

УДК 616-003.93:57.017.3

О. М. БАРНА, Я. В. КОРОСТ, О. О. ПОГРЕБНЯК, В. О. МАЛЕЄВА

/Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна/

## Застосування регенеративної медицини при лікуванні захворювань терапевтичного профілю

### Резюме

У статті наведено огляд літератури, присвяченої регенеративній медицині, як новому напрямку в лікуванні захворювань людини. Важливим джерелом клітин для регенеративної медицини є мезенхімальні стовбурові клітини, які здатні диференціюватися в практично будь-яку клітинну лінію і реалізовувати протизапальну, імунорегуляторну та імносупресивну дію.

**Ключові слова:** регенеративна медицина, мезенхімальні стовбурові клітини, екзосоми

**Регенеративна медицина (РМ)** – це інноваційне міждисциплінарне поле досліджень і клінічного застосування методів, спрямованих на відновлення, заміну чи регенерацію клітин, тканин або органів із метою відновлення їхньої функції, порушеної внаслідок будь-яких причин (уроджених вад, захворювань, травм і старіння) [2, 3]. У РМ застосовується низка високотехнологічних підходів, що включають застосування розчинних молекул, генну терапію, пересадку стовбурових клітин, тканинну інженерію, перепрограмування клітин і тканин тощо [4].

Ідея використання клітин для лікування різних захворювань виникла у багатьох вчених, тому існує декілька версій щодо першовідкривача цього напрямку. У 1931 р. Пауль Ніханс урятував життя жінці, якій помилково видалили парашитоподібні залози, застосовуючи суспензію клітин цих залоз вола. Його часто вважають автором терміну «клітинна терапія», який означає використання клітин для відновлення або регенерації пошкоджених органів і тканин в організмі, покращення функцій, порушених з різних причин, включаючи вроджені вади, хвороби, травми та старіння.

Через кілька десятиліть, у 1954 р., Джозеф Мюррей здійснив першу трансплантацію органів людині, пересадивши нирку одного близнюка іншому. Згодом трансплантологія ставала все поширенішою, проте її успіхи швидко досягли фази плато й визначних проривів протягом тривалого часу не відбувалося [2]. Основною перешкодою для поширення трансплантації стала обмежена доступність органів, на противагу збільшенню потреби в них [3], що стало передумовою для початку розвитку нових напрямків, серед яких тканинна інженерія, використання клітин у лікуванні тощо [4].

Дослідники Джеймс Тіл та Ернст МакКаллок на початку 60-х років проводили експерименти та виявили, що недиференційовані гемопоетичні клітини кісткового мозку можуть давати початок усім лініям клітин крові, тобто здатні до диференціювання. Пізніше ця функція була визначена як одна з ознак стовбурових клітин.

Уже в 1970-х роках група науковців створила за допомогою нових методів штучну шкіру, яка мала комерційну назву EpiCell. А в 90-х роках у результаті поєднання тканинної інженерії та застосу-

вання стовбурових клітин утворилась нова галузь – регенеративна медицина. Свою назву в сучасному розумінні напрямку отримав аж у 1999 році з подачі Вільяма Газелтайна [4].

Найперспективнішими і найбезпечнішими для РМ є дорослі стовбурові клітини, зокрема мезенхімальні стовбурові клітини (МСК). Вони мають обмежену лінійну диференціацію, у них відсутня спонтанна онкогенна трансформація й обмежена здатність до самооновлення [1].

Слід зазначити, що стовбурові клітини різноманітні за своїми властивостями. Вони є неспеціалізованими та характеризуються недиференційованістю. Однією з їх головних особливостей є здатність до самовідновлення та можливість поділу, який може відбуватися як *in vitro*, так і *in vivo*. Крім того, стовбурові клітини можуть диференціюватися в різні спеціалізовані клітини та лінії під впливом різних факторів – фізіологічних, патологічних або експериментальних. Незважаючи на свою неспецифічність, стовбурові клітини можуть поділитися асиметрично, формуючи дві різні дочірні клітини з різними характеристиками і долями. За походженням стовбурові клітини також визначають як аутологічні, що продукуються у власному організмі майбутнього реципієнта, та алогенні, тобто донорські. Залежно від того, скільки різних шляхів для диференціації мають клітини, їх поділяють на тотипотентні, плюрипотентні, мультипотентні, олігопатентні та уніпотентні.

Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) належать до мультипотентної мезодермальної клітинної популяції. Вони характеризуються фібробластоподібною формою і здатністю адгезуватись до пластику та, як правило, розташовуються у периваскулярній ніші, що дозволяє їм проявляти рухливість і легко мігрувати по системі кровообігу до пошкоджених тканин, де вони диференціюються у клітини пошкодженої тканини, виділяють цитокіни, фактори росту, що пришвидшують процеси відновлення і регенерації.

Міграція МСК – це організований процес, який контролюється сигналами з навколишніх ніш. МСК розмножуються і диференціюються, постачаючи елементи строми, необхідні для підтримки та відновлення тканин і органів. Ці трофічні функції МСК опосередковуються клітинно-клітинною взаємодією, а також секрецією фак-

торів росту та інших медіаторів. Трофічні властивості клітини визначаються її здатністю чинити непряму дію на клітини у безпосередній близькості шляхом секреції біоактивних молекул. До речовин, які секретують МСК, належать цитокіни, такі як ІЛ-6 та ІЛ-37, фактори росту, що включають фактор росту тромбоцитів, еритропоетин, макрофагальний колонієстимулювальний фактор, гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор, а також інші молекули.

Було виявлено, що фактори, вивільнені мезенхімальними стовбуровими клітинами, сприяють нейрогенезу та ангіогенезу. Трофічний ефект МСК може досягатись також через вивільнення екстрацелюлярних везикул – екзосом, які діють як міжклітинні човники і несуть у собі різноманітний вміст [6].

До важливих та корисних функцій МСК відносять також імунomodulatory дію, що здійснюється за рахунок паракринної сигналізації. Механізм процесу включає дію вивільнених факторів, серед яких простагландин Е2, інтерлейкін-6, хемокиновий ліганд-2, TGF- $\beta$  та екстрацелюлярні везикули. МСК експресують антигени HLA-класу I. Більше того, секретом МСК містить незліченну кількість протизапальних факторів, таких як ІЛ-10 та TGF- $\beta$ . Вважають, що одним із механізмів, за допомогою якого МСК реалізують свій імуносупресивний потенціал, є вплив на вроджену і адаптивну імунну систему за рахунок індукції апоптозу Т-лімфоцитів. Імуносупресивна дія МСК може бути досягнута також за допомогою багатьох інших механізмів, включаючи залучення імуносупресивних клітин, наприклад, ІЛ-10 продукуючих дендритних клітин, бета-клітин та інших. Крім того, МСК можуть пригнічувати виділення макрофагами ІЛ-6 та TNF- $\alpha$  у зв'язку з секрецією PGE2 та індол-амін-2,3-діоксигенази. За рахунок цього ж механізму МСК здатні регулювати запальний процес, у тому числі за рахунок закріплення в ділянці запалення [6].

МСК знаходяться майже у всіх органах і вважаються стратегічним запасом для заміни або відновлення пошкоджених тканин. Найчастіше мезенхімальні стовбурові клітини виділяють із кісткового мозку (місце забору – гребінь клубової кістки) і жирової тканини. Жирова тканина – багате на МСК джерело клітин. Як правило, їх виділяють із підшкірного та вісцерального жиру під час оперативних втручань, пов'язаних з лапаротомією або ліпосакцією.

На сьогодні проведено багато досліджень, які підтверджують досягнення значного терапевтичного ефекту від застосування стовбурових клітин при лікуванні різних захворювань. До цього переліку належать лейкемії, міодиспластичний синдром, лімфоми, анемії, спадкові захворювання еритроцитів та тромбоцитів, тяжкі спадкові комбіновані імунodefіцити, спадкові нейропенії, мієлопроліферативні захворювання, фагоцитарні порушення, рак кісткового мозку, солідні пухлини, мукополісахаридози, лейкоцистозні порушення, порушення нервової системи, аутоімунні та серцево-судинні захворювання, діабет, генетичні та метаболічні порушення, захворювання опорно-рухового апарату тощо [6].

Використання МСК є перспективним з погляду ангіогенної терапії для лікування пацієнтів з ішемічними і недегенеративними захворюваннями, для загоєння ран, лікування фіброзів шкіри та органів. Наукові дані свідчать, що анатомічне розташування МСК у периваскулярному просторі кровоносних судин розсіяне по всьому тілу. Така гістологічна локалізація свідчить про те, що МСК

сприяють утворенню нових кровоносних судин *in vivo*. Наприклад, МСК можуть вивільняти фактори ангіогенезу і протеази, які полегшують формування судин та *in vitro* здатні підвищувати/підтримувати ангіогенез [6].

