

# **Клонирование и стволовые клетки - современные рецепты бессмертия**

В средние века алхимики искали “философский камень”, с помощью которого можно превращать любое вещество в золото, а медики во все времена искали и ищут по сей день панацею – лекарство от всех болезней, которое сделало бы человека бессмертным!

## **Клонирование и стволовые клетки - современные рецепты бессмертия**

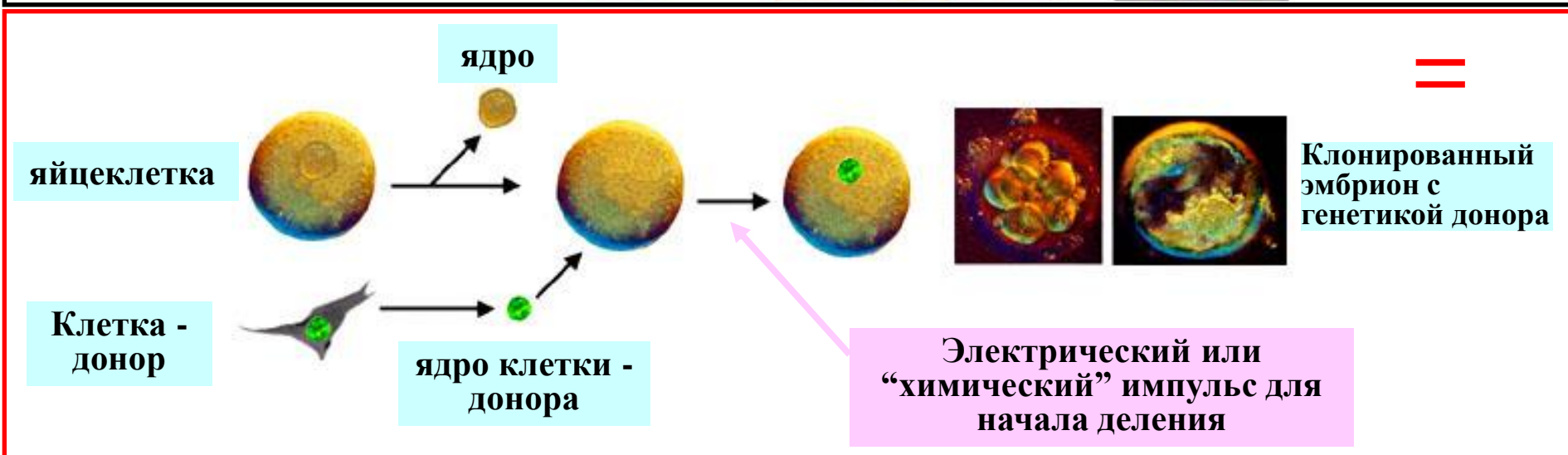
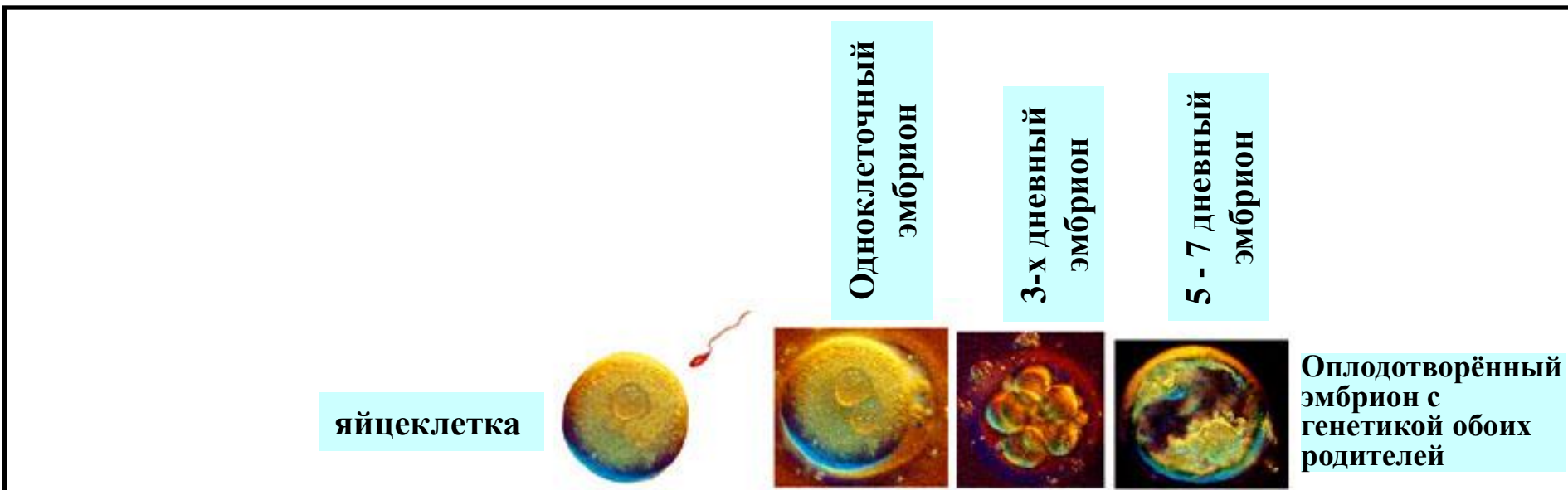
## Как переводится с греческого слово “клон”?

"**клон**" - веточка, побег, черенок, и имеет отношение прежде всего к вегетативному размножению. Клонирование растений черенками, почками или клубнями в сельском хозяйстве, в частности в садоводстве, известно уже более 4-х тыс. лет. При вегетативном размножении и при клонировании гены не распределяются по потомкам, как в случае полового размножения, а сохраняются в полном составе в течение многих поколений.

Клетки животных в ходе клеточной специализации - *дифференцировки* - теряют способность реализовывать всю генетическую информацию, заложенную в ядре. Поэтому животные размножаться вегетативно не могут.

