

<https://doi.org/10.60043/2949-5938-2023-1-7-15>



Регенеративная биомедицина в биологии и медицине

В.А. Ткачук

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
119234, г. Москва, Ломоносовский пр-т, 27, 1, Россия

Адрес для корреспонденции: tkachuk@fbm.msu.ru

Аннотация

В статье рассматриваются фундаментальные и прикладные проблемы регенеративной биомедицины. Как наука она возникла в конце XX в. и сегодня стремительно развивается: выясняются механизмы обновления клеток, регенерации и репарации тканей, разрабатываются принципиально новые методы борьбы с тяжелыми патологиями, вызванными повреждением и утратой жизненно важных клеток и тканей. Человеческий организм — это «самообновляющаяся машина». В течение жизни он производит десятки тонн клеток, то есть обладает могучим регенеративным потенциалом, который можно использовать в современной медицине. В Институте регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного центра МГУ имени М.В. Ломоносова проводятся доклинические исследования и клинические испытания ряда препаратов, которые стимулируют прорастание нервных волокон после трансплантации пальцев и кистей рук, устраняют неврологические дисфункции после геморрагического инсульта. Для лечения мужского бесплодия разрабатывается препарат, стимулирующий сперматогенез и возвращающий фертильность. С целью создания антифиброзного препарата ведется идентификация растворимого в плазме крови человека вещества, секретируемого клетками эндометрия и предотвращающего фиброз тканей матки и других органов. Изучается роль навигационных рецепторов (прежде всего Т-кадгерина и урокиназного рецептора) в выборе направления роста тканей.

Ключевые слова: регенеративная биомедицина, стволовые клетки, обновление, дифференцировка, фиброз

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Ткачук В.А. Регенеративная биомедицина в биологии и медицине. *Регенерация органов и тканей*. 2023;1(1):7–15. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2023-1-7-15>

Поступила: 01.03.2023

Обработана: 12.05.2023

Принята: 31.05.2023

Regenerative biomedicine in biology and medicine

Vsevolod A. Tkachuk

Lomonosov Moscow State University, 119234, Moscow, Lomonosovsky ave., 27, 1, Russia

Correspondence address: tkachuk@fbm.msu.ru

Abstract

The article covers the fundamental and applied problems of regenerative biomedicine. As a scientific field, it arose at the end of the XX century and today it is rapidly growing: the mechanisms of cell renewal, tissue regeneration and repair are being elucidated, fundamentally new methods are being developed to combat severe disease caused by damage and loss of vital cells and tissues. The human body is a “self-renewing machine” and during whole life, it produces of tons of cells, thus, demonstrating its strong regenerative potential that can be used in modern medicine. At the Institute of Regenerative Medicine of the Medical Research and Educational Center of Lomonosov Moscow State University preclinical studies and clinical trials of several novel drugs are being carried. Including ones that stimulate the growth of nerve fibers after re-implantation of upper limb parts (finger and palm), and eliminate neurological dysfunctions after hemorrhagic stroke. For the treatment of male infertility, a drug is being developed that stimulates spermatogenesis and restores spermatogenesis. In order to create an antifibrotic drug, a substance secreted by endometrial cells and preventing fibrosis of the tissues of the uterus and other organs, is being identified. The role of navigational receptors (primarily T-cadherin and urokinase receptor) in choosing the direction of tissue growth is being studied.

Keywords: regenerative biomedicine, stem cells, renewal, differentiation, fibrosis

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

For citation: Tkachuk V.A. Regenerative biomedicine in biology and medicine. *Tissue and organ regeneration*. 2023;1(1):7–15. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2023-1-7-15>

Received: 01.03.2023

Revised 23.05.2023

Accepted: 31.05.2023

Регенеративная медицина — это не новая технология, а новая отрасль медицины, сформировавшаяся в последние десятилетия. Она нацелена на создание препаратов, вызывающих образование и гибель клеток, формирование тканей и органов. В настоящее время в мире ведется более 1500 клинических исследований в области регенеративной медицины, несколько десятков из них успешно завершились, и их результаты уже внедряются в практику. Патологии, на борьбу с которыми направлены эти исследования, включают онкологию, наследственные заболевания, болезни ЦНС, фиброз миокарда и сердечную недостаточность, цирроз печени, диабет 1-го типа, повреждения хрящевой и костной ткани, тяжелые ожоги кожи. Успешно развивается также тканевая инженерия. Уже научились выращивать из клеток

пациента хрящевую и костную ткань, уретру, мочеточник, мочевой пузырь. Эти структуры успешно трансплантируются и приживаются в теле пациента, не требуя применения иммуносупрессоров [1].

