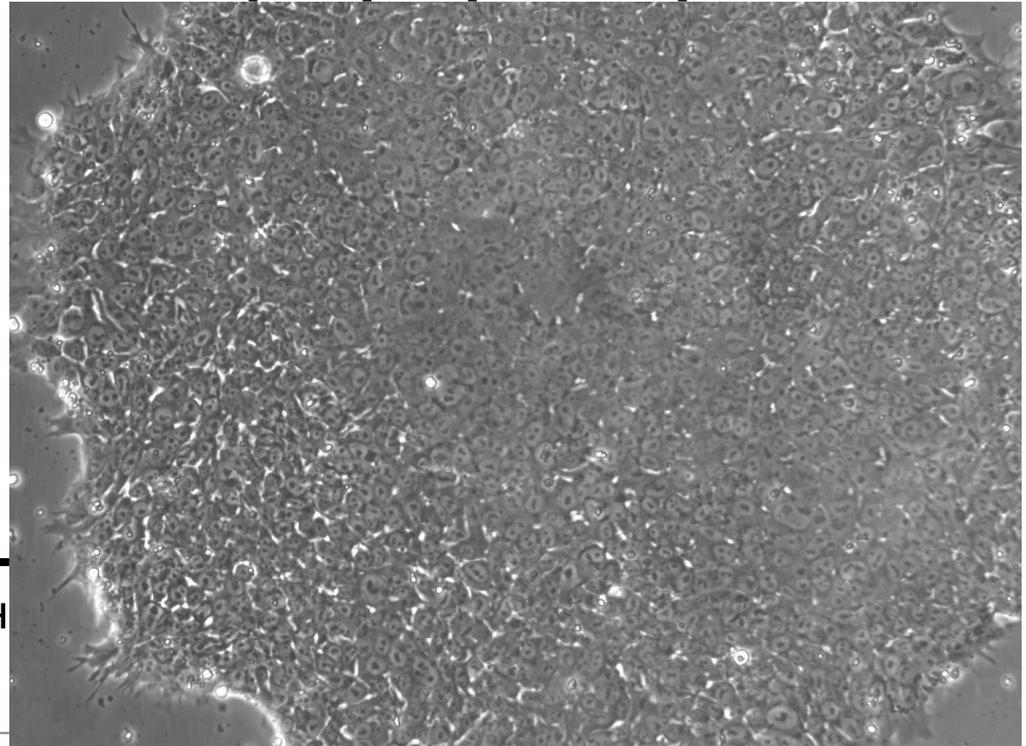




Генетическое репрограммирование

Oct3/4

Sox2
Nanog
Klf4
Myc
Lin28

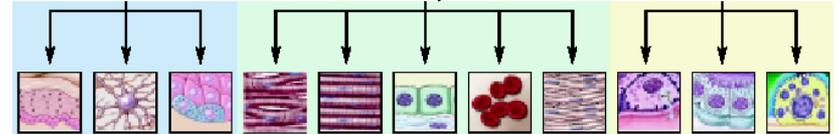


Соматическая
клетка

Доставка тран-
сфакторов

Клетки кожи
Клетки крови
Сосудов
Нейроны
Клетки печени

