

Научная платформа «регенеративная медицина»

Значительные успехи в области экспериментальной эмбриологии, цитологии, молекулярной генетики и генной инженерии привели к формированию новой области биомедицины - регенеративной медицины, включающей в себя научно обоснованные подходы, методы и технологии сохранения, восстановления и управляемой регенерации тканей и органов, структур и функций. Регенеративная медицина является ярким примером сближения граней между фундаментальными и прикладными исследованиями, взаимодействия различных научных дисциплин. Определяющую роль данного медицинского направления играет биологическая база исследований. Регенеративная медицина является одним из главных приоритетов современной медицины. Результатом лечения многих социально значимых заболеваний в настоящее время остается достижение ремиссии. Большинство современных лекарств способны специфично регулировать активность клеток в тканях-мишенях, активируя или подавляя ее. В своем большинстве, они не способны восстанавливать структуру тканей и органов-мишеней, измененную заболеванием. Подходы регенеративной медицины позволяют, восстанавливая структуру и функции органов и тканей, измененных заболеванием, достигать максимально возможных результатов лечения. Возможно изменение исхода лечения с хронизации и инвалидизации на полное выздоровление. Очевидно, что за счет максимально возможного восстановления исходной структуры органов и тканей будет обеспечиваться повышение качества жизни пациентов.

К основным направлениям развития регенеративной биомедицины следует отнести: исследования молекулярных механизмов регуляции процессов клеточной дифференцировки, миграции и пролиферации;

выявление ключевых биологически активных молекул (факторов роста, цитокинов, физиологически активных веществ, других продуктов культивирования клеток) для стимуляции восстановления структуры и функций органов и тканей;

биомедицинские клеточные и тканеинженерные продукты для замещения тканей и органов, структур организма, искусственные органы;

биомедицинские препараты на основе продуктов культивирования клеток;

биомедицинские клеточные и тканеинженерные продукты для стимуляции регенерации тканей, органов;

использование анализа клеточных популяций для диагностики функциональных и патологических состояний организма;

создание клеточных систем доставки терапевтических препаратов, в том числе противоопухолевых, и стимуляторов управляемой регенерации;

научно-методические подходы перепрограммирования клеток, дифференцировки и трансдифференцировки, технологии терапевтического клонирования;

биоматериалы с заданными свойствами, биополимерные носители, новые биосовместимые материалы с регулируемыми параметрами биодеградации, индуктивными свойствами;

создание и развитие инфраструктуры для исследований, разработок и внедрения клеточных и регенеративных технологий.

Регенеративная биомедицина является новой областью, потенциал развития которой обещает решение ряда актуальных проблем медицины. По оценкам экспертов, в течение ближайших 30 лет предполагается избавление от инсулин-зависимого диабета, нейродегенеративных заболеваний, появление принципиально новых подходов к лечению инфаркта миокарда, восстановлению функций печени, лечению мышечных дистрофий и других заболеваний. Кроме того, клеточные технологии обеспечат существенное улучшение качества жизни, обеспечат сохранность зрения пожилых пациентов, интеллектуальную состоятельность и двигательную активность, физиологическое восстановление зубочелюстного аппарата и др.

Использование технологий создания иммуносовместимых органов и тканей создаст условия для дальнейшего развития трансплантологии, решит проблему обеспечения иммунотолерантности, создаст предпосылки развития медицины на новых технологических принципах.

Уже в ближайшее время ряд разработанных или находящихся на завершающих стадиях разработки проектов должен быть востребован в клинической практике.

Технологии восстановления кожных покровов при критических и сверхкритических ожогах, лечение ран, язв, разработка методов регенерации костной и хрящевой ткани на основе трехмерного хондротрансплантата, разработка методов реконструкции хрящевой ткани, в частности трахеи и гортани, могут быть предложены для медицинского применения в течение ближайших двух - трех лет.

Технологии стимуляции роста сосудов в ишемизированных органах и тканях с помощью аутологичных клеточных препаратов могут быть предложены для медицинского применения в течение ближайших трех - четырех лет.