Используя клеточные технологии, можно также создавать некоторые железы внутренней секреции. Для этого, например, в капсулу помещают стволовые клетки поджелудочной железы, и в ней они дифференцируются в альфа- и бета-клетки островков Лангерганса, которые продуцируют инсулин и глюкагон. Железа функционирует, не отторгается, в нее прорастают кровеносные сосуды и нервные волокна [2]. Подобным образом можно выращивать зубы, челюсти, ушные раковины и другие морфологически простые структуры.

Очевидно, что с увеличением продолжительности жизни человека мы все чаще будем нуждаться в замене патологически измененных тканей и органов. Сегодня развитие трансплантологии тормозится доступностью донорских органов. Выращивание различных биологических структур вне тела человека из его же клеток — реальная перспектива заместительной медицины, трансплантологии и медицины катастроф.

Перейдем к фундаментальной науке и научным проблемам, стоящим перед регенеративной биомедициной.

Согласно основной догме клеточной биологии, мельчайшая единица живого — это клетка. Она образуется из материнской клетки в результате деления. Как утверждали основатели клеточной теории, всякая патология есть патология клеток. На протяжении всей жизни многоклеточного организма не прерывается обновление его клеток. За это время (с учетом средней продолжительности жизни) в теле человека образуются и погибают тонны клеток: они разрушаются до ами-

нокислот, липидов и нуклеотидов, из которых образуются новые клетки тех же тканей и органов. За счет деления дифференцированных клеток, дифференцировки стволовых клеток и, возможно, также трансдифференцировки зрелых клеток в другие типы зрелых клеток [22] идет постоянное обновление организма животных.

Научные основы регенеративной биомедицины были заложены в XX столетии. основополагающие открытия сделаны нашими выдающимися соотечественниками: Александром Александровичем Максимовым, в 1909 г. открывшим в костном мозге гематопоэтическую клетку, из которой образуются все клетки крови, а также Александром Яковлевичем Фриденштейном, в 60-х годах прошлого века открывшим мультипотентные мезенхимные стромальные/стволовые клетки (МСК) [3, 4].

За время жизни человека из гематопоэтических клеток костного мозга, общий вес которого составляет примерно 1,5 кг, образуется три тонны клеток крови (рис. 1).