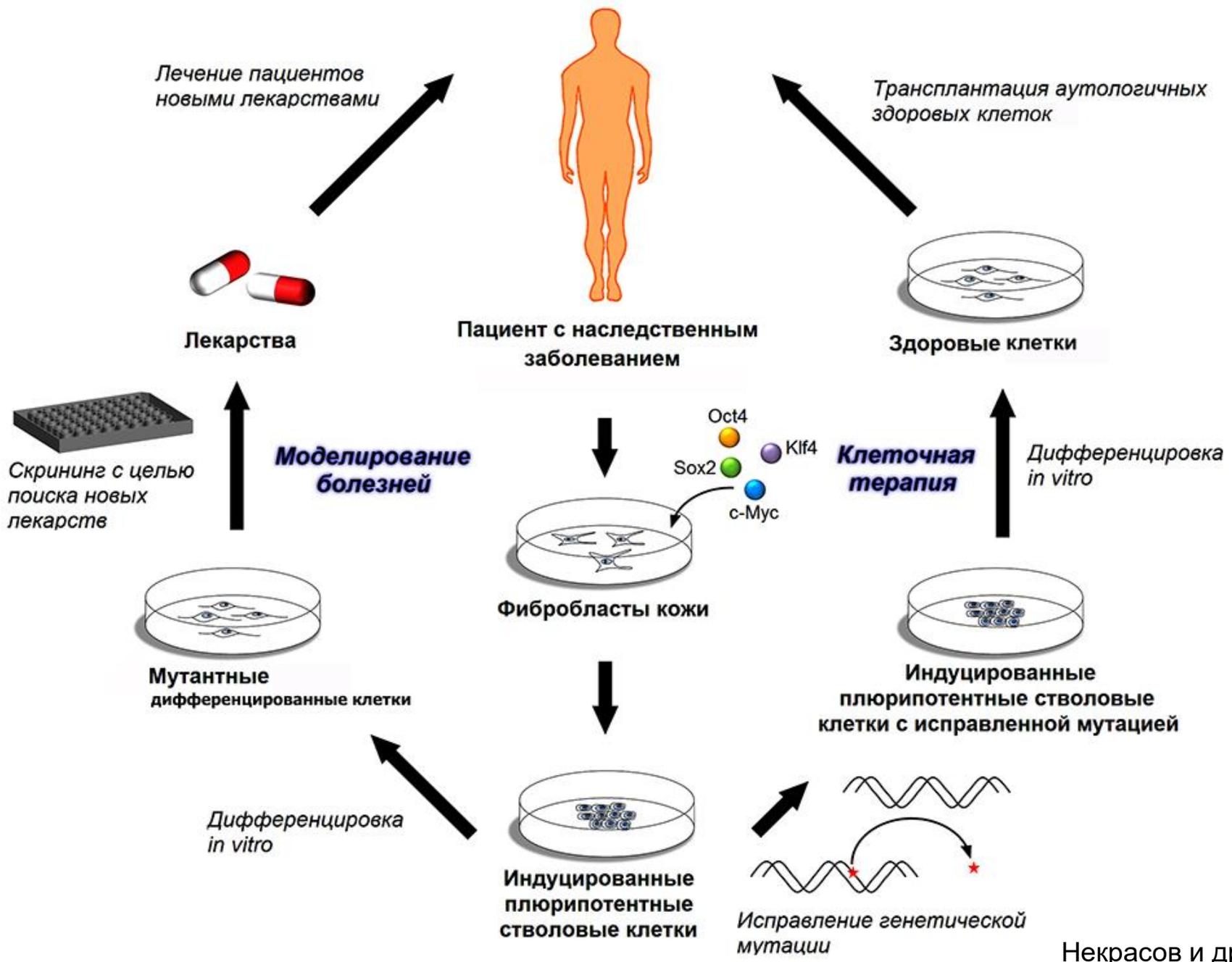
Доставка
В виде ДНК
(вирусы, плазмиды)
РНК
Белков



chimera

Эффективность репрограммирования - от 0,01 до 2%





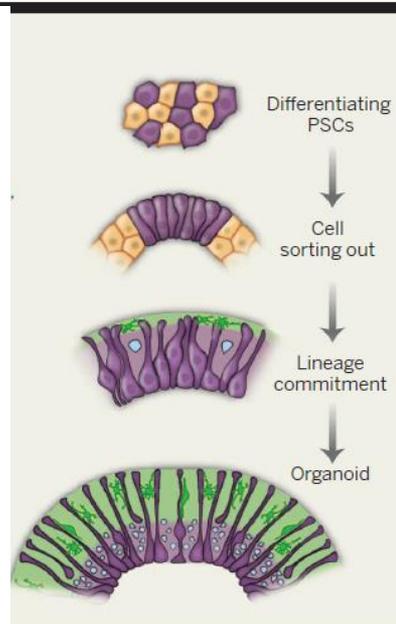
ОРГАНОИДЫ – новая модельная система для биомедицины