# Отличие получения клонированного (*низ*)

## от оплодотворённого эмбриона (*верх*)

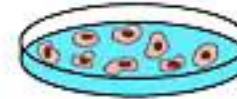


# Клонирование амфибии

Неоплодотворённая  
яйцеклетка

**УФ излучение**

Яйцеклетка без ядра



Ядро вводится в  
яйцеклетку

Нормальный  
эмбрион

Головастик

Взрослая лягушка

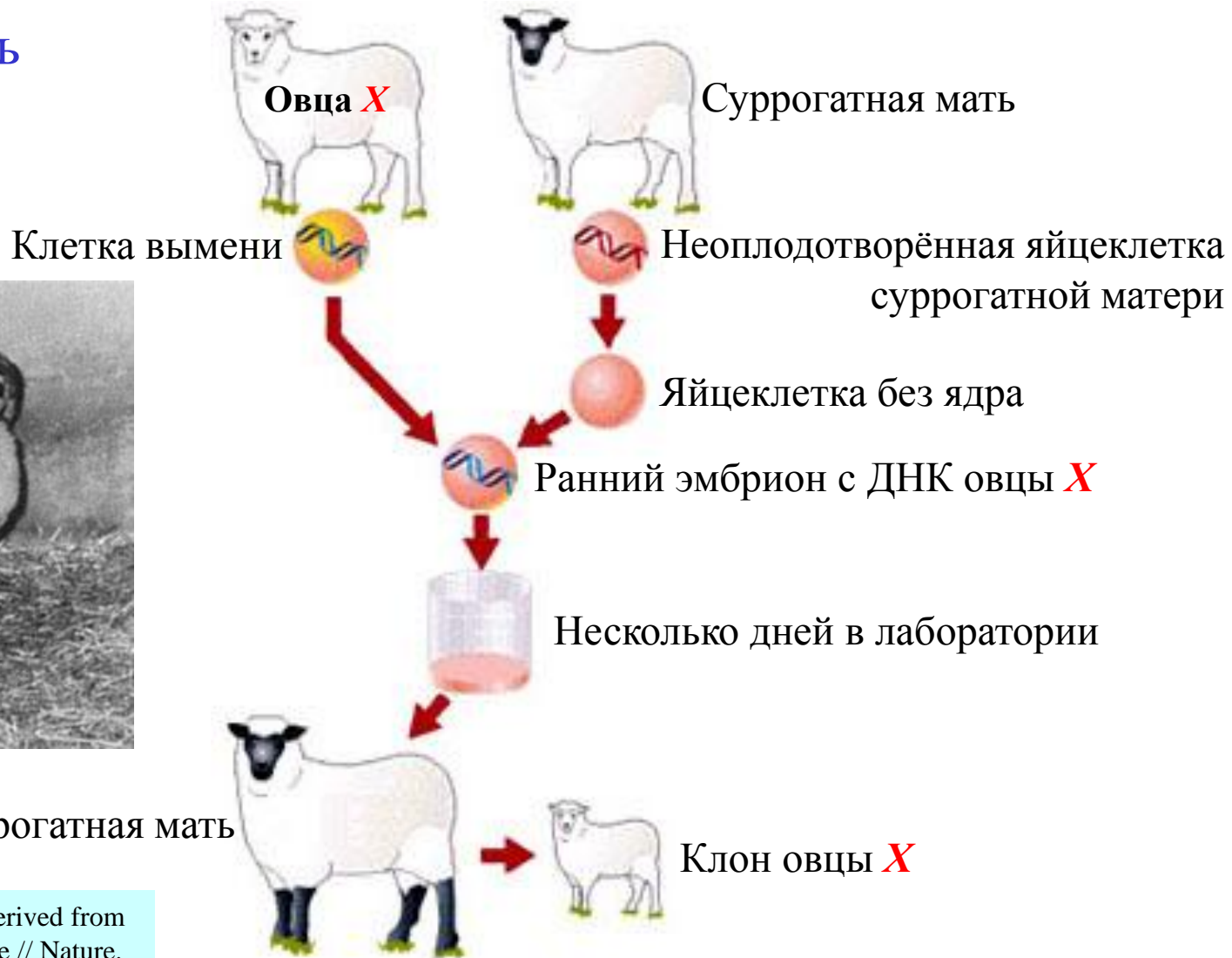
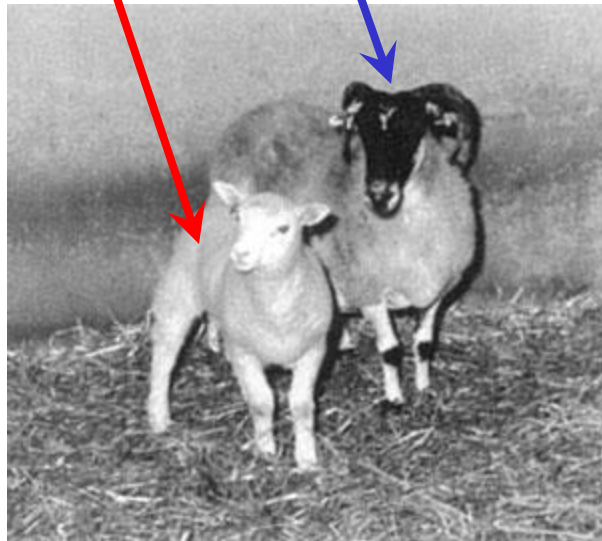
Изолированные  
клетки кожи

Клеточное ядро в  
пипетке

# Английский учёный Вилмут в 1997 успешно клонировал овцу

Суррогатная мать

Долли



Wilmot I. *et al.* Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cell line // Nature. 1997. V. 385. P. 810-813.

# Судьба овечки Долли



В 2002 году у Долли было отмечено развитие артрита, который, как предполагается, мог стать результатом генных мутаций, инициированных процессом клонирования. Помимо артрита у животного наблюдался целый ряд отклонений от нормального развития, и ученые усыпили знаменитую овечку из-за прогрессирующей болезни легких. Долли умерла в возрасте 6 лет.