Гематопоэтическая стволовая клетка

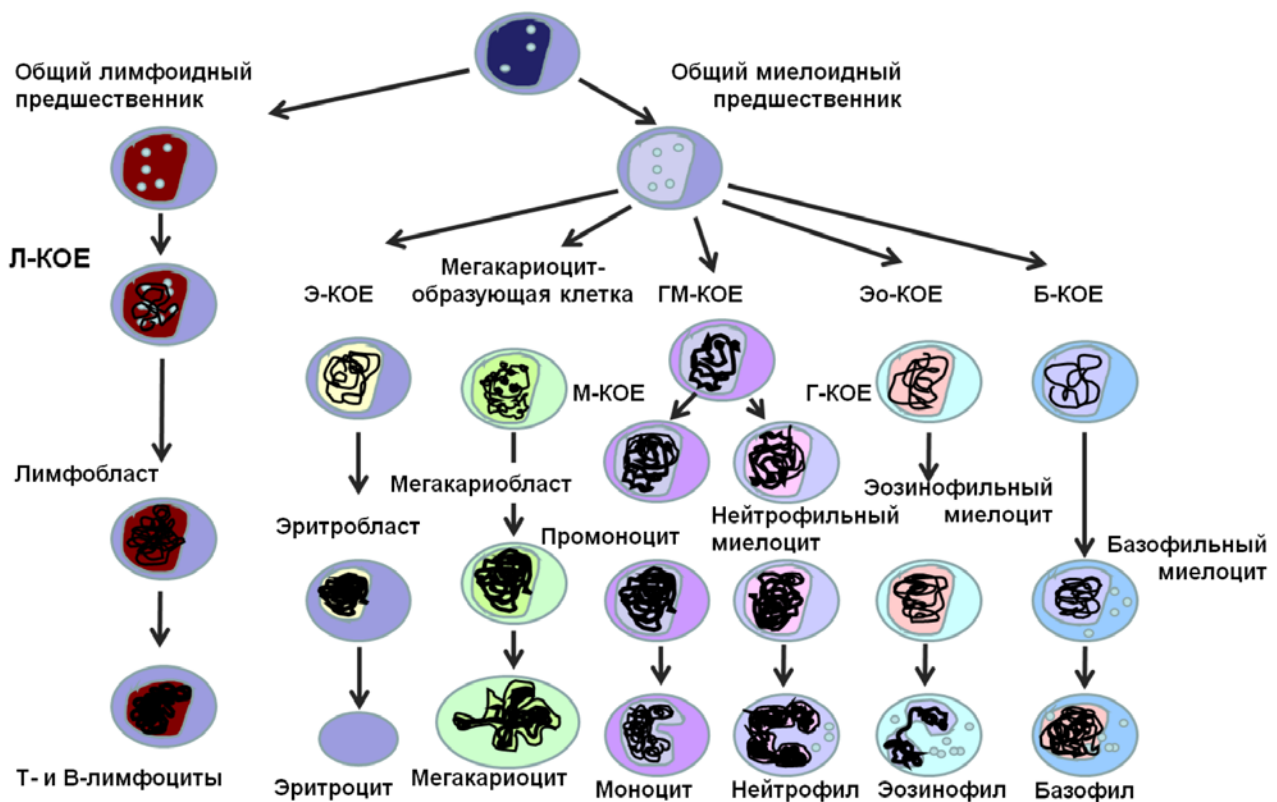


Рис. 1. Схематическое изображение гемопоэза

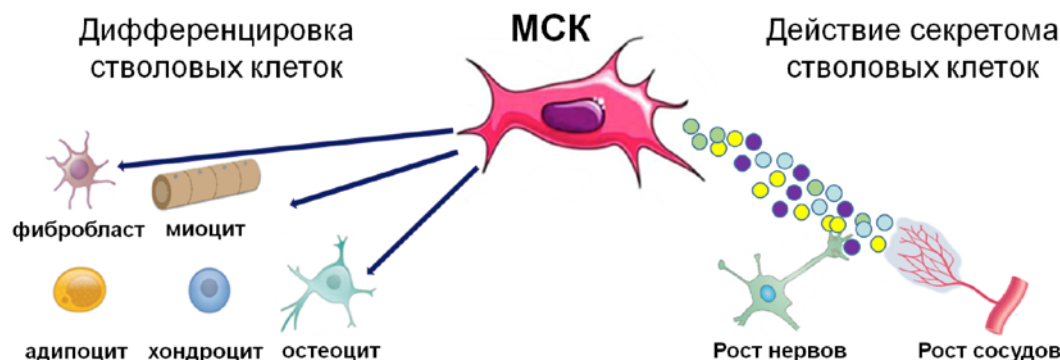


Рис. 2. Мультипотентные стромальные клетки участвуют в формировании стромы тканей и стимулируют их кровоснабжение и иннервацию

Из МСК формируется основная масса нашего тела: кости, мышцы, жировая ткань, хрящи. Строя новые структуры, эти клетки секретируют ангиогенные и нейротрофные факторы, стимулирующие рост сосудов и нервных волокон (рис. 2).

Кровеносные сосуды и аксоны растут параллельно друг другу, а направление определяется навигационными рецепторами, локализованными на конусе роста аксона и на лидирующем полюсе роста сосуда [5]. Нам удалось обнаружить два типа таких рецепторов: один с отрицательным действием, Т-кадгерин, позволяющий обходить некоторые ткани и реализующий отрицательный хемотаксис, и второй — урокиназный рецептор, который осуществляет положительный хемотаксис. Рост этих структур осуществляется по градиенту концентрации хемоаттрактанта или репеллента [6]. По этому принципу формируются структуры нашего тела, в том числе и головного мозга [7, 8].