1. Продукт самоорганизации клеток

2. Способны к выполнению хотя бы части физиологической функции органа

3. Состоят из нескольких типов клеток

4. Органоиды могут «собраться» не только из плюрипотентных клеток, но и из взрослых стволовых клеток, и даже из дифференцированных клеток



18 JULY 2014 • VOL 345 ISSUE 6194 1247125-1

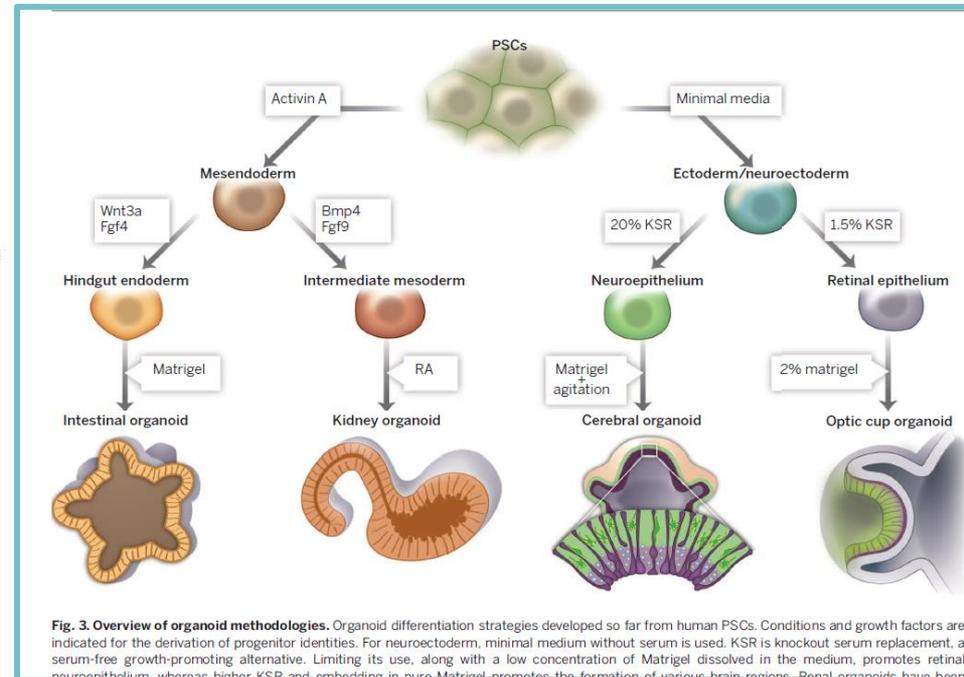
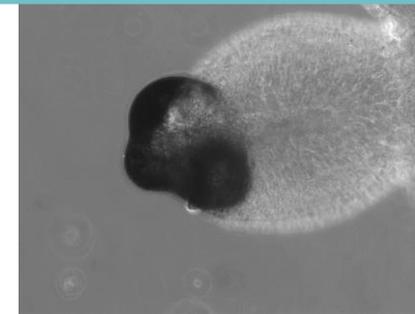
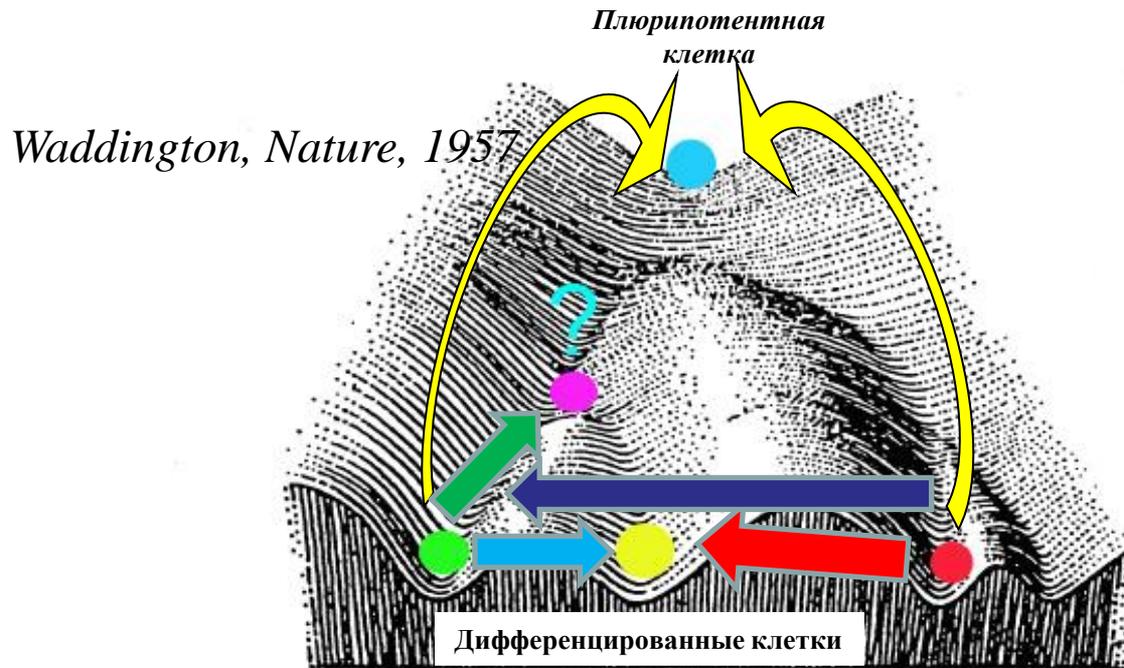