# Что такое человеческий клон?

На самом деле клон -- это просто идентичный близнец другого человека, отсроченный во времени. Клоны человека будут обычными человеческими существами. Их будет вынашивать обычная женщина в течение 9 месяцев, они родятся и будут воспитываться в семье, как и любой другой ребенок. Им потребуется 18 лет, чтобы достичь совершеннолетия, как и всем остальным людям. Следовательно, клон-близнец будет на несколько десятилетий младше своего оригинала, поэтому нет опасности, что люди будут путать клона-близнеца с оригиналом. Также как и идентичные близнецы, клон и донор ДНК будут иметь различные отпечатки пальцев. Клон не унаследует ничего из воспоминаний оригинального индивида. Благодаря всем этим различиям, клон -- это не ксерокопия или двойник человека, а просто младший идентичный близнец.



# Для чего клонировать человека?

Существует как минимум две веские причины:

- чтобы предоставить возможность семьям зачать детей - близнецов выдающихся личностей и
- чтобы позволить бездетным парам иметь детей.

# Клонирование умерших

**Если образец ткани человека заморожен должным образом, человека можно было бы клонировать через длительное время после его смерти. Если ткань умерших не была заморожена, клонирование становится более сложным, и сегодняшняя технология это делать не позволяет. Однако, в ближайшем будущем и это может оказаться возможным.**

Все ткани человека содержат ДНК и могут потенциально быть источником для клонирования. Перечень тканей включает человеческие волосы, кости и зубы. К сожалению, ДНК начинает медленно разлагаться через несколько недель после смерти, разрушая сегменты генетического кода. Время распада ДНК зависит от температуры, кислотности среды и других условий. Так, пролежавшие более 50 тысяч лет в вечной мерзлоте останки мамонтов содержат ДНК достаточно хорошей сохранности. Асфальтовые захоронения, безводные места, кислотные источники или очень соленые водоемы тоже защищают ДНК от разрушения. Но наилучшим образом ДНК сохраняется в янтаре. Самая древняя находка, из которой выделили ДНК и определили ее последовательность, долгоносик, извлеченный из янтаря, возраст которого примерно 120-135 млн. лет.

По прошествии 60 миллионов лет только короткие фрагменты ДНК динозавров сохранились, поэтому шансы осуществления парка Юрского периода невелики. Однако существуют хорошие шансы восстановления последовательности ДНК из образцов человеческой ткани, т.к. времени прошло существенно меньше. Представьте себе генетический код как книгу, из которой с течением времени случайным образом удаляются абзацы или страницы. Если у нас есть только одна копия книги, полный текст не может быть восстановлен. К счастью, у нас есть больше, чем одна копия. В кости или образце ткани могут быть многие тысячи клеток, каждая со своей копией кода ДНК. Это подобно обладанию тысячами копий той же самой книги. Если страница 239 удалена из одной книги, эта страница может оказаться целой невредимой в другой, поэтому, комбинируя информацию из многих клеток, можно в точности восстановить исходный генетический код. Еще один обнадеживающий фактор -- что только небольшой процент из трех миллиардов символов генетического кода человека отвечает за индивидуальные различия. Например, генетические коды шимпанзе и людей на самом деле на 99% совпадают. Это означает, что восстанавливать придется менее 1% кода, т.е. только ту часть, которая определяет индивидуальные различия между людьми. Конечно, все это за пределами сегодняшней технологии, но принципиально осуществимо.

# Продолжаем мечтать о клонировании умерших

Сохранились пучки волос многих известных людей прошлого. До сих пор локоны волос были просто экстравагантными редкостями. С клонированием человека, которое уже на пороге реальности, они сейчас приобретают много большую значимость. Вполне возможно, что великие люди прошлого могли бы быть клонированы из образцов их волос, тканей или костей. Мозг Альберта Эйнштейна сохранен в специальном сосуде. Нам известно местонахождение костей многих других известных людей. Нам следует предпринять соответствующие меры, если необходимо, законодательные, чтобы гарантировать, что образцы тканей выдающихся людей прошлого будут сохраняться от разрушения должным образом. Было бы желательно криогенное хранение этих образцов для предотвращения дальнейшего разрушения ДНК.

Перспектива клонирования выдающихся людей прошлого -- крайне захватывающая возможность, и оправдывает наиболее интенсивные исследовательские усилия. Исаак Ньютон и Альберт Эйнштейн -- два величайших ученых всех времен. Представьте потенциал для научного прогресса, если эти два ученых могли бы быть клонированы и обучены в 21 веке! Так же как и с клонами кинозвезд и спортсменов, нет гарантии, что их близнецы обязательно захотят изучать физику. Вместо этого в своей новой жизни они могут посчитать более интересной какую-то другую область науки, такую как искусственный интеллект или генная инженерия. Предполагая, что они будут рождены примерно в одно и то же время, окажется возможным, чтобы клоны-близнецы Ньютона и Эйнштейна сотрудничали в научной работе! Какие научные чудеса могли бы открыть эти два великих ума, работая вместе?

# Возражения против клонирования человека:

- Клонирование сократило бы генетическое разнообразие, делая нас более уязвимыми к эпидемиям и т.п.
- Это может привести к созданию людей-монстров или уродов
- Диктаторы могут употребить клонирование во зло
- Технология не совершенна, она может привести к смерти плода
- Миллионеры будут клонировать себя только для того, чтобы получить органы для трансплантации
- Действительно ли нам нужно 200 клонов Софи Лорен или Синди Крауфорд
- Это равнозначно принятию на себя роли Бога

# Необходимый закон о клонирования (проект)

- Клоны людей должны официально иметь те же юридические права и ответственность, что и любое другой человек. У людей не будет права держать человеческого клона в погребе для запасных частей для своего тела.
- Живущий в настоящее время человек не должен клонироваться без его письменного согласия. Любому человеку автоматически дается право собственности на его генетический код и право им распоряжаться по собственному усмотрению. Мы можем пожелать запретить клонирование несовершеннолетних, т.к. они еще не достигли зрелости для принятия такого рода решение.
- Клоны человека должны вынашиваться и рождаться только взрослой женщиной, действующей по собственной воле, без принуждения.
- Существует причина полагать, что предрасположенность к жестокости и убийству генетически predetermined. Клонирование осужденных убийц и других жестоких преступников следует запретить.