Важнейшую роль в морфогенезе соматических тканей и органов играет секретом мезенхимных клеток. Оказалось, что он состоит из 500–600 белков, условно подразделяемых на пять функциональных кластеров, в их числе те, которые стимулируют ангиогенез, то есть рост сосудов, нейротрофные, стимулирующие рост нервов, а также такие, которые локально подавляют воспаление [9, 10].

Как можно применить эти знания в медицинской практике? В секретоме МСК присутствуют нейротрофный фактор BDNF и урокиназа (uPA) [9, 11]. Если инъектировать эти белки, они будут действовать в течение лишь нескольких часов. Поскольку рост структур человеческого тела занимает недели и месяцы, прихо-

дится применять «эндогенный шприц» с этими веществами. Для этого мы конструируем плазмиды, которые несут гены BDNF или урокиназы (рис. 3). Такая генетическая конструкция вводится в зону, в которую мы хотим прорастить сосуды или нервные окончания [12]. Плаزمид проникает в клетки ткани-мишени, транскрибируется там, и клетки секретируют образующиеся молекулы BDNF и uPA. По градиенту концентрации этих белков растут сосуды и аксоны. Так, на переднем крае этих структур расположены соответствующие рецепторы. Мы провели доклинические и клинические испытания плазмид BDNF и урокиназы, а затем провели их слияние в одной плазмиде. Совместно секретируемые нейротрофный и ангиогенный факторы (BDNF и урокиназа) оказались эффективнее [13]. В итоге появился оптимистичный прогноз на создание препарата для лечения неврологических заболеваний. Коктейль факторов, которые выбрасывают в среду МСК, то есть секретом мезенхимных клеток, оказался наиболее эффективным для восстановления функций головного мозга после инсульта. BDNF и uPA так же, как и секретом МСК, уменьшают размеры зоны повреждения головного мозга, частично восстанавливают неврологический статус животного. Эти препараты не токсичны и весьма перспективны в лечении неврологических и ишемических заболеваний.

Мы знаем, что любое повреждение ткани может заканчиваться формированием рубца. Если поврежден спинной мозг, это трагедия, так как через рубец не прорастет ни сосуд, ни нерв. Но есть ткани, где после повреждения возникает не фиброз, а происходит полноценная регенерация. Так восстанавливаются костная ткань и эндометрий. У молодых женщин за время