Fig. 3. Overview of organoid methodologies. Organoid differentiation strategies developed so far from human PSCs. Conditions and growth factors are indicated for the derivation of progenitor identities. For neuroectoderm, minimal medium without serum is used. KSR is knockout serum replacement, a serum-free growth-promoting alternative. Limiting its use, along with a low concentration of Matrigel dissolved in the medium, promotes retinal neuroepithelium; whereas higher KSR and embedding in pure Matrigel promotes the formation of various brain regions. Renal organoids have been



«Прямое» репрограммирование или трансдифференцировка



Можем ли мы из любой клетки сделать плюрипотентную? – ДА!
А ИЗ ЛЮБОЙ – ЛЮБУЮ?



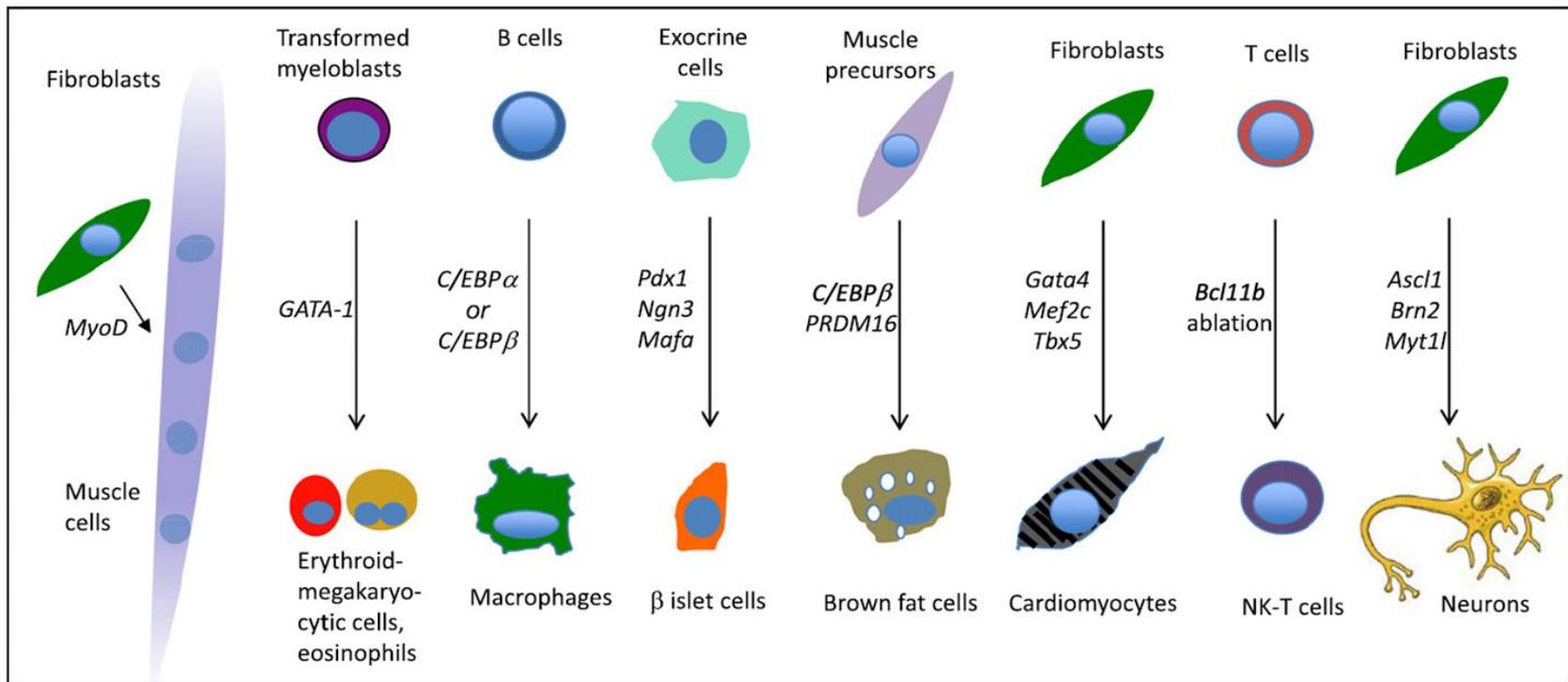


Figure 3. Examples of Transcription Factor-Induced Transdifferentiation

The examples shown are discussed throughout the text. Models (left to right) based on work from Davis et al. (1987), Kulesa et al. (1995), Xie et al. (2004), Zhou et al. (2008), Kajimura et al. (2009), Ieda et al. (2010), Li et al. (2010a) and (2010b), and Vierbuchen et al. (2010).