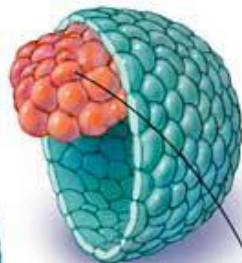
# Стволовые клетки, клетки ранних человеческих зародышей: ещё одно универсальное лекарство

Все великое многообразие многоклеточных существ имеет весьма скромное начало - оплодотворенную клетку (зиготу). За 9 месяцев из одной клетки образуется  $10^{13}$  клеток новорожденного! Но у зиготы и во взрослом организме есть "двойник" - так называемая **эмбриональная стволовая клетка**. Она не только "хранит" информацию обо всем организме, но и "знает", как ею воспользоваться, чтобы размножиться в миллиарды клеток растущего живого существа. Никакие другие клетки "не умеют" этого делать. Эмбриональные стволовые клетки человека впервые были выделены американскими учёными Д. Томпсоном и Д. Беккером в 1998 году, и это открытие является третьим по важности событием в биологии XX века после открытия двойной спирали ДНК и расшифровки генома человека.

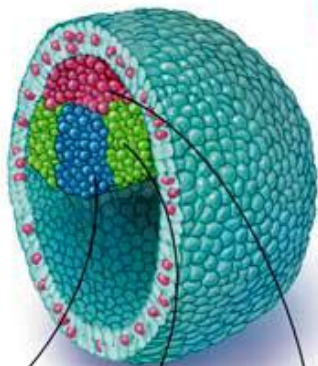
Оплодотворённое яйцо  
1 день



Бластоцист  
5-6 дней



Гаструла  
14-16 дней



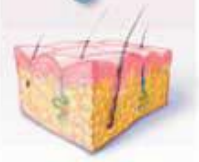
Эндодерма



Мезодерма



Эктодерма



Когда оплодотворённая яйцеклетка начинает делиться, образуются первые **тотипотентные** стволовые клетки, т. е., способные образовывать клетки любых типов. Примерно через четыре дня стволовые клетки начинают дифференцироваться и образуется бластоцист, состоящий из около сотни клеток. Тотипотентных клеток уже нет, стволовые клетки становятся **плюрипотентными** и не могут образовывать некоторые типы клеток.

**Плюрипотентные** стволовые клетки представляют собой массу клеток, расположенную внутри эмбриона, и в дальнейшем образующую различные органы будущего организма. Позднее **плюрипотентные** стволовые клетки продолжают дифференцироваться, превращаясь в специализированные стволовые клетки - **мультипотентные**. Одни из них могут образовывать различные клетки крови (**гемопоэтические**), другие - костную, жировую и мышечную ткань (**стромальные**).

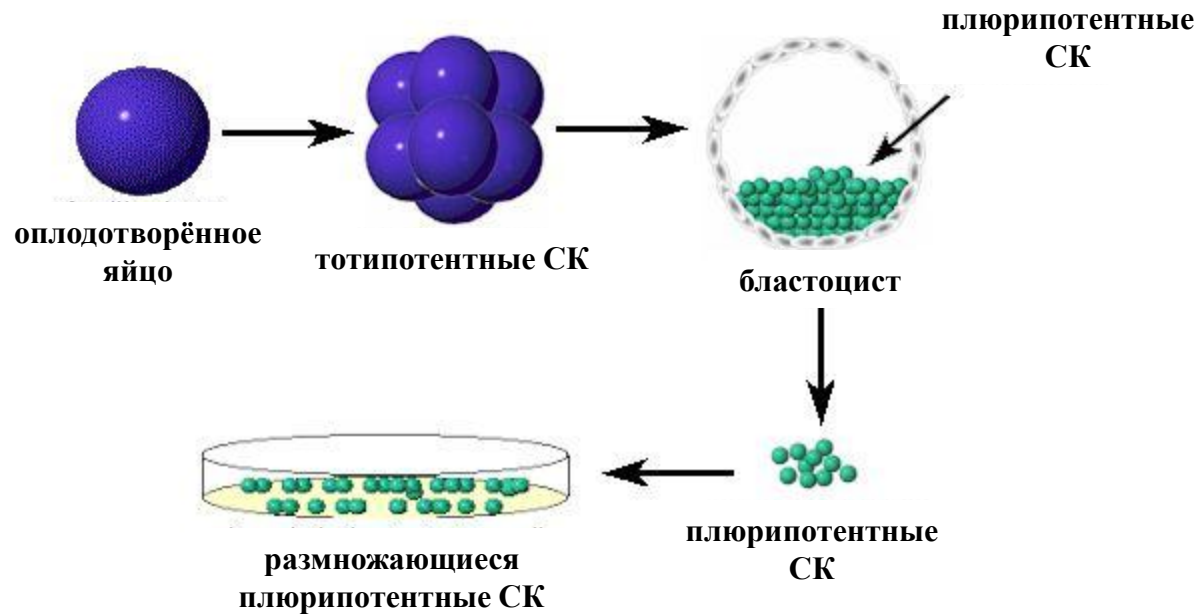
## Появление и трансформация стволовых клеток при развитии

# Что такое стволовые клетки?

- **Неполовые клетки** живых организмов (**соматические клетки**) специализированы, то есть выполняют какие-либо функции: клетки костной ткани формируют скелет, клетки крови отвечают за иммунитет и разносят кислород, нервные клетки проводят электрический импульс и так далее.
- **Эмбриональная стволовая клетка** еще не "включила" механизмы, определяющие ее специализацию, и её геном еще не начал выполнять программу размножения и формирования многоклеточного зародыша.
- **Эмбриональные стволовые клетки** могут превратиться в один из 350 возможных типов зародышевых клеток. Эмбриональная клетка лишь ждет специального "сигнала", чтобы начать одно из своих превращений.
- **Эмбриональных стволовых клеток** в зародыше очень мало - всего сотые доли процента, вот почему исследователям так трудно было получить их в "чистом виде".