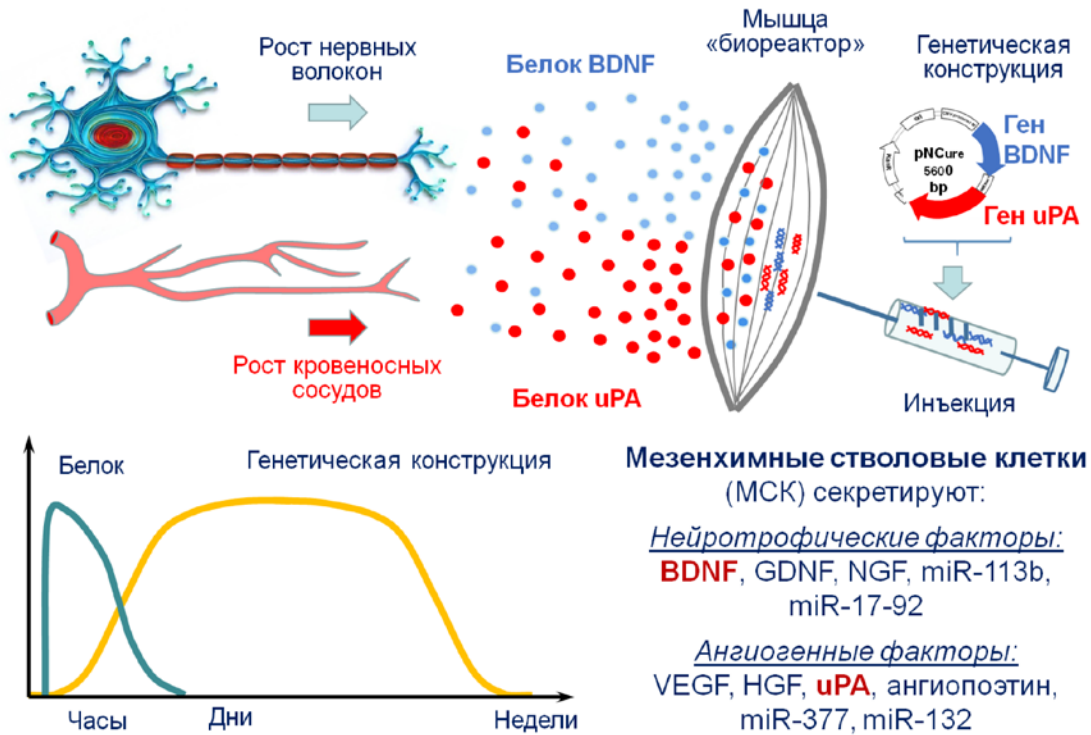


Рис. 3. Генные препараты и секретом стволовых клеток стимулируют процессы регенерации

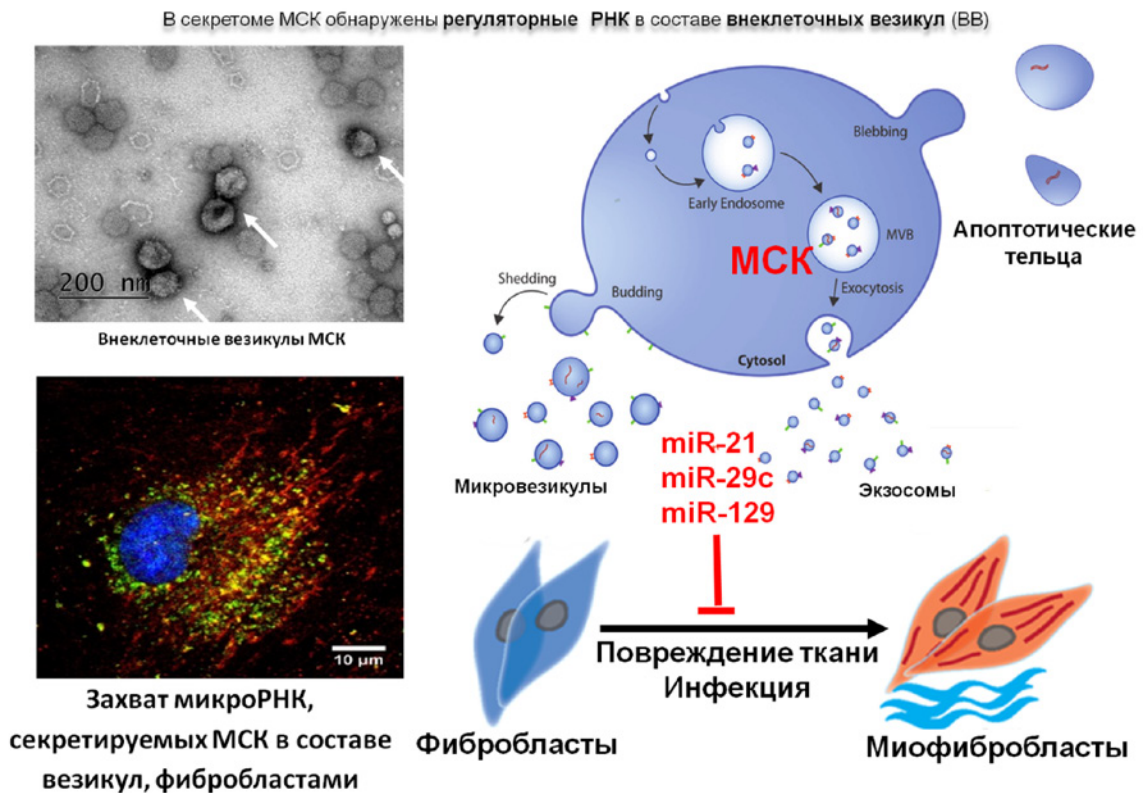


Рис. 4. МСК могут подавлять развитие фиброза за счет секретируемых микроРНК в составе внеклеточных везикул