Технологии посттравматического восстановления иннервации с помощью аутологичных клеточных препаратов могут быть предложены для медицинского применения в течение ближайших четырех - пяти лет.

В ближайшей перспективе следует ожидать разработки протезов, имплантов и совместимых стентов, например биодеградируемого билиарного стента с двуслойным клеточным покрытием с функцией искусственного желчного протока, других тканеинженерных конструкций.

В ближайшей перспективе возможна разработка и внедрение бесклеточных препаратов на основе продуктов культивирования стволовых клеток для стимуляции регенерации органов и тканей.

Внедрение достижений регенеративной медицины в практику сдерживается отсутствием нормативно-правовой базы в области биомедицины, законодательного регулирования обращения биомедицинских клеточных продуктов, нормативно-правовой и научно-методической основы доклинических и клинических исследований, регистрационной процедуры.

Критически важным является отсутствие производственных площадок производства клеточных продуктов, соответствующих современным нормам и требованиям.

Ускоренное развитие научно-технологических аспектов платформы «регенеративная медицина» возможно только после создания технологической базы, включающей разработку специальных питательных сред, факторов роста российского производства, митогенных и дифференцирующих добавок для управления состояниями клеток, систем производственного и регистрационного контроля, аппаратно-технологических комплексов и приборов для масштабного культивирования, хранения клеток.

Важнейшим компонентом развития новой области является подготовка специалистов как научного, так и производственного и клинического профиля.

Успешное развитие регенеративной медицины как наукоемкой области, призванной стать новой технологической платформой медицины будущего, требует комплексного подхода, скоординированных междисциплинарных усилий, а также создания и совершенствования законодательной и нормативной базы для обеспечения разработки, исследований, научной экспертизы, регистрации, производства, контроля качества и медицинского применения биомедицинских клеточных продуктов.

Создание лекарственных средств на основе биологически активных молекул для стимуляции регенерации тканей и органов

Сложившаяся сегодня концепция физиологической регенерации предполагает наличие в организме человека компенсаторных резервов в виде тканеспецифических стволовых клеток. Целевая стимуляция стволовых клеток приводит к направленной регенерации

утраченных структур, восстановлению функций. Имеется значительный объем информации о регуляторных механизмах, факторах стимуляции пролиферации и дифференцировки столовых клеток различного типа. Возможна эффективная индукция стволовых клеток рекомбинантными факторами роста, цитокинами и специфическими матриксными белками для запуска программы восстановления структур или функций организма. Рекомбинантные белки полностью соответствуют природным регулирующим агентам, при этом генноинженерные технологии позволяют получать их в значительных количествах с охарактеризованной структурой в функционально активном состоянии. Использование рекомбинантных факторов роста является технологическим трендом в биомедицине с 80-х годов. Многие из препаратов на протяжении десятков лет удерживают первые строки в показателях мировых продаж. Широко известен препарат эритпропоэтин, являющийся фактором роста кроветворных столовых клеток. Специфические факторы роста, цитокины и их комбинации, в том числе с матриксными белками, способны избирательно активировать различные компартменты тканеспецифичных столовых клеток, что приведет к восстановлению тех или иных функций или структур организма. Такое воздействие является контролируемым, специфичным и дозируемым. Подход к стимуляции целевых клеток или тканей должен заменить использование неспецифических стимуляторов животного или растительного происхождения, тканевых вытяжек, экстрактов, которые не всегда поддаются характеристике и в силу этого не могут соответствовать требованиям обеспечения биобезопасности и доказательной медицины. Сегодня возможно использование специфических факторов роста для стимуляции раневого заживления, тканевого метаболизма, поддержания трофических функций, стимуляции васкуляризации, нейрогенеза, остеогенеза

и др.