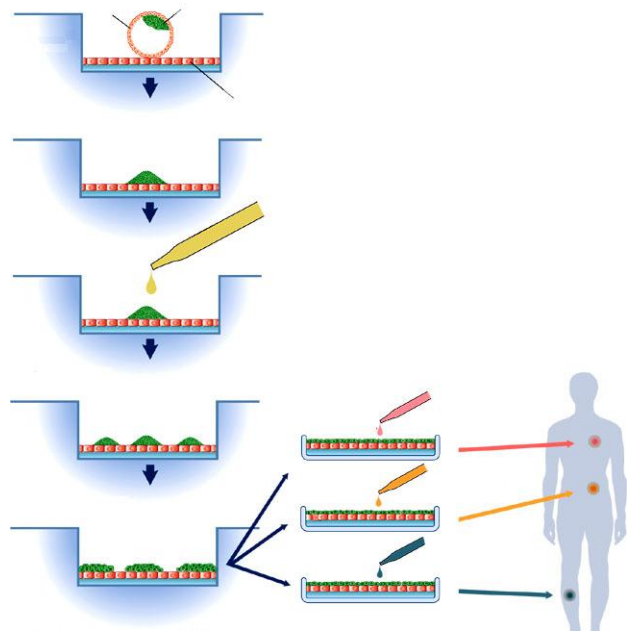


# Получение плюрипотентных стволовых клеток



Возникшая после слияния сперматозоида с яйцеклеткой зигота получает импульс к делению: возникают сначала двух-, затем – четырех-, затем – 8-клеточные колонии **тотипотентных** стволовых клеток (СК). На 4-й – 5-й день после оплодотворения формируется стоклеточный шарик-**бластоцист**, в котором отчетливо выявляется внешний слой. Его наружную оболочку разрушают механически или ферментами, перенося **плюрипотентные** стволовые клетки в питательный раствор (культивируя их).

# Активация плюрипотентных клеток



**Активация плюрипотентных стволовых клеток превращает их в специализированные клетки организма - нервные, мышечные, печеночные, кожные и т. д., которые затем можно пересадить больному взамен таких же отмерших или “заболевших”.**

**При пересадке эмбриональных стволовых клеток в какой-либо орган из них всегда образуются только клетки этого органа, что позволяет использовать эмбриональные стволовые клетки для восстановления поврежденных органов и тканей, лечения множества тяжелых заболеваний.**

# Этические проблемы использования стволовых клеток



*Кончик иглы и 12-ти клеточный эмбрион - источник стволовых клеток.*

**Стволовые клетки для каждого из людей должны быть клонированы (в лишённую ядра яйцеклетку введено ядро соматической клетки). Иначе, после введения стволовых клеток начнётся реакция их отторжения. В то же время, многие страны мира, в том числе США и Германии, запретили проводить клонирование, используя человеческий материал, считая, что:**

- 1) введение ядра соматической клетки в лишённую ядра яйцеклетку, то есть клонирование, — это «самовольное творение жизни»,**
- 2) разрушение стоклеточного пятидневного бластоциста – это «убийство живого существа».**