МСК також успішно застосовують для заміщення кісткових дефектів у разі травми, артропластичних втручань або у випадках видалення пухлин кісткової тканини. Автologічна трансплантація кістки має низку недоліків (обмежена кількість автologічного матеріалу, значна крововтрата, велика тривалість операції, тимчасове порушення структури донорської ділянки кістки), що робить відновлення за допомогою МСК оптимальним методом лікування. Окрім відновлення кістки, хірурги-ортопеди часто стикаються з проблемою відновлення хряща. У зв'язку з аваскулярною природою хрящової тканини власні регенеративні властивості хряща обмежені. За наявності відповідних стимулювальних чинників МСК здатні диференціюватися в хондроцити. Для кращого результату застосовується кокультура хондроцитів і МСК. Наявні результати клінічних досліджень свідчать про безпеку та результативність цього терапевтичного підходу, особливо при ранньому застосуванні МСК [5]. МСК використовують і для регенерації інших м'язово-скелетних тканин: менісків, зв'язок, сухожилків, міжхребцевих дисків. Як і при регенерації хряща, із цією метою застосовуються гідрогелі та електропрядені каркаси, навантажені МСК. Для оптимальної регенерації ключовим є механічне навантаження на проблемний меніск або сухожилок [10].

Центральна нервова система має дуже обмежені регенеративні властивості, тому ефективних методів лікування її ушкоджень наразі мало. МСК здатні зменшувати утворення шрамів у разі травм спинного мозку та сприяти регенерації аксонів. Показано, що МСК *in vitro* можуть диференціюватися в нейроноподібні клітини, а також індукувати вивільнення паракринних протизапальних факторів на кшталт фактора росту пухлин- $\beta$ , який має нейропротекторну дію. Існують також дослідження із застосування МСК у разі розсіяного склерозу, аміотрофічного бічного склерозу, ішемічного інсульту та хвороби Паркінсона. Золотим стандартом лікування ушкоджень периферичної нервової системи на тепер є автologічне протезування нервів (бриджинг). У моделі розчавлення сідничного нерва внутрішньовенна інфузія МСК сприяла відновленню функції ураженого нерва [11].

Про роль МСК у лікуванні ушкоджень міокарда вперше було повідомлено в 2002 році [12]. При інфаркті міокарда мають значення міогенні й ангіогенні властивості МСК, їхня здатність виробляти велику кількість ангіогенних, антиапоптотичних і міогенних факторів, а також антифібротичний вплив [12]. МСК здатні збільшувати фракцію викиду лівого шлуночка в пацієнтів із неішемічною кардіоміопатією. Хороші результати також продемонстрували кокультури МСК із кардіоміоцитами.

Донедавна єдиною дієвою терапією печінкової недостатності була трансплантація печінки, проте донорських органів недостатньо, тому значна кількість пацієнтів не доживають до втручання. МСК можуть диференціюватися в гепатоцити, що робить їх привабливими клітинами-кандидатами для лікування термінальних стадій захворювань печінки. Клінічне дослідження II фази показало, що МСК пригнічують фіброз і покращують функцію печінки при алкогольному цирозі [14].

Крім переліченого, МСК мають потенціал для лікування опіків, періанальних фістул, діабетичних виразок, бульозного епідермолізу та радіаційних уражень шкіри [13].

Зростає розуміння того, що клітинна терапія може відігравати певну роль у компенсації вікових захворювань. Як і в інших сферах застосування регенеративної медицини, існує визнання того, що мікроРНК можуть трансдукувати ключову біоактивність і брати участь як модулятори шляхів запобігання старінню. Генетика відіграє важливу роль, забезпечуючи схильність до здорового старіння, і тому можуть бути задіяні інші важливі сигнальні шляхи [7].

Використання МСК може бути альтернативним підходом для підтримання здоров'я людей похилого віку. Сироватковий TNF- $\alpha$ , С-реактивний білок (CRP) та ІЛ-6 є маркерами запалення, які постійно пов'язані з віковими хронічними захворюваннями. Численні дослідження показали, що МСК здатні модулювати діяльність імунних клітин, які згодом змінюють секрецію цих цитокінів [8]. Крім того, було продемонстровано, що МСК є корисними для полегшення дегенеративних захворювань, таких як серцево-судинні захворювання, остеоартрит, м'язова дистрофія, і нейродегенеративних захворювань, таких як розсіяний склероз.