Graf T. *Cell Stem Cell* 9:504-516, 2011

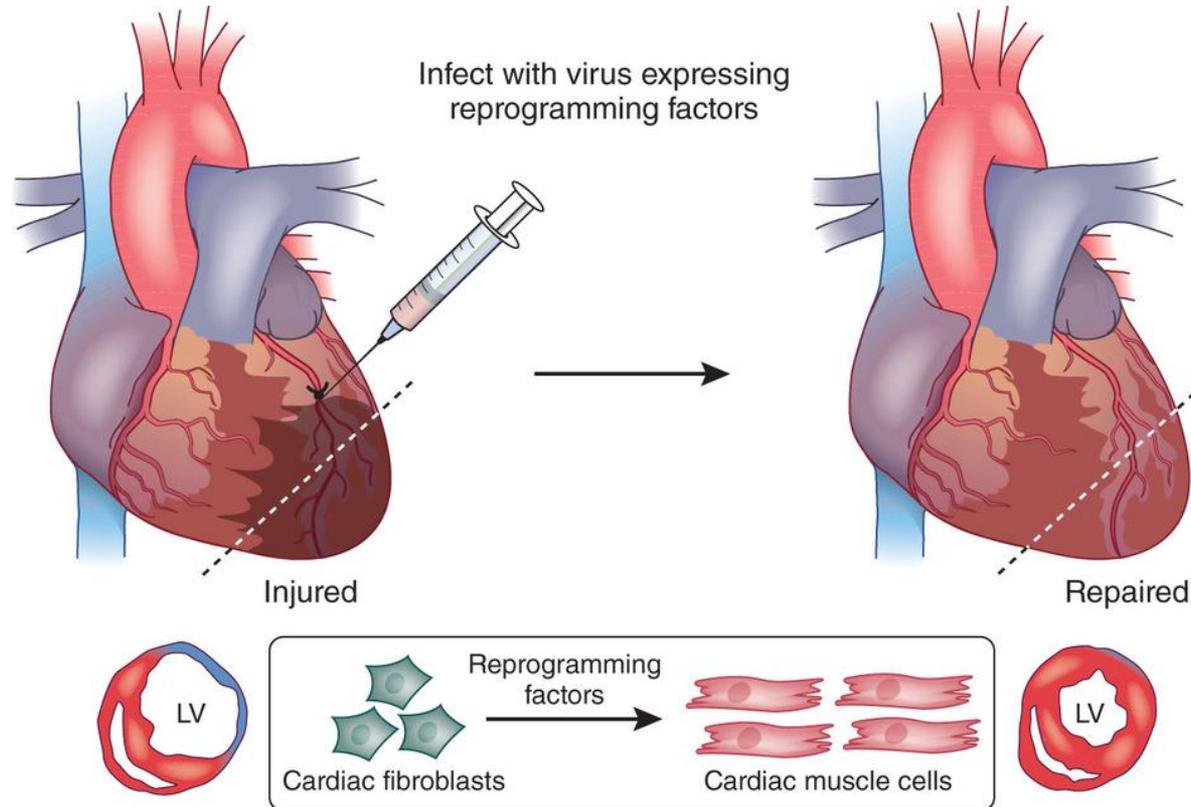


Прямое репрограммирование соединительной ткани сердца в кардиомиоциты

In vivo reprogramming of murine cardiac fibroblasts into induced cardiomyocytes

Nature 485, 593–598 (31 May 2012)

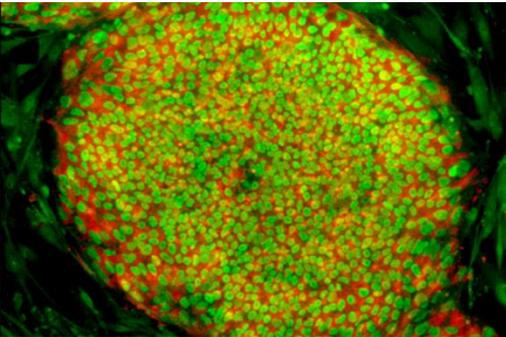
Gata4, Mef2c , Tbx5 (GMT)



Изначальная эффективность перепрограммирования in vivo и in vitro была примерно одинакова – 10-15% трансфицированных клеток. Тем не менее, полученные in vivo кардиомиоциты имели более зрелый фенотип.



Клинические испытания терапии диабета инсулин-продуцирующими клетками, полученными из ЭСК