Использование рекомбинантных факторов роста, цитокинов позволит создать линейку новых продуктов, обладающих специфическим действием, для лечения язв и трофических ран, эпителиальных повреждений, поражений роговицы, предотвращения деградации сетчатки, стимуляции мозговых функций, стимуляции остео- и хондрогенеза и др. Такие лекарственные средства должны быть представлены в различных формах - гели, мази, капли, назальные, инъекционные формы, комплексы с биополимерами и др. Важно, чтобы в разработке учитывались рекомбинантные факторы.

Учитывая, что для стимуляции регенеративных процессов часто необходимо одновременное введение нескольких факторов роста и цитокинов, параллельно с развитием российского производства факторов роста необходимо развивать разработку и производство препаратов для генной терапии, основанных на генетических конструкциях, несущих гены факторов роста и цитокинов. Введение таких генетических конструкций в ткани приводит к увеличению в них продукции соответствующих факторов роста на относительно длительный период времени от 1 до 3 недель, что необходимо для обеспечения регенеративного процесса.

Развитие биотехнологических производств рекомбинантных факторов для регенерации одновременно обеспечит нужды производств клеточных и тканевых продуктов, где эти агенты используются в качестве стимуляторов роста и дифференцировки клеток.

Отдельные факторы роста могут быть весьма эффективны, но не в состоянии полностью воспроизвести все регуляторные гуморальные и контактные взаимодействия, с помощью которых столовые клетки осуществляют свою регенераторную активность. В связи с этим перспективна разработка и внедрение лекарственных средств на основе продуктов культивирования столовых клеток. Культивирование столовых клеток в различных условиях и различном окружении позволит получать препараты с необходимыми для лечения различных патологических состояний свойствами. Подход, включающий попытку максимально возможного воспроизведения в лекарственном средстве значимых регуляторных факторов, действующих в организме, получил название фармакобионики.

Бесклеточные продукты, секретируемые культивируемыми клетками (смеси факторов роста, цитокинов и др. регуляторных молекул, а также матриксные белки), могут имитировать регенераторное влияние стволовых клеток. Мировой рынок бесклеточных продуктов, полученных на основе клеточных технологий, превышает 30 млрд. руб. в год. Для экономически выгодного массового производства требуется создание отечественных сред культивирования стволовых клеток, не содержащих компонентов животного происхождения.

До 2015 г. будут разработаны отечественные среды для получения бесклеточных продуктов культивирования стволовых клеток, созданы технологии культивирования стволовых клеток, ориентированных на максимальный выход целевого продукта, технологии выделения и очистки бесклеточных продуктов из кондиционированных сред. Неотъемлемой составляющей регенеративного процесса является восстановление кровоснабжения и иннервации тканей. Сегодня механизмы роста сосудов и нервов достаточно хорошо изучены, что позволяет разрабатывать методы стимуляции этих процессов на основе использования ангиогенных и нейротрофических факторов и их генов. Разработка белковых и генных препаратов, позволяющих увеличить в тканях содержание ангиогенных и нейротрофических факторов, позволит успешно стимулировать ангиогенез и рост периферических нервов, без чего невозможна полноценная регенерация.

Специфическая физиологическая регенерация направлена на восстановление поврежденных структур и функций, однако исходом репарационных процессов является, в основном, неспецифическая регенерация, проявляемая через гиперплазию соединительнотканых элементов. В этом случае регенерационные процессы завершаются рубцовыми процессами, фиброзами. Развитие этих процессов зачастую сводит на нет усилия по восстановлению функций и приводит к развитию спаечных структур, стриктур, контрактур, что также является медицинской и социальной проблемой. Механизмы гиперплазии соединительной ткани хорошо известны, что позволяет разработать высокоэффективные средства, предотвращающие развитие соединительнотканых реакций рубцовых осложнений. Такие средства могут быть в различных лекарственных формах, что даст возможность широко применять их в разных клинических областях медицины.

Разработка биоактивных веществ и кодирующих их генетических конструкций, способных при введении в ткани стимулировать регенерацию тканей и органов сердечно-сосудистой, нервной, эндокринной, дыхательной, репродуктивной системы, кожи, а также создание методов направленной доставки лекарств в определенные клетки и ткани, методов терапевтической трансфекции клеток как вне организма, так и в тканях пациента, должны обеспечить практическое осуществление задачи восстановления нормальной структуры измененных заболеванием органов и тканей.