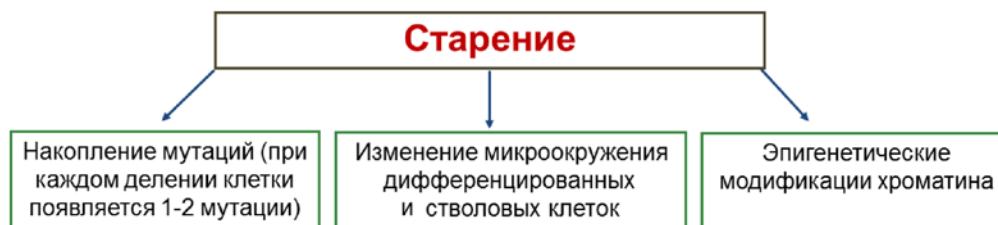


Рис. 5. Эволюционные механизмы старения клеток и накопления изменений в организме



Рис. 6. Некодирующая часть генома контролирует процессы обновления клеток

жизни сотни раз погибает и восстанавливается эндометрий, но этот процесс не сопровождается фиброзом. Оказалось, что клетки эндометрия секретируют некий фактор, тормозящий фиброз как в эндометрии, так и на других моделях. Этот образующийся эндогенно растворимый фактор мы пытаемся идентифицировать [14]. Мы обнаружили также, что антифиброзные эффекты вызывают некоторые микроРНК, секретируемые МСК (рис. 4). В перспективе такие микроРНК могут стать лекарственными препаратами [15].

С возрастом и при некоторых заболеваниях у человека истощаются стволовые клетки, уменьшается как их число, так и регенеративный потенциал [16]. На протяжении последних десятилетий не прекращаются попытки замедления негативных физиологических процессов с использованием так называемой клеточной терапии. Появились методы, позволяющие выделять стволовые клетки, преумножать их число вне организма и возвращать обратно. Но оказалось, что после этих процедур они погибают, не встраиваются в ткани. Если и наблюдался терапевтический эффект, то лишь за счет секретируемых веществ, до момента гибели клеток. С повышением возраста человека, а также при развитии некоторых заболеваний происходит старение ниши стволовых клеток. Десятки лабораторий и клиник, ведущих рабо-

ты в этой области, объясняют неудачи клеточной терапии именно этим удручающим фактором.

Три важных процесса в течение всей нашей жизни фиксируют ход времени. Во-первых, при каждом делении клетки в ней происходят 1–2 мутации. И это не дефект системы, а свойство живой материи, потому что мутация — инструмент эволюции. Мы состоим из мозаики клеток, среди них нет двух одинаковых. Онкологи не без основания утверждают, что раковые опухоли — своего рода плата за многоклеточность, плата за деление клеток, это проявление сбоя при их обновлении, «пародия на регенерацию». Во-вторых, не будем сбрасывать со счетов и то, что в течение жизни накапливаются эпигенетические модификации генома клеток. В-третьих, с возрастом значительно изменяется клеточное микроокружение (рис. 5).

В нашем геноме закодирована структура регуляторных молекул РНК, которые регулируют экспрессию генов, перепрограммирование клеток, их дифференцировку. При старении клеток происходят эпигенетические изменения хроматина. Изменяется степень ацетилирования белков и метилирования ДНК. С этими же процессами может быть связано и старение ниши стволовых клеток (рис. 6).

Поскольку практически во всех исследованных нишах обнаруживаются МСК, мы исследовали, как секретом мезенхимных клеток действует на нишу. В качестве модели использовали семенники, «мужскую репродуктивную нишу», которая производит сперматозоиды. При некоторых дефектах семенников сперматогенез снижается, а способность производить потомство исчезает. Но оказалось, что при внесении в семенники секрета мезенхимных клеток восстанавливается не только морфология органа, но и сперматогенез, а фертильность восстанавливается [17]. Это свидетельствует о возможности стимуляции процессов обновления клеток и регенеративных процессов путем воздействия на нишу стволовых клеток. Ведутся опыты по предотвращению старения ниши или даже обращению процесса старения ниши вспять [18].

Помимо регуляторов эпигенетики, к этим факторам могут относиться и компоненты микроокружения клеток. Например, мы обнаружили, что клеточная терапия с помощью МСК приносит значительно лучший результат, если эти клетки применяются в виде клеточных пластов, в которых сами они оказываются в окружении секретируемого ими матрикса [19, 20]. Эта находка перспективна для разработки новых типов клеточных препаратов для регенеративной медицины.