**Таким образом, наука, как это часто бывает была остановлена перед, казалось бы, неразрешимыми ЭТИЧЕСКИМИ проблемами.**

# Терапевтическое клонирование стволовых клеток

**Анимация:**

transfertutorial.htm

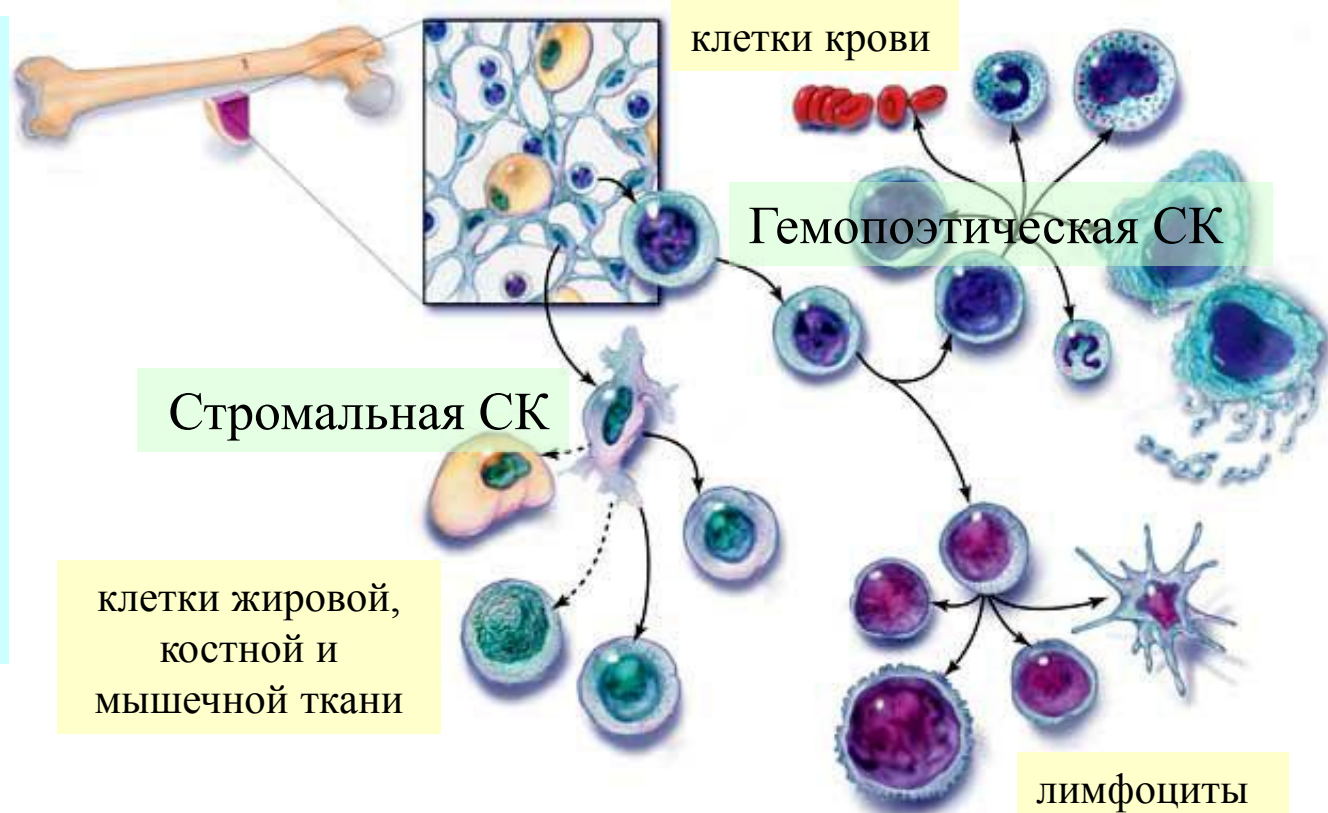
+

SCNT\_animation\_2.gif

# Уходим от клонирования:

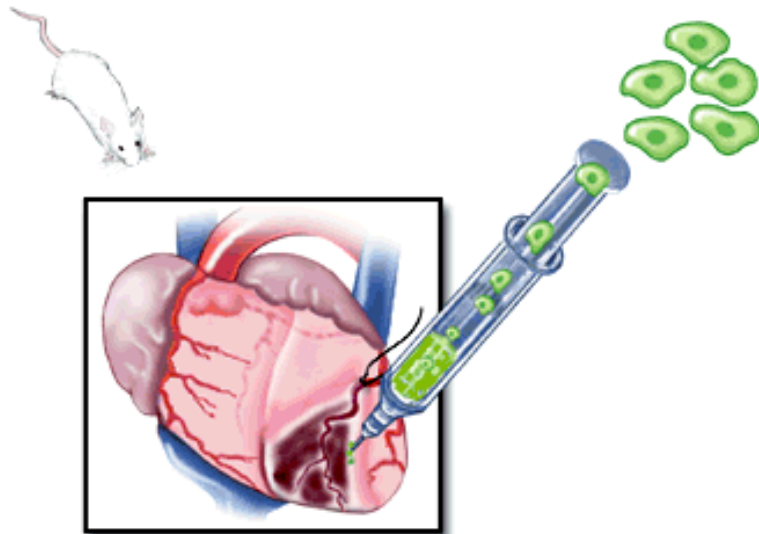
## взрослые стволовые клетки

### и терапия



Во взрослом организме стволовые клетки находятся, в основном, в костном мозге, хотя они встречаются в очень небольших количествах во всех органах- "региональные" СК. Они обеспечивают восстановление поврежденных участков органов и тканей. Стволовые клетки, получив сигнал о какой-либо "неполадке", по кровяному руслу устремляются к пораженному органу. Они могут восстановить практически любое повреждение, превращаясь на месте в необходимые организму клетки (костные, гладкомышечные, печеночные, сердечной мышцы или даже нервные). Однако, запас стволовых клеток взрослого организма очень невелик. Поэтому случается так, что обновить утраченные клетки организм самостоятельно уже не в состоянии: или очаг поражения слишком велик, или организм ослаблен, или возраст уже не тот. И всё-таки в БУДУЩЕМ можно будет помочь больному излечиться от цирроза, инсульта, паралича, диабета, ряда заболеваний нервной системы. Для этого из взвеси клеток костного мозга больного выделяют некоторое количество стволовых клеток, размножат их, а потом увеличенное их число "положат на место". При этом нет опасности иммунного отторжения вводимых клеток (они «свои»!) и нет никаких препятствий морально-этического порядка, потому что эти стволовые клетки не «сделаны» в лаборатории, а взяты у больного.

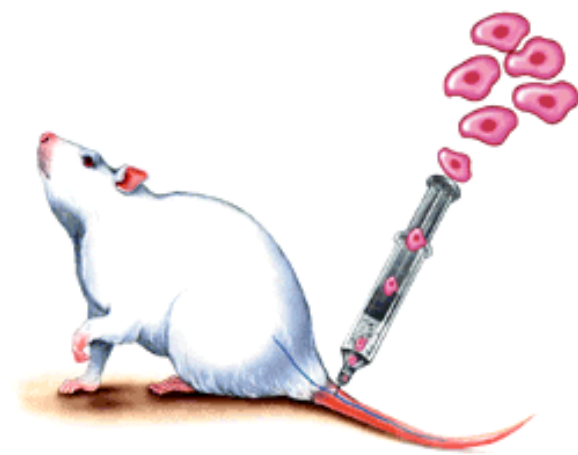
# Взрослые стволовые клетки и клеточная терапия **мышей**