Биомедицинские клеточные и тканеинженерные продукты для замещения тканей и органов, структур организма, для стимуляции регенерации тканей, органов; создание искусственных органов

Методы культивирования и управляемой специализации клеток человека позволяют конструировать вне организма многоклеточные гистотипические конструкции, являющиеся аналогами тканей и органов. Симуляция пролиферации, индукция дифференцировки, методы выделения различных компартментов стволовых клеток, моделирование нишевого микроокружения - все эти методы открывают широкие возможности для получения аналогов тканей и органов, клеточных продуктов, эффективных в восстановлении структур и функций организма. Существуют два принципиальных подхода к применению клеточных продуктов в медицине. Использование аутологичных клеточных конструкций на основе клеток способно приводить к замещению утраченных структур. В отличие от

трансплантируемых органов, такие конструкции иммуносовместимы. Перспективой клеточных технологий является разработка технологий получения всех без исключения клеток организма, пригодных для аутологичной заместительной терапии. Сегодня ряд специализированных клеточных типов не доступен для выделения и культивирования вне организма в технологических масштабах. Если мезенхимные, кроветворные эпителиальные клетки, в том числе и стволовые, могут быть выделены из тканей постнатального организма, то кардиомиоциты, нейроны, гепатоциты или клетки поджелудочной железы не могут быть получены в достаточных количествах для перевода в культуру и масштабирования с целью последующей аутологичной трансплантации. Существующие в мире научно-технологические подходы не позволяют сегодня получать критически важные специализированные клетки надлежащего качества для клинического применения. Исследования в этой области активно ведутся во многих лабораториях мира. Получение специализированных целевых иммуносовместимых клеток является главной проблемой, при этом конструирование трехмерных многоклеточных конструкций, сочетающихся с матриксом, также требует разработки оригинальных технологических решений.

Тем не менее, сегодня многие клеточные продукты, полученные из клеток взрослого организма, могут быть использованы для аутологичной трансплантации и замещения дефектных тканей и органов. Более того, в ряде технологически развитых стран клеточные продукты используются уже около десятка лет. Внедрение продуктов на основе клеток постнатального организма для аутологичной трансплантации станет возможным после создания условий для регистрации биомедицинских клеточных продуктов и появления качественных производств. Первыми продуктами станут уже разработанные во многих лабораториях страны клеточные продукты для восстановления технологии восстановления кожных покровов, костной, хрящевой ткани, роговицы, различных эпителиев, лечения парадонта, для стимуляции васкуляризации ишемизированных скелетных мышц и миокарда др. Внедрение таких клеточных продуктов следует ожидать в течение ближайших 2-3 лет.

Уникальной возможностью, открывшейся с началом использования клеточных продуктов, стала индукция регенерации аллогенными трансплантатами. Научная основа индукционной регенерации закладывалась с 40-х годов прошлого века, однако использование клеточных продуктов дала новый импульс этому подходу. Обладая низкой иммуногенностью, аллогенные клеточные трансплантаты могут долго сохраняться в организме реципиента, создавая условия для физиологической регенерации, обеспечивая индукцию восстановления собственных тканей. Такие трансплантаты должны стать объектом нового биомедицинского производства. Они могут нарабатываться в значительных количествах, характеризоваться и храниться в биобанках с последующим клиническим использованием. Фактически речь идет о появлении нового вида биомедицинских продуктов, отличающегося как от лекарственных средств, так и от трансплантируемых органов и тканей. Сегодня использование аллогенных клеточных продуктов имеет значительную доказательную базу, накоплен достаточный экспериментальный материал, что позволяет рассчитывать на внедрение аллогенных клеточных продуктов - костного и хрящевого трансплантата, выращенной аллогенной кожи, клеточного продукта для стимуляции ангиогенеза ишемизированных тканей, стромального трансплантата - в течение 2-3 лет, после появления соответствующей нормативно-правовой базы и определения регистрационной процедуры.