Фундаментальные основы регенеративной биомедицины важны для всех отраслей медицины, так как обновление и старение клеток происходят во всех тканях и органах. Эволюция сформировала десятки механизмов гибели клеток. Стимуляция гибели клеток запускается специальными рецепторами, специфическими сигнальными механизмами, специфическими мишенями [21]. Существует также несколько механизмов образования клеток. Здоровье и долголетие зависят от баланса между этими процессами, которые взаимосвязаны, имеют прямые и обратные связи. Баланс между процессами гибели и образования клеток регулируется голодом, холодом и гипоксией. Голод запускает аутофагию, холод влияет на фолдинг белков, а гипоксия через рецептор кислорода стимулирует апоптоз клеток. Через обратные связи эти внешние факторы стимулируют образование новых молодых клеток, их обновление, что продлевает время и эффективность работы разных функциональных систем, тканей и органов, а следовательно, и продолжительность жизни организма (рис. 7).

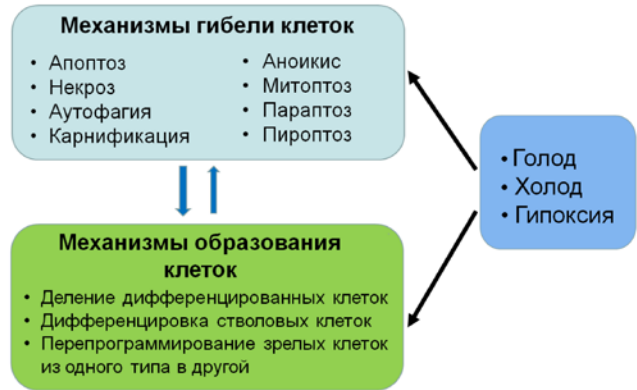


Рис. 7. Обновление клеток зависит от внешних факторов и происходит благодаря взаимосвязи между процессами гибели клеток и их образования

Организм человека является «самообновляющейся машиной», обладающей мощным потенциалом регенерации и репарации. Эти процессы идут в течение всей жизни, причем регенерация идет как при обновлении, так и при повреждении тканей, а репаративный ответ активируется исключительно в ответ на повреждение и зачастую завершается с фиброзированием в зоне повреждения. Это замечательное свойство регенеративная медицина использует для разработки методов лечения заболеваний, вызываемых утратой клеток и тканей. В последние десятилетия обнаружены и идентифицированы специфические эндогенные регуляторы гибели и образования клеток, регенерации и репарации тканей. Их число может быть сравнимо с количеством гормонов, вырабатываемых всей эндокринной системой. Некоторые гормоны, цитокины, хемокины и факторы роста также регулируют процессы образования и гибели клеток. На динамику этих процессов влияют многие факторы внешней среды через механизмы, которые целесообразно изучать. Более глубокое понимание всех этих сложных взаимосвязей открывает перед исследователями перспективы создания нового типа терапии, направленной не только на излечение возможных болезней, но и на более продолжительное функционирование тканей и органов, на продление жизни человека.

Финансирование исследования: Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

Funding: Study performed under state assignment of Lomonosov Moscow State University