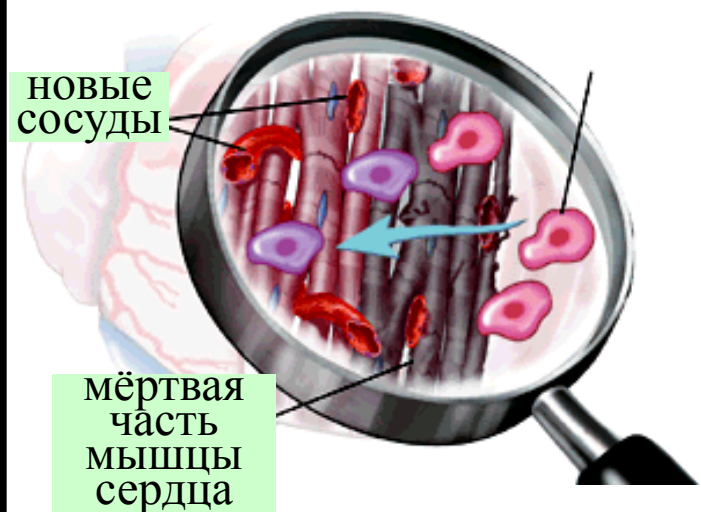
Происходит восстановление мышцы сердца



Мышечные взрослые стволовые клетки (**зелёные**) вводятся в участок мышечного сердца, повреждённый после искусственного инфаркта



Клетки костного мозга человека (**розовые**) вводятся в хвост мыши



мёртвая часть мышцы сердца

Происходит восстановление мышцы сердца и рост новых сосудов

# Стромальные клетки костного мозга - "центральный склад запчастей"

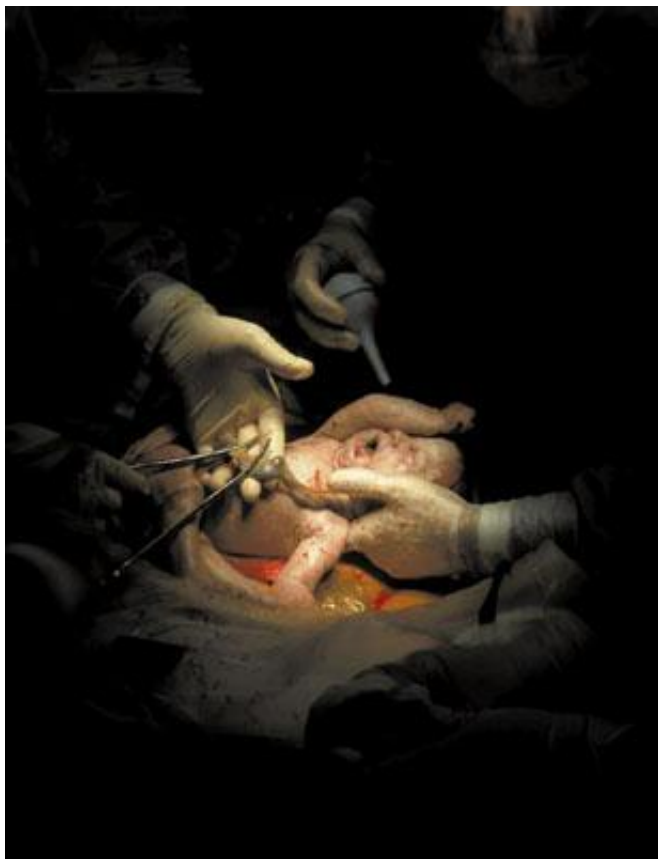
Если тканевые стволовые клетки используются для восстановления поврежденных участков только в данном месте и для определенного вида ткани (костные - для костей, мышечные - для мышц и т. д.), то "запчасти центрального склада" - стромальные стволовые клетки костного мозга - универсальны. Они поступают с кровотоком в поврежденный орган или ткань и на месте под влиянием различных сигнальных веществ превращаются в нужные специализированные клетки, которые замещают погибшие (вопреки распространённому мнению, что нервные клетки не восстанавливаются).

Стромальные стволовые клетки, попадая на повреждённые участки самых различных органов, превращаются именно в клетки того типа, который необходим, чтобы залечить повреждение (при условии, что они обладают потенциалом к соответствующей дифференциации). Попадая в поражённое инфарктом **сердце**, они преобразуются в клетки **сердечной мышцы - миоциты**, в поражённом инсультом **головном мозгу** - в **нейроны и глиальные клетки**. Стволовые клетки могут превращаться в клетки печени, костного мозга и т. д. Это даёт надежду на излечение огромного количества самых различных заболеваний.

Когда мы рождаемся, у нас в костном мозге на 10 тысяч стволовых кроветворных клеток приходится одна стромальная клетка. У подростков стромальных клеток уже в 10 раз меньше. К 50-ти годам на полмиллиона стволовых - одна стромальная клетка, а в 70 лет отбирать пробу костного мозга просто бессмысленно - там всего лишь одна стромальная клетка на миллион стволовых. То есть сдавать костный мозг имеет смысл только в молодом возрасте. Ну, а вообще, донорские стромальные клетки удобнее всего получать прямо при рождении из пуповины и плаценты, где они тоже содержатся в достаточном количестве.



# Стволовые клетки пуповинной крови - страховка на всю жизнь



**Стволовые клетки пуповинной крови своего новорожденного ребенка, которые никому в будущем не нужны, могут стать своеобразной страховкой на время его долгой и счастливой жизни от многих болезней, как это делают многие родители в США и Европе уже с 1992 года.**