Одновременно появятся методы, пригодные для лечения пациентов, страдающих болезнями, связанными с патологиями соединительной ткани (варикозная болезнь, пролапс органов тазового дна, пародонтоз и т.п.).

Таким образом, создание условий для развития данного направления, формирование нормативно-правовой базы, регламентация регистрационной процедуры и развертывание производства клеточных продуктов с учетом современных требований позволит внедрить в клиническую практику до 10 уже разработанных клеточных продуктов. Названные продукты можно отнести к продуктам «первой линии». Научно обоснованные, известные и используемые в практике ряда стран, не отличающиеся высокой сложностью и высокой стоимостью, они могут быстро войти в арсенал практического врача и улучшить качество и эффективность лечения в целом ряде областей медицины.

Важным и интригующим свойством ряда клеток, прежде всего мезенхимных стволовых клеток, является противовоспалительное и иммунокорректирующее действие. Системное влияние мезенхимных стволовых клеток, клеток пуповинной крови, клеток внезародышевых тканей на различные физиологические процессы активно исследуется и дает перспективы влияния на процессы отторжения трансплантата, например при пересадках костного мозга, аутоиммунных заболеваний, проявлениях полиорганной недостаточности и др.

Феномен направленной миграции клеток в зону воспаления позволяет рассматривать клетки как инструмент диагностики, направленной доставки лекарственных средств, генно-инженерных конструкций, в том числе и в зону опухолевого роста. Динамическая система миграции клеток по кровотоку, зависящая от состояния организма и наличия в организме патологических процессов, позволяет по-другому оценить вклад различных специализированных клеток в физиологические процессы и пересмотреть ряд патофизиологических механизмов развития болезней. Исследования системного применения клеток для коррекции состояний организма активно ведутся во всем мире и в будущем позволят сформулировать новые принципы медицинского применения, однако сегодня имеющаяся научная информация недостаточна, зачастую противоречива. Научно не обоснованы механизмы системного действия некоторых типов клеток, не выявлен их вклад в опухолевые процессы, не обеспечены доказательства эффективности возможного применения клеток для коррекции патологических состояний организма. Тем не менее, следует предполагать появление продуктов для системного применения в ближайшие 5-7 лет, что приведет к резкому повышению эффективности лечения ряда острых и хронических заболеваний.

Научно-методические подходы к перепрограммированию клеток, дифференцировке и трансдифференцировке, технологии терапевтического клонирования

Несмотря на открывающиеся возможности клинического применения продуктов на основе постнатальных клеток человека, ряд специализированных клеточных типов недоступен для широкого применения. Необходимость получения функционально активных гепатоцитов, инсулин-продуцирующих клеток, нейронов различного типа, кардиомиоцитов, мышечных, половых и некоторых других типов клеток заставляет формулировать научные технологические подходы к получению любых специализированных иммуносовместимых клеток организма человека для терапии. Существует несколько научных подходов, одним из которых является использование плюрипотентных стволовых клеток. Исследования в области плюрипотентных клеток являются ярким примером быстро меняющейся парадигмы научных исследований в этой области. Большие надежды были связаны с исследованиями эмбриональных стволовых клеток, которые, как полагали, дадут возможность решить проблему получения любых специализированных клеток организма, в том числе и иммуносовместимых, для трансплантации реципиенту. Эти исследования столкнулись с массой неразрешимых социально-этических, научных и технологических проблем и не привели к искомому

результатам. Выходом казалось использование клеток с индуцированной плюрипотентностью, которые были получены в результате выдающегося исследования С. Яманака (2007 г.), которое в 2012 г. было отмечено Нобелевской премией. Клетки с индуцированной плюрипотентностью могут быть получены из любых клеток человека, приобретя при этом многие характеристики эмбриональных стволовых клеток. Свойство плюрипотентности состоит в возможности дифференцировать клетки в любые специализированные типы. Таким образом, открылась возможность получать специализированные клетки индивидуально для любого пациента. Такая технология может явиться ярким примером персонализированной медицины, поскольку клеточные продукты для замещения пораженных тканей или органов станут готовиться непосредственно для конкретного пациента из его образцов биоматериала.