Литература

1. Ntege E.H., Sunami H., Shimizu Y. Advances in regenerative therapy: A review of the literature and future directions. *Regen. Ther.* 2020;14:136–153.
2. Agulnick A.D., et al. Insulin-producing endocrine cells differentiated in vitro from human embryonic stem cells function in macroencapsulation devices in vivo. *Stem Cell Translational Medicine.* 2015;4(10):1214–1222.
3. Friedenstein A.J., Petrakova K.V., Kurolesova A.I., Frolova G.P. Heterotopic of Bone Marrow. Analysis of Precursor Cells for Osteogenic and Hematopoietic Tissues. *Transplantation.* 1968;6(2):230–247.
4. Friedenstein A. Stromal-Hematopoietic Interrelationships: Maximov's Ideas and Modern Models. *Cellular Therapy and Transplantation.* 1989;1:159–167.
5. Weinstein B.M. Vessels and Nerves: Marching to the Same Tune. *Cell.* 2005;120(3):299–302.
6. Rubina K.A., Semina E.V., Balatskaya M.N., et al. Mechanisms of regulation of the targeted grown of nerves and vessels by components of the fibrinolytic system and GPI-anchored navigation receptors. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 2020;50(2):217–230.
7. Shmakova A.A., Balatskiy A.V., Kulebyakina M.A., et al. Urokinase Receptor uPAR Overexpression in Mouse Brain Stimulates the Migration of Neurons into the Cortex during Embryogenesis. *Russian Journal of Developmental Biology.* 2021;52(1):53–63.
8. Campbell D.B., Li Ch., Sutcliffe J.S., et al. Genetic evidence implicating multiple genes in the MET receptor tyrosine kinase pathway in autism spectrum disorder. *Autism Research.* 2008;1(159–168).
9. Kalinina N., Kharlampieva D., Loguinova M., et al. I. Characterization of secretomes provides evidence for adipose-derived mesenchymal stromal cells subtypes. *Stem Cell Res Ther.* 2015;6:221–230.
10. Sagaradze G., Grigorieva O., Nimiritsky P., et al. Conditioned medium from human mesenchymal stromal cells: Towards the clinical translation. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019;20(7):e1656.
11. Lopatina T., Kalinina N., Karagyaur M., et al. Adipose-derived stem cells stimulate regeneration of peripheral nerves: BDNF secreted by these cells promotes nerve healing and axon growth de novo. *PLoS One.* 2011;6(3):e17899.
12. Karagyaur M., Dyikanov D., Makarevich P., et al. Non-viral transfer of BDNF and uPA stimulates peripheral nerve regeneration. *Biomed Pharmacother.* 2015;74:63–70.
13. Karagyaur M., Rostovtseva A., Semina E., et al. A Bicistronic Plasmid Encoding Brain-Derived Neurotrophic Factor and Urokinase Plasminogen Activator Stimulates Peripheral Nerve Regeneration After Injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2020;372(3):248–255.
14. Eremichev R., Kulebyakina M., Alexandrushkina N., et al. Scar-free healing of endometrium: tissue-specific program of stromal cells and its induction by soluble factors produced after damage. *Front. Cell Dev. Biol.* 2021;9:616893.
15. Basalova N., Sagaradze G., Arbatskiy M., et al. Secretome of Mesenchymal Stromal Cells Prevents Myofibroblasts Differentiation by Transferring Fibrosis-Associated microRNAs within Extracellular Vesicles. *Cells.* 2020;9(5):1272.
16. Efimenko A.Yu., Kochegura T.N., Akopyan Zh.A., Parfyonova Y.V. Autologous Stem Cell Therapy: How Aging and Chronic Diseases Affect Stem and Progenitor Cells. *BioResearch Open Access.* 2015;4(1):26–38.
17. Sagaradze G., Basalova N., Kirpatovsky V., et al. A magic kick for regeneration: role of mesenchymal stromal cell secretome in spermatogonial stem cell niche recovery. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10:342.
18. Sagaradze G.D., Basalova N.A., Efimenko A.Yu., Tkachuk V.A. Mesenchymal Stromal Cells as Critical Contributors to Tissue Regeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology.* 2020;8:576176.
19. Nimiritsky P.P., Eremichev R.Y., Alexandrushkina N.A., et al. Unveiling mesenchymal stromal cells' organizing function in regeneration. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019;20(4):823.

20. Alexandrushkina N., Nimiritsky P., Eremichev R., et al. Cell Sheets from Adipose Tissue MSC Induce Healing of Pressure Ulcer and Prevent Fibrosis via Trigger Effects on Granulation Tissue Growth and Vascularization. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(15):1-21.
21. Makarevich P.I., Efimenko A.Yu., Tkachuk V.A. Biochemical Regulation of Regenerative Processes by Growth Factors and Cytokines: Basic Mechanisms and Relevance for Regenerative Medicine. *Biochemistry (Moscow)*. 2020;85(11):11-26.
22. Merrell A., Stanger B. Adult cell plasticity in vivo: de-differentiation and transdifferentiation are back in style. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016;17(7):413-425

Об авторе

Ткачук Всеволод Арсеньевич — академик РАН, академик-секретарь Отделения физиологических наук РАН, декан факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, директор Института регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного центра МГУ имени М.В. Ломоносова.

Author

Vsevolod A. Tkachuk — Full Member of RAS, Secretary-Academician of Physiology section, RAS, Dean of the Faculty of Medicine, Lomonosov Moscow State University, Director of the Institute for Regenerative medicine, Education and Research Medical Center, Lomonosov Moscow State University.