## Храните свою пуповину в морозилке

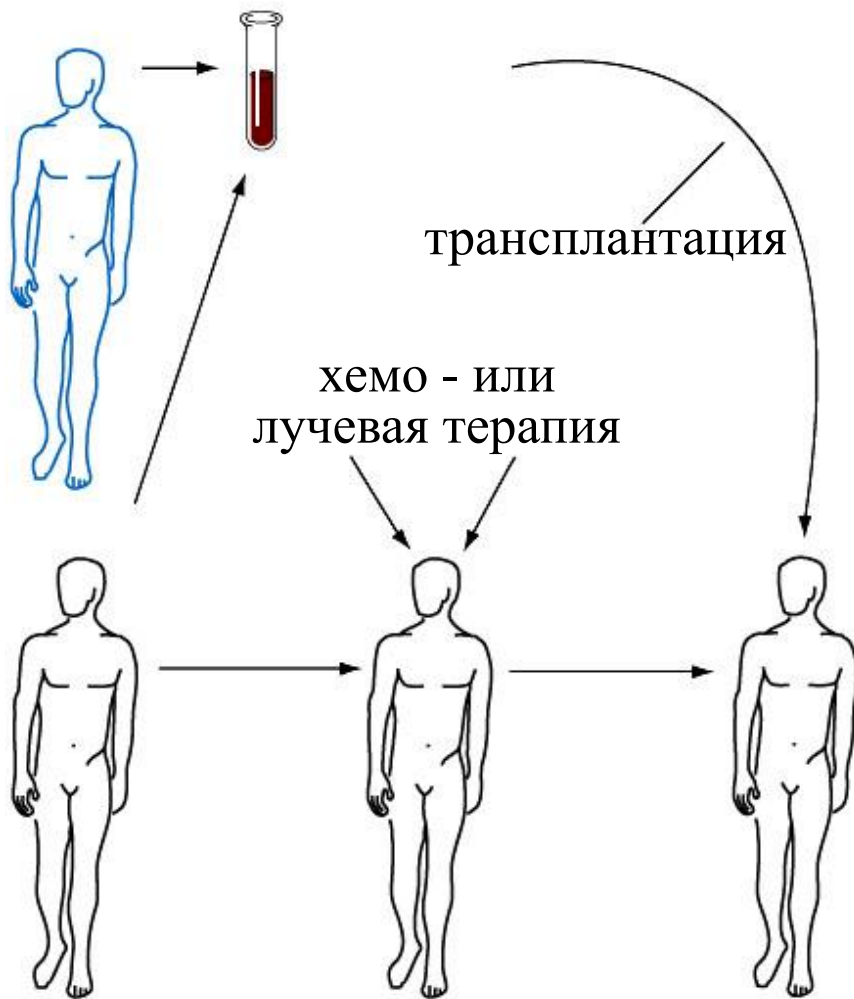


Особый случай представляет **сохранение стволовых клеток для их использования самим донором**. Хранение при температурах ниже  $-130^{\circ}\text{C}$  может осуществляться в течении многих десятков (и даже сотен) лет. Это позволяет хранить детские клетки донора до возникновения потребности в них при заболевании или в старости. Реакция отторжения на собственные клетки исключена полностью. **Поскольку использование стволовых клеток весьма эффективно при почти любых заболеваниях, связанных со старением можно ожидать, что их сохранение от рождения до соответствующего возраста позволит отодвинуть наступление старческих изменений и радикально продлить жизнь.**

# Использование стволовых клеток при лечении раковых заболеваний

стволовые клетки из  
костного мозга или  
крови

донор



Хемо и лучевая терапия, используемые для уничтожения раковых клеток, убивает и стволовые клетки.

В результате, больной, вылечившийся от рака, может умереть сразу же от пневмонии, так как из-за отсутствия стволовых клеток он лишён иммунитета.

Для того, чтобы вернуть иммунитет, пациенту после хемо- или лучевой терапии вводят стволовые клетки, взятые у него до этого.

# Будьте осторожны с использованием стволовых клеток

Уже сейчас пациенты обращаются в клиники, обещающие "излечить все недуги и омолодить" стволовыми клетками. Но всегда надо иметь ввиду:

1. клинический **опыт** применения стволовых клеток **чрезвычайно мал или вообще отсутствует;**
2. **отдаленные последствия** лечения стволовыми клетками **неизвестны;**
3. существует **риск заболеть раковыми заболеваниями (канцерогенеза);**
4. **опасность инфицирования** при терапии стволовыми клетками: где, как и из чего был получен "клеточный препарат" и тестировался ли он на инфекционную безопасность.

# Важнейшие этапы в изучении стволовых клеток

- 1908 Русский ученый Александр Максимов предлагает концепцию стволовой клетки для кроветворной ткани.
- 1953-е Исследования показали, что трансплантация костного мозга может спасти животных, получивших смертельную дозу радиации.
- 1963 Самый первый эксперимент с пуповинной кровью от 17 детей, которая была имплантирована взрослой женщине с метастазирующей саркомой. Наступило временное улучшение, но она умерла через год. Исследователи хотели показать, что кровь новорожденных содержит факторы, подавляющие канцерогенез.
- 1969 Е. Д. Томас произвел первую пересадку костного мозга больному лейкемией.
- 1970 Первая попытка вылечить больного лейкемией путем трансплантации пуповинной крови, взятой от 8 разных детей.
- 1970-е Советские ученые А. Я. Фриденштейн и И. Л. Чертков закладывают основы науки о стволовых клетках костного мозга.
- 1970-е Первая аутологичная трансплантация костного мозга больному лимфомой
- 1980-е Первая трансплантация стволовых клеток, полученных из периферической крови
- 1990 Е. Д. Томас, впервые осуществивший пересадку костного мозга, получил Нобелевскую премию
- 1992 Дэвид Харрис впервые частным образом сохранил пуповинную кровь для своего сына Александра
- 1998 Американским ученым Д. Томсону и Д. Беккеру удалось выделить человеческие эмбриональные стволовые клетки
- 1998 Пересадка нейральных стволовых клеток человеку после инсульта (США)

## Вопросы для повторения:

- Почему растения могут размножаться вегетативно, а животные - нет?
- Опишите схему клонирования животного
- В каком году и где была клонирована овечка Долли?
- Почему клонирование человека запрещено?
- Что такое стволовые клетки?
- Как выделяют взрослые и эмбриональные стволовые клетки?
- Чем отличаются стромальные от гемопоэтических стволовых клеток?
- Почему эмбриональными стволовыми клетками можно лечить многие заболевания?
- Что такое терапевтическое клонирование стволовых клеток?
- Какую ценность представляет кровь, содержащаяся в пуповине?
- Как могут помочь стволовые клетки в лечении рака?
- Изучено ли полностью влияние стволовых клеток?