В результате исследований 2012 г. из клеток с индуцированной плюрипотентностью удалось получить половые клетки - яйцеклетку, а ранее сперматозоид, что открывает возможность получения вне организма оплодотворенных яйцеклеток из соматических клеток человека. Эти исследования открывают фантастические перспективы, реализация которых в течение ближайших 25-30 лет приведет к смене фундамента медицины, предоставит неизвестные ранее возможности, но потребует создания новой этики, нормативной и технологической платформы.

Несмотря на возможность появления индивидуальных плюрипотентных клеток с последующей их дифференцировкой до специализированных клеточных трансплантатов, их внедрение в клиническую практику сдерживается рядом серьезных обстоятельств, прежде всего, наличием у этих клеток онкогенных потенциалов. Вероятно, клетки, полученные из клеток с индуцированной плюрипотентностью, не будут использованы в клинической практике, но метод индукции определенных клеточных состояний станет основой для развития новых технологий. Следует предположить, что принцип прямой дифференцировки, когда специальными методами удается перепрограммировать клетки из одного специализированного клеточного типа в другой, станет технологически доступным, что позволит получать необходимые специализированные клеточные типы для персонализированного лечения.

Перепрограммированием называют процесс изменения специализированного фенотипа клеток под влиянием агентов, целенаправленно изменяющих экспрессию определенных генов. Такими агентами могут быть интродуцированные в геном генно-инженерные конструкции, плазмиды, малые РНК, а также обработка химическими агентами, малыми молекулами. Возможна трансдифференцировка клеток с использованием различных дифференцировочных агентов, создание специальных нишевых условий микроокружения, в том числе и 3D, использования индукторов.

Направленное перепрограммирование или трансдифференцировка клеток - наиболее вероятный путь к получению целевых специализированных клеток для клеточной терапии. Такой подход, как полагают, позволит избежать опасности приобретения клетками онкогенных состояний, а использование в качестве исходных типов клеток сходного гистогенетического происхождения позволит упростить процесс перепрофилирования.

Этот подход может быть реализован уже в ближайшей перспективе.

Трансдифференцировка клеток, близких по гистогенетическому ряду, способна привести к появлению клеточных аналогов печени, поджелудочной железы, тимуса, некоторых эндокринных органов, компонентов нервной системы и др. Такие клеточные продукты могут быть подготовлены для клинического использования в ходе реализации целевых проектов в течение 3-5 лет.

Существенной проблемой клеточной терапии, основанной на использовании собственных стволовых и прогениторных клеток, является снижение регенеративного потенциала клеток с возрастом и у больных с тяжелыми хроническими заболеваниями, прежде всего

сахарным диабетом. Для повышения терапевтической активности клеток в ведущих лабораториях мира активно разрабатываются методы генетического модифицирования клеток с целью придания им определенных терапевтических свойств. Для этого используется введение в клетки генов факторов роста, цитокинов или сигнальных молекул, повышающих способность этих клеток продуцировать биологически активные вещества, увеличивающие их жизнеспособность и выживаемость после трансплантации в поврежденные ткани. Ожидается, что использование этой технологии позволит уже в ближайшие 3 - 5 лет повысить эффективность аутологичной клеточной терапии инфаркта миокарда, ишемии конечностей, диабетической стопы, нейродегенеративных заболеваний и др.

Активное развитие научных исследований в стране и за рубежом позволяет рассчитывать на получение большинства специализированных клеточных типов в течение ближайших 5 лет, с последующим периодом технологической и медицинской адаптации результатов. Следует с уверенностью прогнозировать к 2025 г. появление в арсенале практической медицины недоступных ранее методов восстановления большинства органов и тканей.