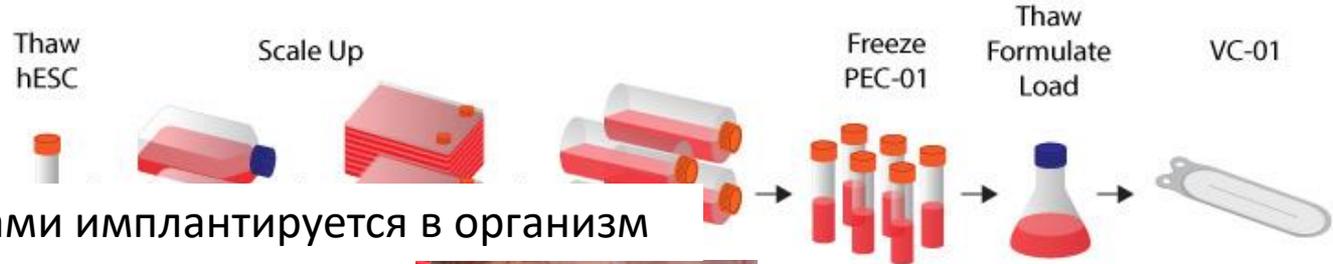


Процесс производства клеточного продукта

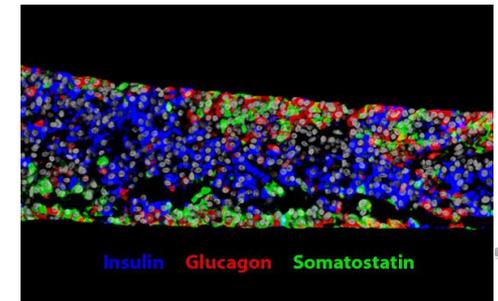
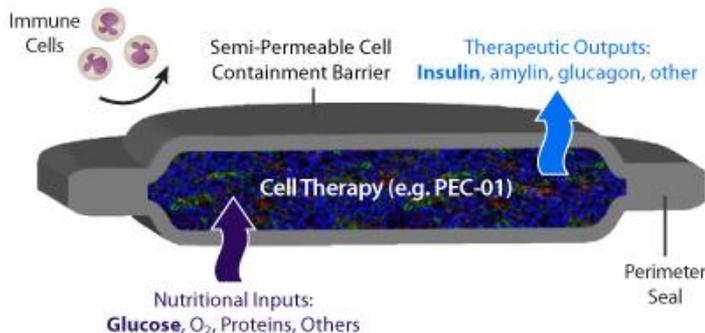
PEC-01™ and VC-01™ Manufacturing Overview



Stage 0	Stage 1	Stage 2	Stage 3	Stage 4
Human Embryonic Stem Cells (hESC) 15 days	Anterior Definitive Endoderm (DE) 2 days	Foregut Endoderm (FE) 3 days	Posterior Foregut (PF) 3 days	Pancreatic Endoderm (PE) 4 days
Propagate hESC (15 days)		Differentiate to PEC-01 (12 days)		Prepare VC-01 (4 days)



Капсула с клетками имплантируется в организм

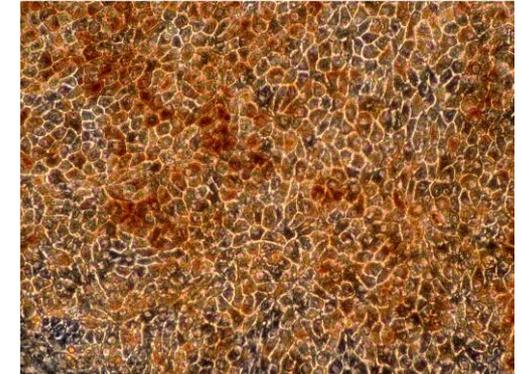


Терапия возрастных и наследственных заболеваний глаза

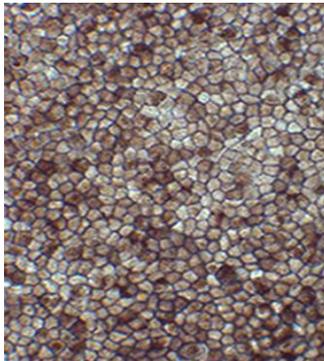
ЭСК

18 пациентов получили инъекции неродственных клеток сетчатки, полученных из ЭСК человека. По данным 3-х летнего наблюдения у 10 зрение улучшилось!

Пигментный эпителий сетчатки



ИПСК



Первый человек, получивший ткани, полученные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток: 12 сентября 2014 года: хирург Ясуо Куримото выполнил процедуру на первом пациенте, 70-летней женщине.