Було визначено кілька механізмів дії МСК [8], які полягають у наступному:

- 1) диференціація МСК для заміни пошкоджених клітин;
- 2) злиття пошкоджених клітин з МСК;
- 3) паракринна передача сигналів МСК, які сприяють відновленню тканин і імунорегуляції системних імунних клітин;
- 4) перенесення молекул через екзосоми, отриманих з МСК;
- 5) перенесення органел та/або молекул через утворення тунельних нанотрубок. Ці висновки свідчать про те, що МСК мають здатність підтримувати ріст клітин, підтримувати життєздатність клітин тканини та зменшувати апоптоз клітин, що має вирішальне значення для затримки патофізіологічних змін, пов'язаних зі старінням. Також слід зазначити, що екзосоми, які виділяють МСК кісткового мозку, жирової тканини, плаценти, пуповини, ендометріальної й амніотичної рідин, мають різочий лікувальний і регенеративний потенціал [9].

## Summary

### Application of regenerative medicine in the treatment of diseases of a therapeutic profile

O. M. Barna, Y. V. Korost, O. O. Pogrebniak, V. O. Maleeva

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

The article provides a review of the literature with the determination of the place of regenerative medicine as a new direction in the treatment of human diseases. An important source of cells for regenerative medicine are mesenchymal stem cells, which are capable of differentiating into almost any cell line and realizing anti-inflammatory, immunoregulatory, and immunosuppressive effects.

**Key words:** regenerative medicine, mesenchymal stem cells, exosomes

Можна сказати, що відновлення ушкоджених частин тіла, продовження життя, покращення його якості протягом тривалого часу було мрією всього людства. Розвиток регенеративної медицини в різних галузях медицини дає надію отримати таку можливість.

**Додаткова інформація.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

## Список використаної літератури

1. Гуменюк М. І. Регенеративна медицина: вихід за межі трансплантології / М. І. Гуменюк // *Infusion & Chemotherapy*. – 2022. – № 4. – С. 6–13. DOI: 10.32902/2663-0338-2022-4-6-13
2. Barker C. F. Historical overview of transplantation. *Cold Spring Harb / Barker C. F., Markmann J. F. // Perspect. Med.* – 2013. – No. 3. – P. 1–18.
3. Regenerative medicine: new opportunities for developing countries / H. L. Greenwood, H. Thorsteinsdottir, G. Perry [et al.] // *Int. J. Biotechnol.* – 2006. – No. 8. – P. 60–77.
4. Jacques E. The progression of regenerative medicine and its impact on therapy translation / E. Jacques, E. J. Suuronen // *Clin. Transl. Sci.* – 2020. – No. 13. – P. 440–450.
5. Кухарчук А. Л. Регенеративна медицина: напрямлення, досягнення, проблеми і перспективи розвитку. Частина I: принципи і методи / А. Л. Кухарчук, В. В. Радченко, В. М. Сирман // *Український медичний часопис*. – 2004. – № 2. – С. 70–71.
6. Оптимізація дозування мезенхімальних стовбурових клітин при використанні в терапії різних патологічних станів та організація надання медичної допомоги: методичні рекомендації / [С. С. Паляниця, А. Є. Горбань, Г. С. Лобинцева та ін.]. – Тернопіль: КРОК, 2022. – 50 с.
7. Hescheler J. Stem cells for regenerative medicine and anti-aging / J. Hescheler // *J. Stem Cells Regen. Med.* – 2019. – No. 15 (2). – P. 53. DOI: 10.46582/jism.1502011.
8. Mesenchymal Stem Cell Transplantation for the Treatment of Age-Related Musculoskeletal Frailty / E. Mahindran, J. X. Law, M. H. Ng, F. Nordin // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – No. 22. – P. 10542. DOI: 10.3390/ijms221910542
9. Enhanced cardioprotection by human endometrium mesenchymal stem cells driven by exosomal microRNA-21 / K. Wang, Z. Jiang, K. A. Webster [et al.] // *Stem Cells Transl. Med.* – 2017. – No. 6. – P. 209–222.
10. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow / Y. H. Jiang, B. N. Jahagirdar, R. L. Reinhardt [et al.] // *Nature*. – 2002. – No. 418. – P. 41–49.
11. Intravenous transplantation of mesenchymal stromal cells to enhance peripheral nerve regeneration / S. M. Matthes, K. Reimers, I. Janssen [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2013. – 2013. – P. 573169.
12. Gnechi M. Mesenchymal stem cell therapy for heart disease / M. Gnechi, P. Danieli, E. Cervio // *Vascul. Pharmacol.* – 2012. – No. 57. – P. 48–55.
13. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine / Y. Han, X. Li, Y. Zhang [et al.] // *Cells*. – 2019. – No. 8 (8). – P. 886.
14. Transplantation with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: phase 2 trial / K. T. Suk, J. H. Yoon, M. Y. Kim [et al.] // *Hepatology*. – 2016. – No. 64. – P. 2185–2197.